



## اثرات تنش خشکی و تلقیح کودهای زیستی بر رشد، عملکرد و ترکیبات اسانس آویشن (*Thymus vulgaris* L.)

رقیه محمدپور وشوایی<sup>1\*</sup>، محمد گلوی<sup>2</sup>، محمود رمودی<sup>2</sup> و براتعلی فاخری<sup>3</sup>

تاریخ دریافت: 1393/04/13

تاریخ پذیرش: 1393/11/26

### چکیده

آویشن (*Thymus vulgaris* L.) گیاهی خشبی و چندساله معطر و متعلق به خانواده نعناع می‌باشد که دارای خواص ضداسپاسم، ضدعفونی‌کننده، ضدنفخ، ضدسرفه، خلط‌آور و آنتی‌اکسیدان می‌باشد. به منظور بررسی اثرات تنش خشکی و کودهای زیستی بر رشد، عملکرد و ترکیبات اسانس آویشن، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در دو تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زابل در سال‌های زراعی 1391-1390 و 1391-1392 اجرا شد. کرت‌های اصلی شامل آبیاری با 90، 70، 50 و 30 درصد ظرفیت زراعی و کرت‌های فرعی شامل تغذیه گیاه با کودهای زیستی نیتروکسین، بیوفسفر و مایکوریزا به صورت بذر مال بودند. صفات مورد مطالعه شامل ارتفاع بوته، وزن تر و خشک سرشاخه‌های گلدار و درصد، عملکرد و ترکیبات اسانس آویشن 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 ارتفاع بوته (35/09 سانتی‌متر)، وزن تر و خشک سرشاخه‌های گلدار (به ترتیب 103/52 و 43/27 گرم در بوته) و عملکرد اسانس (0/350 میلی‌لیتر در بوته) در تیمار 90 درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین حاصل شد. حداکثر مقدار اسانس با 0/413 درصد به تیمار 70 درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین تعلق داشت. مهم‌ترین جزء تعیین‌کننده عملکرد اسانس در آویشن وزن تر سرشاخه‌های گلدار بود. گیاهان تحت آبیاری با 70 درصد ظرفیت زراعی دارای بیشترین درصد نسبی تیمول (برای کود زیستی نیتروکسین، بیوفسفر و مایکوریزا به ترتیب 50/68، 71/32 و 47/71 درصد) بودند که این اثر با کاهش محتوای پارا-سیمن همراه بود. کود زیستی نیتروکسین نسبت به سایر کودها توانست تنش خشکی را بهتر تعدیل نماید و موجب بهبود رشد، درصد و عملکرد اسانس و ترکیب فنلی تیمول آویشن شود. بنابراین، به نظر می‌رسد که در راستای نیل به اهداف کشاورزی پایدار به جای کودهای شیمیایی قابل توصیه باشد.

**واژه‌های کلیدی:** اسانس، بیوفسفر، تنش کم‌آبی، گیاهان دارویی، نیتروکسین، میکوریزا

### مقدمه

می‌باشد. اسانس در تمامی قسمت‌های گیاه وجود دارد، ولی بیشتر در سرشاخه‌های گلدار دیده می‌شود. به عنوان یک گیاه دارویی ارزشمند، آویشن دارای خواص ضداسپاسم، ضدعفونی‌کننده، خلط‌آور، ضدنفخ، ضدسرفه و آنتی‌اکسیدان می‌باشد (Dapkevicius et al., 2002). اسانس گیاه شامل مقادیر بسیار متغیری از ترکیب‌های فنلی مانند تیمول و کارواکرول (20 تا 80 درصد)، منوترپن‌های هیدروکربنی مانند پارا-سیمن، گاما-ترپینن و الکل‌هایی مانند لینالول، آلفا-ترپینن و توچان می‌باشد. معمولاً عمده‌ترین ترکیب‌های فنلی آویشن تیمول، کارواکرول و فلاونوئیدها می‌باشند که اغلب تصور می‌شود که خاصیت ضدباکتری، ضدنفخ، ضدکرم و ضدقارچ داشته باشند (Barnes et al., 2002; Leung & Foster, 1996; Jellin et al., 2000). نیک آور

آویشن (*Thymus vulgaris* L.) گیاهی خشبی و چندساله معطر و متعلق به خانواده نعناع<sup>2</sup> می‌باشد که در مناطق مختلف جهان رشد می‌کند (Davis, 1982). آویشن بومی منطقه غرب مدیترانه و جنوب ایتالیا است (Gigord et al., 1999). آویشن دارای برگ‌های کوچک نیزه‌ای سبز رنگ به طول شش تا 12 میلی‌متر، ساقه کوتاه و چهار گوش است که ساقه در پایین چوبی و در بخش جوان‌تر سبز رنگ

1، 2 و 3- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد آگروکولوژی، دانشیار، گروه زراعت و دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل  
(\* - نویسنده مسئول: Email: ro\_mohammadpour@yahoo.com)  
2- Lamiaceae

(L. Leithy et al., 2006) اشاره شده است. حضور باکتری‌های ازتوباکتر، آزوسپریلیوم و سودوموناس در محیط ریشه برخی گیاهان دارویی از جمله پروانش (*Catharanthus roseus* L.)، ریحان (*Coleus forskohlii* L.)<sup>1</sup> و صبر زرد (*Ocimum basilicum* L.) گزارش شده است، به طوری که جمعیت این باکتری‌ها در هر چهار گونه گیاه دارویی در مقایسه با محیط غیر ریشه‌ای گیاهان بیشتر بود. این نتایج می‌تواند در معرفی کودهای بیولوژیک برای تولید تجاری این گونه‌ها مورد استفاده قرار گیرد (Karthikeyan et al., 2008). می‌جاهد و همکاران (Migahed et al., 2004) در بررسی اثر باکتری-های *Azotobacter chroococcum*، *Azospirillum lipoferum* و *Bacillus megaterium* به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر بر رشد و عملکرد کرفس وحشی (*Apium graveolens* L.) گزارش نمودند که کاربرد این باکتری‌ها منجر به تولید مواد محرک رشد گیاه در محیط ریشه گردید و از طرف دیگر، افزایش رشد، عملکرد و اسانس گیاه در مقایسه با تیمارهای تلقیح نشده را به همراه داشت. نتایج مطالعه شباهنگ و همکاران (Shabahng et al., 2014) روی اثر سطوح کود دامی و تلقیح با قارچ همزیست مایکوریزا بر رشد، عملکرد کمی و کیفی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) نشان داد که تلقیح مایکوریزایی بهبود وزن خشک اندام‌های هوایی و عملکرد اسانس زوفا را به ترتیب برابر با 19 و 14 درصد به دنبال داشت. نتایج مطالعه کوچکی و همکاران (Koocheki et al., 2015) نشان داد که همزیستی با مایکوریزا درصد اسانس رازیانه و زنیان به ترتیب 4/2 و 3/0 درصد بود. در گیاه گندمی یا گندمک آبی (*Vallisneria spiralis* Tiger) کاربرد کودهای بیولوژیک حاوی مخلوط باکتری-های *Bacillus* sp. و *Pseudomonas rubiacearum* در ترکیب با کود آلی کمپوست سبب 34 درصد افزایش وزن خشک گیاه نسبت به تیمارهایی شد که تنها از کود آلی استفاده شده بود. علاوه بر این جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات و تثبیت‌کننده نیتروژن در محیط ریشه گیاه در این تیمار افزایش یافت (Young et al., 2004). نتایج حاصل از مطالعه عبدالجلیل و همکاران (Abdul-Jaleel et al., 2007) حاکی از آن بود که تیمار گیاهچه‌های گیاه دارویی پروانش با باکتری محرک رشد گیاه سودوموناس (*Pseudomonas fluorescens*) سبب افزایش عملکرد زیست‌توده و میزان آلکالوئید در گیاه در شرایط تنش آب گردید. نتایج تحقیق یوسف و همکاران

و همکاران (Nickavar et al., 2005) نشان دادند که اصلی‌ترین ترکیبات اسانس آویشن تیمول (20/8 درصد) و کارواکول (52/8 درصد) می‌باشند. همچنین پارا-سیمین (4/1 درصد)، بورنتول (1/5 درصد) و گاما-تریپنین (5/4 درصد) از دیگر ترکیبات موجود در اسانس بودند. روستائیان و همکاران (Rustaiyan et al., 2000) ترکیب‌های اصلی موجود در اسانس آویشن را تیمول (40/8 درصد)، کارواکول (24/8 درصد)، گاما-تریپنین، پارا-سیمین و بورنتول گزارش نمودند. بارانائوسکین و همکاران (Baranauskienė et al., 2003) ترکیبات اصلی عصاره آویشن را تیمول (44/4 تا 58/1 درصد)، پارا-سیمین (9/1 تا 28/5 درصد)، گاما-تریپنین (6/9 تا 18/9 درصد) و کارواکول (2/4 تا 4/2 درصد) گزارش نمودند.

در پی بحران آلودگی‌های زیست محیطی، به منظور یافتن راهکارهای مناسب برای بهبود کیفیت خاک و محصولات کشاورزی و حذف آلاینده‌ها در بوم‌نظام‌های زراعی با هدف حذف یا کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی از کودهای زیستی استفاده شده است (Sharma, 2002). کودهای زیستی در برخی موارد به عنوان جایگزین و در اکثر موارد به عنوان مکمل کودهای شیمیایی می‌توانند پایداری تولید نظام‌های کشاورزی را تضمین نمایند (Han et al., 2006). کودهای زیستی متشکل از میکروارگانیسم‌های مفیدی هستند که هر یک به منظور خاصی مانند تثبیت نیتروژن، رهاسازی یون‌های فسفات، پتاسیم، آهن و غیره تولید می‌شوند. این میکروارگانیسم‌ها معمولاً در اطراف ریشه مستقر شده و گیاه را در جذب عناصر یاری می‌کنند (Wu et al., 2005). علاوه بر این موجب بهبود کیفیت فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک می‌گردند (Cardoso & Kuyper, 2006). در حال حاضر ثابت شده است که این باکتری‌ها با مکانیسم‌های متعددی سبب افزایش رشد و عملکرد کمی و کیفی گیاهان می‌شوند. افزایش فراهمی عناصر با افزایش انحلال مواد عناصر غذایی و تولید مواد کلات‌کننده در محیط ریزوسفر، افزایش جذب عناصر غذایی، بیوسنتز هورمون‌های گیاهی، کنترل پاتوژن‌های گیاهی و مقاومت گیاه در مقابل آن‌ها، بهبود ساختمان خاک، تحریک بیشتر رشد گیاه و افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی و حتی اسیدیته بالای خاک از جمله این مکانیسم‌ها می‌باشند (Chen, 2006; Nagananda et al., 2010; Glick et al., 1998). در برخی منابع به تأثیر مثبت کودهای بیولوژیک در بهبود رشد گیاه دارویی آویشن باغی (Vital et al., 2002) و رزماری (*Rosmarinus officinalis*)

طریق کاهش سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش در قابلیت هدایت روزنه‌ها، کاهش در آبیگری کلروپلاست و سایر بخش‌های پروتوپلاسم (که به نحوی کارآیی فتوسنتز را کاهش می‌دهند)، کاهش سنتز پروتئین و کلروفیل سبب تقلیل فرآیند فتوسنتز می‌گردد. تنش آب به طور مستقیم می‌تواند بر فرآیندهای بیوشیمیایی مربوط به فتوسنتز اثر گذاشته و به طور غیرمستقیم ورود دی‌اکسیدکربن به داخل روزنه‌ها را که به علت شرایط کم‌آبی بسته‌اند، کاهش دهد. از این‌رو انتقال مواد فتوسنتزی نیز تحت تأثیر تنش آب قرار گرفته و موجب اشیاع برگ‌ها از این مواد می‌گردد که ممکن است فتوسنتز را محدود نماید. بدیهی است که با محدود شدن فرآورده‌های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، رشد گیاه و نهایتاً عملکرد آن دچار نقصان می‌شود. سیمون و همکاران (Simon et al., 1992) اثر رژیم‌های مختلف آبی را روی گیاه ریحان بررسی کردند و مشاهده نمودند که با تشدید کمبود آب وزن خشک برگ و ساقه کاهش یافت. مانی رام و همکاران (Muni Ram et al., 1995) ضمن بررسی رژیم‌های مختلف رطوبت خاک بر گونه‌ای از نعنای نتیجه گرفتند که افزایش رطوبت خاک، ارتفاع گیاه، شاخص سطح برگ و تجمع ماده خشک را به طور معنی‌داری افزایش داد. فاروگی و همکاران (Farooqi et al., 1999) دریافتند که تنش آبی در تمام ژنوتیپ‌های مورد آزمایش گیاه سنبل هندی (*Cymbopogon winterianus* L.) باعث کاهش عملکرد اندام رویشی، ارتفاع گیاه و سطح برگ شد. ال‌کایر و همکاران (Alkire et al., 1993) با بررسی اثر آبیاری کامل، آبیاری مختصر و عدم انجام آبیاری بر گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperata* L.) نتیجه گرفتند که تنش آبی طول میان‌گرمه‌ها، ارتفاع گیاه و وزن خشک برگ، ساقه و ریشه را کاهش می‌دهد. رضاپور و همکاران (Rezapor et al., 2011) طی آزمایشی بر روی گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) گزارش کردند که تنش خشکی موجب کاهش بیوماس گیاهی، ارتفاع بوته و عملکرد اسانس گردید.

با توجه به اهمیت ترکیب‌های فنلی اسانس آویشن (تیمول) در صنعت داروسازی و از آن‌جا که هدف جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کیفیت، کمیت و سلامت ماده مؤثره می‌باشد، به نظر می‌رسد که تغذیه سالم این گیاهان از طریق کاربرد کودهای زیستی دارای تطابق بیشتری با اهداف تولید گیاهان دارویی داشته باشد. از طرف دیگر استفاده از کودهای زیستی به منظور کاهش مصرف کودهای شیمیایی و افزایش عملکرد گیاهان یک مسأله مهم در جهت

(Youssef et al., 2004) در گیاه دارویی مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) حاکی از آن بود که استفاده از کود بیولوژیک حاوی آزوسپیریوم و ازتوباکتر، سبب افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه در چین‌های اول و دوم در طی دو فصل گردید. این محققان اظهار داشتند که کودهای بیولوژیک حاوی ریزموجودات و جایگزینی آن‌ها با تنظیم‌کننده‌های رشد مصنوعی در بهبود ویژگی‌های رشدی و ترکیبات اسانس گیاه مریم‌گلی کارآیی بالایی دارند. جوشی و همکاران (Joshee et al., 2007) در گیاه دارویی بشقابی (*Scutellaria integrifolia* L.) گزارش نمودند که تلقیح ریشه این گیاه با مایکوریزا نه تنها در افزایش رشد و تکثیر گیاه خصوصاً رشد ریشه مؤثر بوده است، بلکه توانایی گیاه را برای رشد در خاک‌های حاشیه‌ای که با کمبود فسفر نیز مواجه هستند، افزایش داده است. سایلو و باگیاراج (Sailo & Bagyaraj, 2005) در بررسی اثر گونه‌های مختلف قارچ مایکوریزا آریوسکولار بر رشد گیاه دارویی صبر زرد گزارش نمودند که ارتفاع بوته، تعداد شاخه، زیست‌توده گیاه و همچنین میزان فسفر و ماده مؤثره فورسکولین در گیاهان تحت تیمار قارچ مایکوریزا نسبت به شاهد افزایش یافت. نتایج تحقیق راتی و همکاران (Ratti et al., 2001) حاکی از آن بود که ترکیب قارچ مایکوریزا با باکتری‌های محرک رشد گیاه از جمله باسیلوس و آزوسپیریوم منجر به افزایش زیست‌توده و میزان فسفر در گیاه دارویی علف‌لیمو (*Cymbopogon martini* L.) گردید.

افزایش محتوای دارویی ترکیبات مطلوب گیاهان دارویی با دستکاری تکنیک‌های زراعی از جمله آبیاری، کوددهی یا سیستم‌های فتوبیوراکتور امکان‌پذیر می‌باشد. در طول فرآیند تکامل و تولید متابولیت‌های ثانویه، متابولیسم ثانویه گیاه و متابولیت‌های حاصل از آن تحت تأثیر پاسخ و سازگاری تنش‌های محیطی متفاوت پیوسته به عوامل محیطی از جمله عوامل زنده و غیر زنده می‌باشند (Xia et al., 2007). تنش‌های زنده و غیر زنده اثر قابل ملاحظه‌ای بر رشد، عملکرد و سطوح متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارند (Dixon & Paiva, 1995).

کمبود آب از مهم‌ترین عوامل محیطی کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی، باغی و دارویی به خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیاست (Babae et al., 2010). تنش خشکی در مراحل مختلف رشد، به خصوص مراحل گلدهی و دانه‌بندی محدودکننده عملکرد است (Kalamian et al., 2006). تنش آب از

حرکت به سمت کشاورزی پایدار می‌باشد که تحت تنش آب می‌تواند از اهمیت مضاعفی برخوردار باشد (Gliessman, 1998). بنابراین، مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثر کودهای زیستی و تنش خشکی بر رشد، عملکرد و ترکیبات اسانس آویشن طراحی شد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زابل با طول جغرافیایی بین 60 درجه و 15 دقیقه تا 61 درجه و 50 دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی 30 درجه و 50 دقیقه تا 31 درجه و 28 دقیقه شمالی و با ارتفاع 480 متر از سطح دریای آزاد در سال‌های زراعی 1390-1391 و 1391-1392 اجرا شد. این منطقه دارای اقلیمی بیابانی با تابستان بسیار خشک و زمستان ملایم است. میانگین دمای سالانه 21/7 درجه سانتی‌گراد، حداکثر مطلق دما 49 درجه سانتی‌گراد و حداقل مطلق آن 7- درجه سانتی‌گراد می‌باشد. میانگین سالانه رطوبت نسبی 39/20 درصد و میانگین بارندگی و تبخیر سالانه به ترتیب 53 و 4000-5000 میلی‌متر است. بر اساس نتایج آزمایش خاک از عمق صفر تا 30 سانتی‌متر، بافت خاک رسی - سیلتی، اسیدیته 7/16 هدایت الکتریکی  $1/5 \text{dS} \cdot \text{m}^{-1}$ ، نیتروژن کل 0/17 درصد، فسفر قابل دسترس 12ppm و پتاسیم قابل دسترس 140ppm تعیین شد.

بذور مورد نیاز برای کشت، از سازمان جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه شد و در 15 اسفند سال 1390 و 1391 کشت گردیدند. طرح مورد آزمایش اسپیلت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار بود. عامل اصلی شامل تنش خشکی با چهار سطح (آبیاری 90، 70، 50 و 30 درصد ظرفیت زراعی) و عامل فرعی شامل کود زیستی با سه سطح نیتروکسین (حاوی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن از جنس *Azospirillum*، *Azotobacter chroococcum* و *lipoferoum* و حل‌کننده فسفات از جنس *Pseudomonas* sp. با  $10^8$  سلول زنده در هر میلی‌لیتر)، بیوفسفر (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) و قارچ *مایکوریزا (G. intraradices)* بود. کودهای بیولوژیک استفاده شده در این تحقیق توسط شرکت فن‌آوری زیستی مهر آسیا

(MABCO) 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 30 دقیقه در محلول باکتریایی بود. برای تلقیح بذور با قارچ *G. intraradices*، ابتدا بذور آویشن با محلول صمغ عربی (20 گرم صمغ عربی در یک لیتر آب) ترکیب و سپس با قارچ *G. intraradices* آغشته گردید. پس از تلقیح و خشک شدن بذرها در سایه و به دور از تابش مستقیم نور خورشید بلافاصله اقدام به کاشت گردید. در طول اجرای آزمایش، هیچ نوع کود شیمیایی، علف‌کش، آفت‌کش و یا قارچ‌کشی مورد استفاده قرار نگرفت.

کاشت به صورت هیرم‌کاری صورت گرفت. بدین منظور سه تا چهار بذر در داخل هر کرت آزمایش در کپه‌هایی با عمق سه سانتی-متر قرار گرفت. کرت‌های آزمایشی از شش خط پنج متری تشکیل شده بود. فاصله بین ردیف‌ها و فاصله بین بوته‌های هر ردیف 50 سانتی‌متر در نظر گرفته شد. فاصله بین دو کرت دو متر و فاصله بین تکرارها نیز سه متر بود. رطوبت در ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی به ترتیب 28/5 و 12/5 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 90، 70، 50 و 30 درصد ظرفیت زراعی با تانکر انجام شد. اندازه‌گیری رطوبت با دستگاه رطوبت‌سنج  $\text{TDR}^2$  مدل دلتا تی (Delta-T Devices Ltd. UK) انجام گرفت. عملیات تنک کردن در مرحله دو تا چهار برگی انجام شد. وجین علف‌های هرز در سه نوبت با دست انجام گردید. برداشت در مرحله گلدهی (سال 1391 در اول خرداد و سال 1392 در 12 خرداد) انجام شد. صفات ارتفاع بوته، وزن تر و خشک سرشاخه‌های گلدار، درصد اسانس و عملکرد آن روی ده بوته که به طور تصادفی از هر کرت انتخاب شده بودند، مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. در مرحله برداشت سرشاخه ده بوته از هر کرت به طور تصادفی انتخاب و وزن شدند. سپس در سایه و در جریان باد خشک شدند و وزن خشک آن‌ها بر حسب گرم در بوته محاسبه شد. از هر نمونه خشک شده 100 گرم آسیاب گردید و به مدت دو ساعت با استفاده از روش تقطیر با آب، اسانس‌گیری و درصد آن تعیین شد. ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس توسط دستگاه

1- Mehr asia biotechnology company

2- Time domain reflectometry

گرم در بوته) در تیمار آبیاری با 90 درصد ظرفیت زراعی و کمترین آن‌ها (به ترتیب 22/23 سانتی‌متر و 40/79 و 22/81 گرم در بوته) در تیمار آبیاری با 30 درصد ظرفیت زراعی حاصل گردید (جدول 2). تیمار کودی اثر معنی‌دار ( $p \leq 0/01$ ) بر ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک سرشاخه‌های گلدار داشت (جدول 1). بیشترین ارتفاع گیاه (28/48 سانتی‌متر)، وزن تر و خشک سرشاخه‌های گلدار (77/91 و 34/12 گرم در بوته) در تیمار کود زیستی نیتروکسین و کمترین آن‌ها (به ترتیب 22/37 سانتی‌متر و 61/16 و 26/49 گرم در بوته) در تیمار کود زیستی مایکوریزا مشاهده شد (جدول 2). برهمکنش تیمارهای کودی و تنش کمبود آب برای ارتفاع بوته، وزن تر و خشک سرشاخه‌های گلدار معنی‌دار بود (جدول 1). در تیمار آبیاری با 90 درصد ظرفیت زراعی و کود زیستی نیتروکسین بیشترین ارتفاع گیاه (35/09 سانتی‌متر)، وزن تر و خشک سرشاخه‌های گلدار (به ترتیب 103/52 و 43/27 گرم در بوته) و در تیمار آبیاری با 30 درصد ظرفیت زراعی و کود زیستی مایکوریزا کمترین مقدار آن‌ها (به ترتیب 19/55 سانتی‌متر و 35/18 و 18/98 گرم در بوته) به دست آمد (جدول 3).

ارتفاع بوته، وزن تر و خشک سرشاخه‌های گلدار مانند هر اندام رویشی یا زایشی دیگر شدیداً تحت تأثیر عناصر غذایی و آب قرار می‌گیرند (Erkossa et al., 2002). پارامترهای رشد رویشی با افزایش تنش خشکی کاهش یافتند. کاهش عملکرد در طی افزایش سطح تنش خشکی بر اساس نظر سروالی و همکاران (Sreevalli et al., 2001) می‌تواند مربوط به افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش‌های هوایی گیاه باشد. تنش خشکی موجب کاهش مقدار آب، آماس، پتانسیل کل آب، پژمردگی، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش در بزرگ شدن سلول‌ها و رشد رویشی می‌گردد. کمیت و کیفیت رشد رویشی گیاه بستگی به تقسیم سلولی، بزرگ شدن سلول‌ها و تمایز دارد و کلیه این حوادث متأثر از تنش خشکی می‌باشند (Kusaka et al., 2005). از اولین نشانه‌های کمبود آب، کاهش فشار آماس و در نتیجه کاهش رشد و توسعه سلول‌ها به ویژه در ساقه و برگ‌هاست. کاهش در بزرگ شدن سلول‌ها و تقسیم سلولی موجب کاهش سطح برگ و در نتیجه کاهش فتوسنتز و اجزای رشد رویشی می‌گردد. با کاهش رشد و نمو سلول، اندازه اندام محدود می‌شود. به عبارت دیگر کاهش مواد فتوسنتزی تولیدی به علت کاهش سطح برگ و کاهش انتقال مواد آسمیلاتی به سمت اندام‌های زایشی در اثر تنش کمبود آب سبب کاهش عملکرد سرشاخه‌های گلدار می‌گردد. به

کروماتوگرافی گاز (GC) (کروماتوگرافی گازی مدل شیماتزو<sup>1</sup> مجهز به دتکتور F.I.D (یونیزاسیون شعله هیدروژن) و داده پرداز Chromatepac، ستون DB-5 و نیمه‌قطبی به طول 30 متر، قطر داخلی 25 میکرون و ضخامت لایه فاز ساکن برابر 0/25 میکرون، گاز حامل هلیوم، سرعت جریان گاز حامل 22/7 سانتی‌متر بر ثانیه، برنامه حرارتی 250-50 درجه سانتی‌گراد با سرعت چهار درجه سانتی‌گراد بر دقیقه و دمای محفظه تزریق 260 درجه سانتی‌گراد بود.) و کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) (کروماتوگرافی گازی Varin-3400 متصل شده با طیف‌سنج جرمی (Saturn II)، ستون DB-5 و نیمه‌قطبی به طول 30 متر، قطر داخلی 25 میکرون و ضخامت لایه فاز ساکن برابر 0/25 میکرون، دتکتور Ion trap، گاز حامل هلیوم، سرعت جریان گاز حامل 35 میلی‌لیتر بر دقیقه و انرژی یونیزاسیون در طیف سنج جرمی معادل 70 الکترون-وات، برنامه حرارتی 240-60 درجه سانتی‌گراد با سرعت سه درجه سانتی‌گراد بر دقیقه و دمای محفظه تزریق 220 درجه سانتی‌گراد بود.) واقع در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تجزیه شد. پس از تزریق اسانس به دستگاه‌های نامبرده، با استفاده از زمان بازداری ترکیب‌ها (tR)، اندیس بازداری (RT) طیف جرمی و مقایسه این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد و یا با اطلاعات موجود در کتابخانه نسبت به شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس اقدام گردید. درصد کمی این ترکیب‌ها نیز با محاسبه سطوح زیر منحنی در کروماتوگرام‌ها محاسبه شد (Adams, 2001).

ویژگی‌های مورد بررسی برای دو سال تجزیه مرکب و مقایسه میانگین شدند. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد و با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری نتایج تحقیق با استفاده از نسخه 9/2 نرم افزار SAS<sup>2</sup> (SAS Institute, 2013, Cary, NC) صورت گرفت.

## نتایج و بحث

### رشد رویشی

اثر تنش کمبود آب بر ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک سرشاخه‌های گلدار معنی‌دار ( $p \leq 0/01$ ) بود (جدول 1). بیشترین ارتفاع گیاه (30/92 سانتی‌متر)، وزن تر و خشک سرشاخه‌های گلدار (95/11 و 37/53

1- Shimatzu  
2- Statistical analysis system

جانسی، وزن خشک اندام رویشی آویشن را کاهش می‌دهد. جانسن و همکاران (Janssen et al., 1987) بیان داشتند که وزن تر و خشک گیاه آویشن اسپانیایی با افزایش تنش آبی کاهش می‌یابد. براساس نتایج به دست آمده در این آزمایش می‌توان بیان کرد که هر چند با کاهش میزان آب مصرفی و به تبع آن بروز تنش خشکی از عملکرد ماده خشک در گیاه کاسته می‌شود، اما با به‌کارگیری کود زیستی به ویژه در سطوح بالای تنش خشکی می‌توان تا حدی از بروز اثرات سوء تنش بر عملکرد تولیدی این گیاه کاست که این مسأله را می‌توان به تأثیر مثبت کودهای زیستی در بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاهان در شرایط تنش در نظر گرفت. کودهای زیستی با افزایش جذب نیتروژن و افزایش کارایی این عنصر در فرآیند فتوسنتز و تولید سطح سبز، نقش به‌سزایی ایفا می‌نمایند که افزایش رشد را به دنبال خواهند داشت.

همین دلیل اولین اثر محسوس کم‌آبی بر گیاهان را می‌توان از روی اندازه کوچکتر برگ‌ها و ارتفاع کمتر گیاهان تشخیص داد. به علاوه در شرایط کم‌آبی، جذب مواد و عناصر غذایی نیز کاهش یافته و بنابراین رشد و توسعه برگ‌ها محدود می‌گردد. متعاقب کاهش سطح برگ، جذب نور نیز کاهش یافته و ظرفیت کل فتوسنتزی گیاه کاهش می‌یابد و بدیهی است که با محدود شدن فرآورده‌های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، رشد گیاه و نهایتاً عملکرد آن دچار نقصان می‌شود (Omidbaygi et al., 2003). لتچامو و همکاران (Letchamo et al., 1994) در آزمایش گلخانه‌ای، اثرات سه سطح آب خاک 60، 70 و 90 درصد ظرفیت مزرعه‌ای را بر روی گیاه آویشن مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که بیشترین میزان تجمع ماده خشک در 90 درصد ظرفیت مزرعه‌ای به دست آمد. بابایی و همکاران (Babae et al., 2010) اذعان داشتند که تنش خشکی ارتفاع بوته، تعداد ساقه

جدول 1- تجزیه واریانس مرکب عملکرد کمی و کیفی آویشن تحت تنش خشکی و کود زیستی

Table 1- Combined analysis of variance of quantitative and qualitative yield of thyme under drought stress and biofertilizer

| منابع تغییر<br>S.O.V   | درجه<br>آزادی<br>df | میانگین مربعات<br>Mean sum of squares |                           |                          |                             |  |
|--|---------------------|---------------------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|--|
|  |                     | ارتفاع بوته<br>Plant<br>height        | وزن تر<br>Fresh<br>weight | وزن خشک<br>Dry<br>weight | درصد اسانس<br>Essential oil | عملکرد اسانس<br>Essential oil<br>yield |
| سال<br>Year  | 1                   | 29.42**                               | 99.36 <sup>ns</sup>       | 274.98*                  | 0.00301 <sup>ns</sup>       | 0.00461 <sup>ns</sup>                  |
| تکرار (سال)<br>Replication (Year)                                      | 2                   | 0.13                                  | 17.43                     | 2.98                     | 0.00048                     | 0.00198                                |
| تنش خشکی<br>Drought stress   | 3                   | 184.92**                              | 6618.28**                 | 500.90**                 | 0.00322**                   | 0.06580**                              |
| سال × تنش خشکی<br>Year × drought stress                                | 3                   | 3.29**                                | 28.93 <sup>ns</sup>       | 1.39 <sup>ns</sup>       | 0.00005 <sup>ns</sup>       | 0.00006 <sup>ns</sup>                  |
| تکرار × تنش خشکی (سال)<br>Replication × drought stress<br>(Year)       | 6                   | 0.10                                  | 24.46                     | 0.88                     | 0.00004                     | 0.00152                                |
| کود زیستی<br>Biofertilizer   | 2                   | 160.60**                              | 1130.53**                 | 241.90**                 | 0.00881**                   | 0.02290**                              |
| تنش خشکی × کود زیستی<br>Drought stress × biofertilizer                 | 6                   | 7.87**                                | 44.66**                   | 7.92**                   | 0.01790**                   | 0.00280**                              |
| سال × کود زیستی<br>Year × biofertilizer                                | 2                   | 3.66**                                | 58.41**                   | 3.18**                   | 0.00025*                    | 0.00011 <sup>ns</sup>                  |
| تنش خشکی × کود زیستی × سال<br>Drought stress × biofertilizer ×<br>year | 6                   | 0.79**                                | 6.85 <sup>ns</sup>        | 4.12**                   | 0.00031**                   | 0.00014 <sup>ns</sup>                  |
| خطا<br>Error   | 16                  | 0.11                                  | 4.62                      | 0.51                     | 0.00007                     | 0.00032                                |
| ضریب تغییرات (درصد)<br>CV (%)  |                     | 1.28                                  | 3.11                      | 2.38                     | 2.44                        | 7.61                                   |

\*, \*\* 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.

جدول 2- مقایسه میانگین اثرات ساده تنش خشکی و کود زیستی بر عملکرد کمی و کیفی آویشن (مرکب)

Table 2- Mean comparisons of drought stress and biofertilizer simple effects on quantitative and qualitative yield of thyme (Combined)

| تیمار<br>Treatments        | سطوح<br>Levels                              | ارتفاع بوته<br>(سانتی متر)<br>Plant height<br>(cm) | وزن تر (گرم در بوته)<br>Fresh weight<br>(g.plant <sup>-1</sup> ) | وزن خشک (گرم در بوته)<br>Dry weight<br>(g.plant <sup>-1</sup> ) | درصد اسانس<br>(درصد)<br>Essential oil<br>(%) | عملکرد اسانس (میلی - لیتر در بوته)<br>Essential oil yield<br>(ml.plant <sup>-1</sup> ) |
|----------------------------|---|--|--|---|--|--|
| تنش خشکی<br>Drought stress | 90 درصد ظرفیت<br>زرعی<br>90% field capacity | 30.92 <sup>a*</sup>                                | 95.11 <sup>a</sup>   | 37.53 <sup>a</sup>  | 0.319 <sup>d</sup>                           | 0.305 <sup>a</sup>   |
|                            | 70 درصد ظرفیت<br>زرعی<br>70% field capacity | 27.07 <sup>b</sup>                                 | 79.61 <sup>b</sup>   | 32.44 <sup>b</sup>  | 0.357 <sup>a</sup>                           | 0.281 <sup>a</sup>   |
|                            | 50 درصد ظرفیت<br>زرعی<br>50% field capacity | 23.41 <sup>c</sup>                                 | 60.97 <sup>c</sup>   | 26.68 <sup>c</sup>  | 0.346 <sup>b</sup>                           | 0.211 <sup>b</sup>   |
|                            | 30 درصد ظرفیت<br>زرعی<br>30% field capacity | 22.23 <sup>d</sup>                                 | 40.79 <sup>d</sup>   | 22.81 <sup>d</sup>  | 0.332 <sup>c</sup>                           | 0.141 <sup>c</sup>   |
| کود زیستی<br>Biofertilizer | مایکوریزا<br>Mycorrhiza                     | 22.37 <sup>c</sup>                                 | 61.16 <sup>c</sup>   | 26.49 <sup>c</sup>  | 0.316 <sup>c</sup>                           | 0.204 <sup>c</sup>   |
|                            | بیوفسفر<br>Biophosphorus                    | 26.88 <sup>b</sup>                                 | 68.28 <sup>b</sup>   | 28.99 <sup>b</sup>  | 0.337 <sup>b</sup>                           | 0.2219 <sup>b</sup>  |
|                            | نیتروکسین<br>Nitroxin                       | 28.48 <sup>a</sup>                                 | 77.91 <sup>a</sup>   | 34.12 <sup>a</sup>  | 0.363 <sup>a</sup>                           | 0.277 <sup>a</sup>   |

\* در هرستون برای هر تیمار، حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد می باشد.

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

کردند که کاربرد مایه تلقیح *آزوسپیریوم* و *ازتوباکتر* و قارچ *مایکوریزا* منجر به افزایش ارتفاع، شاخص سطح برگ، تجمع ماده خشک و سرعت رشد محصول گیاه سیاهدانه نسبت به شاهد گردید. در این میان تلقیح *مایکوریزا* و *آزوسپیریوم* بیشترین تأثیر را در افزایش صفات مورد مطالعه داشت. وینوتا (2005) گزارش نمود که تلقیح گیاه ریحان با گونه های مختلف باکتری *ازتوباکتر* و قارچ *گلووموس* سبب افزایش زیست توده، سرعت رشد و میزان اسانس گیاه می شود. در تحقیقی کاربرد کود زیستی *آزوسپیریوم* و *ازتوباکتر*، سبب افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام های هوایی گیاه مریم گلی در چین های اول و دوم طی دو فصل گردید (Youssef et al., 2004). اثر کودهای زیستی بر عملکرد و اجزاء عملکرد گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) نشان داد که کود فسفات زیستی دارای تأثیر معنی داری بر روی ارتفاع بوته و عملکرد بیولوژیک می باشد (Darzi et al., 2008). وو و همکاران (Wu et al., 2005)

همچنین کودهای زیستی از طریق تولید ترشحات حل کننده و کاهش اسیدیته، عناصر مختلف غذایی را به صورت محلول در اختیار گیاه قرار می دهند (Han & Lee, 2006; Rademacher, 1994). Kader (2002) باکتری های موجود در کود زیستی علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا و متعادل کردن جذب عناصر اصلی پ مصرف و کم مصرف مورد نیاز گیاه با ساخت و ترشح مواد محرک رشد گیاه و همچنین ترشح اسیدهای آمینه مختلف و انواع آنتی بیوتیک ها موجب رشد و توسعه ریشه و اندام هوایی می شوند (Han & Lee, 2006; Gutierrez-Manero et al., 2001). دسترسی گیاه به آب و عناصر غذایی کافی، به خصوص نیتروژن از طریق تأثیر بر روی تقسیم و بزرگ شدن سلول ها در افزایش اجزای رشد رویشی بسیار مؤثر می باشد. در منابع مختلف به نقش مفید و مؤثر میکروارگانیزم ها در بهبود رشد و عملکرد گیاهان دارویی اشاره شده است. خرم دل و همکاران (Khorramdel et al., 2008) مشاهده

علت بهبود ارتفاع گیاه ذرت (*Zea mays* L.) تلقیح شده با کودهای زیستی را افزایش جذب عناصر غذایی و بهبود فتوسنتز عنوان کردند.

جدول 3- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی بر عملکرد کمی و کیفی آویشن (مرکب)

Table 3- Mean comparisons of drought stress and biofertilizer interaction on quantitative and qualitative yield of thyme (Combined)

| تنش خشکی<br>Drought stress                     | کود زیستی<br>Biofertilizer | ارتفاع بوته<br>(سانتی متر)<br>Plant height<br>(cm) | وزن تر (گرم در بوته)<br>Fresh weight<br>(g.plant <sup>-1</sup> ) | وزن خشک (گرم در بوته)<br>Dry weight<br>(g.plant <sup>-1</sup> ) | درصد اسانس<br>(درصد)<br>Essential oil<br>(%) | عملکرد اسانس (میلی - لیتر در بوته)<br>Essential oil yield<br>(ml.plant <sup>-1</sup> ) |
|--|----------------------------|--|--|---|--|--|
| 90 درصد ظرفیت<br>زرعی<br>90% field<br>capacity | مایکوریزا<br>Mycorrhiza    | 26.67 <sup>d*</sup>                                | 87.59 <sup>c</sup>   | 34.21 <sup>c</sup>  | 0.203 <sup>h</sup>                           | 0.180 <sup>ef</sup>  |
|  | بیوفسفر<br>Biophosphorus   | 31.01 <sup>b</sup>                                 | 94.21 <sup>b</sup>   | 35.11 <sup>c</sup>  | 0.278 <sup>g</sup>                           | 0.260 <sup>c</sup>   |
|  | نیتروکسین<br>Nitroxin      | 35.09 <sup>a</sup>                                 | 103.52 <sup>a</sup>  | 43.27 <sup>a</sup>  | 0.345 <sup>cd</sup>                          | 0.350 <sup>a</sup>   |
| 70 درصد ظرفیت<br>زرعی<br>70% field<br>capacity | مایکوریزا<br>Mycorrhiza    | 22.52 <sup>g</sup>                                 | 66.25 <sup>e</sup>   | 28.88 <sup>e</sup>  | 0.335 <sup>ef</sup>                          | 0.260 <sup>c</sup>   |
|  | بیوفسفر<br>Biophosphorus   | 27.100 <sup>c</sup>                                | 80.30 <sup>d</sup>   | 31.22 <sup>d</sup>  | 0.363 <sup>c</sup>                           | 0.303 <sup>b</sup>   |
|  | نیتروکسین<br>Nitroxin      | 30.70 <sup>b</sup>                                 | 92.29 <sup>bc</sup>  | 37.22 <sup>b</sup>  | 0.413 <sup>a</sup>                           | 0.323 <sup>ab</sup>  |
| 50 درصد ظرفیت<br>زرعی<br>50% field<br>capacity | مایکوریزا<br>Mycorrhiza    | 20.75 <sup>h</sup>                                 | 55.63 <sup>f</sup>   | 23.91 <sup>f</sup>  | 0.328 <sup>f</sup>                           | 0.213 <sup>de</sup>  |
|  | بیوفسفر<br>Biophosphorus   | 24.50 <sup>e</sup>                                 | 58.97 <sup>f</sup>   | 25.72 <sup>f</sup>  | 0.353 <sup>cd</sup>                          | 0.240 <sup>cd</sup>  |
|  | نیتروکسین<br>Nitroxin      | 24.99 <sup>e</sup>                                 | 68.32 <sup>e</sup>   | 30.41 <sup>de</sup>   | 0.393 <sup>b</sup>                           | 0.263 <sup>c</sup>   |
| 30 درصد ظرفیت<br>زرعی<br>30% field<br>capacity | مایکوریزا<br>Mycorrhiza    | 19.55 <sup>h</sup>                                 | 35.18 <sup>h</sup>   | 18.98 <sup>g</sup>  | 0.323 <sup>f</sup>                           | 0.015 <sup>f</sup>   |
|  | بیوفسفر<br>Biophosphorus   | 23.99 <sup>ef</sup>                                | 39.66 <sup>h</sup>   | 23.89 <sup>f</sup>  | 0.350 <sup>cde</sup>                         | 0.076 <sup>g</sup>   |
|  | نیتروکسین<br>Nitroxin      | 23.16 <sup>fg</sup>                                | 47.53 <sup>g</sup>   | 25.57 <sup>f</sup>  | 0.380 <sup>b</sup>                           | 0.195 <sup>e</sup>   |

\* در هرستون برای هر تیمار، حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد می باشد.

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

(Tilak et al., 2005). از توپاکتر موجود در نیتروکسین با تولید ترکیبات ضدقارچی بر علیه بیماری های گیاهی و همچنین تقویت جوانه زنی و بنیه گیاهچه در نهایت بهبود رشد گیاه را به دنبال داشته است (Chen, 2006). در محیط ریشه گیاه، از توپاکتر و آزوسپیریولوم توانایی ساخت و ترشح برخی مواد بیولوژیک فعال مانند اکسین ها، جیبرلین ها، ویتامین های گروه B، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتینیک، بیوتین و غیره را دارند که در افزایش رشد نقش مؤثری ایفا نموده اند (Karthikeyan et al., 2008). گونه های مختلف جنس سودوموناس موجود در نیتروکسین با کنترل قارچ های بیماری زا (Pal et al., 2001) و از طریق سازوکارهای مختلفی از جمله تولید سیدروفورها،

تیمار کود زیستی نیتروکسین بیشترین رشد رویشی را حاصل نموده است و پس از آن بیوفسفر و مایکوریزا قرار داشتند. افزودن کود زیستی نیتروکسین به خاک نه تنها فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را افزایش داده است، بلکه با بهبود شرایط فیزیکی و فرآیندهای حیاتی خاک، ضمن ایجاد یک بستر مناسب برای رشد ریشه، موجبات افزایش دسترسی به عناصر معدنی و در نهایت رشد رویشی را فراهم آورده است. آزوسپیریولوم موجود در نیتروکسین، علاوه بر قابلیت تثبیت نیتروژن، با تولید مواد محرک رشد، سبب بهبود رشد ریشه و متعاقب آن افزایش سرعت جذب آب و عناصر غذایی گردیده است و از این طریق در افزایش عملکرد سرشاخه های گلدار تأثیرگذار بوده است



با افزایش بیشتر تنش خشکی عملکرد اسانس کاهش یافت و به کمترین مقدار خود رسید، طوری که کمترین مقدار عملکرد اسانس (0/141 میلی لیتر در بوته) برای گیاهان تحت تنش آبیاری 30 درصد ظرفیت زراعی حاصل شد (جدول 2). این مسأله ناشی از این است که تنش خشکی یکی از مهم ترین علل از دست دادن محصول در سرتاسر جهان است و موجب کاهش 50 درصد و بیشتر عملکرد می گردد (Wang et al., 2003). کاهش عملکرد اسانس در نتیجه کاهش رطوبت خاک می تواند ناشی از اثر زیان بار تنش آبی بر رشد و توسعه پیکره رویشی گیاه باشد. از آنجا که عملکرد اسانس تابع درصد اسانس و عملکرد سرشاخه های گلدار گیاه می باشد و مهم ترین جزء عملکرد اسانس عملکرد پیکره رویشی گیاه بود (جدول های 5 و 6). بنابراین، اگر چه در شرایط کم آبی درصد اسانس افزایش یافته است، ولی به دلیل کاهش محسوس عملکرد سرشاخه های گلدار، عملکرد اسانس کاهش یافت. آب بافت های گیاهان تحت تنش خشکی کاهش می یابد و این مسأله موجب محدود شدن فتوسنتز می گردد. واکنش گیاه به کمبود آب، بستن سریع روزنه ها برای جلوگیری از دست دادن آب بیشتر از طریق تعرق می باشد. در نتیجه انتشار CO<sub>2</sub> از برگ محدود می گردد و این مسأله موجب محدود شدن فتوسنتز در محل پذیرش ریبولوز 1، 5 بیوفسفات کربوکسیلاز/اکسیژناز (Coronic et al., 1992) یا بازداری مستقیم آنزیم های فتوسنتزی مانند روبیسکو (Haupt- Herting & Fock, 2000) یا ساخت ATP (Nogues & Baker, 2000) می گردد. علاوه بر این، شرایط تنش باعث شکل گیری رادیکال سوپر اکسید (O<sub>2</sub>) و پراکسید هیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)، رادیکال هیدروکسیل (OH) می گردد (Sairam et al., 2000; & Saxena, 2005; Turkan et al., 2005). فعالیت این گونه های فعال اکسیژن (ROS<sup>1</sup>) باعث بروز صدماتی مثل اکسید شدن چربی ها، تغییر ساختار غشاء و از هم پاشیدگی یکپارچگی آن، تغییر ساختار پروتئین ها، غیر فعال شدن آنزیم ها، بی رنگ شدن یا از بین رفتن رنگدانه هایی مثل کلروفیل، حمله به مولکول های آبی مثل DNA و اختلال در این رشته های پروتئینی می گردد (Mittler et al., 2002; Habibi et al., 2004; Mohanty, 2003). این صدمات فیزیولوژیک موجب کاهش رشد و توسعه سلول ها به ویژه در ساقه و برگ ها و از بین رفتن کلروفیل می گردد. کاهش رشد و توسعه سلول ها و از بین رفتن کلروفیل موجب کاهش سطح برگ و در نتیجه کاهش فتوسنتز (کاهش گلوکز پیش ماده اسانس ها) و اجزای رشد رویشی و

سنتز آنتی بیوتیک ها، تولید هورمون های گیاهی، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم هایی که مقدار اتیلن در گیاه را تنظیم می کنند، سبب تحریک رشد گیاه شدند (Abdul- Jaleel et al., 2007). از آنجایی که کود زیستی نیتروکسین نسبت به سایر کودهای مورد استفاده کامل تر می باشد، بنابراین رشد بهتر گیاه در نتیجه استفاده از این کود دور از انتظار نمی باشد.

### درصد و عملکرد اسانس

در تجزیه مرکب دو سال زراعی نوع کود زیستی، تنش خشکی و برهمکنش آن ها اثر معنی داری بر درصد و عملکرد اسانس آویشن داشتند (جدول 1). بیشترین درصد اسانس (0/357 درصد) از گیاهان تحت تنش آبیاری با 70 درصد ظرفیت زراعی به دست آمد. کمترین درصد اسانس (0/319 درصد) برای گیاهان تحت تنش آبیاری با 90 درصد ظرفیت زراعی حاصل شد (جدول 2). در آزمایش های لتچامو و همکاران (Letchamo et al., 1994) روی آویشن نیز بیشترین درصد اسانس در رژیم آبی 70 درصد ظرفیت مزرعه حاصل شد. تصور بر این است که در شرایط تنش خشکی و کم آبی تولید مواد مؤثره به دلیل جلوگیری از اکسیداسیون درون سلولی افزایش می یابد. تنش خشکی تا میزان 70 درصد ظرفیت زراعی، موجب افزایش درصد اسانس شده است و با افزایش بیشتر تنش خشکی درصد اسانس کاهش یافت. 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 می توان این گونه بیان داشت که به طور کلی، کمبود آب در هر مرحله از رشد گیاه، جذب، انتقال و مصرف عناصر غذایی را کاهش می دهد که پیامد آن کم شدن ذخیره کربن و کاهش درصد اسانس می باشد. رفعت و صالح (Refaat & Saleh, 1997) در ریحان نیز گزارش کردند که با کاهش رطوبت خاک، درصد اسانس افزایش می یابد. لتچامو و گاسلین (Letchamo & Gasselin, 1996) اثر سه رژیم رطوبتی 90، 70 و 50 درصد ظرفیت مزرعه ای را بر گیاه آویشن بررسی و مشاهده نمودند که بالاترین درصد و عملکرد اسانس در شرایط 70 درصد ظرفیت مزرعه ای به دست آمد که این نتیجه در توافق با یافته های این تحقیق بود.

بیشترین عملکرد اسانس (0/306) از گیاهان تحت تنش آبیاری با 90 درصد ظرفیت زراعی به دست آمد که اختلاف آن با گیاهان تحت تنش آبیاری 70 درصد ظرفیت زراعی معنی دار نبود (جدول 2).

نیترژن از طریق جذب کارآمد فسفر و نیترژن توسط ریشه آویشن، موجب افزایش درصد اسانس این گیاه دارویی شده‌اند. 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 متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Demir, 2004). این موضوع با نتیجه تحقیقات کاپور و همکاران (Kapoor et al., 2004) در رازیانه، راتی و همکاران (Ratti et al., 2001) در علف لیمو، 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/زئوباکتر در افزایش اسانس گیاه دارویی رزماری اشاره داشتند. نتایج پژوهش کاپور و همکاران (Kapoor et al., 2002) بیانگر اثر مثبت کاربرد کود زیستی مایکوریزا بر درصد اسانس گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) بود. همچنین محفوظ و شرف‌الدین (Mahfoz & Sharaf-Eldin, 2007) بر روی گیاه رازیانه نتیجه گرفتند که کاربرد کودهای زیستی باعث افزایش درصد اسانس گیاهان مذکور شد.

بیشترین عملکرد اسانس (0/350 میلی‌لیتر در بوته) از گیاهان تحت کشت تیمارهای کود زیستی نیتروکسین و آبیاری با 90 درصد ظرفیت زراعی به دست آمد که اختلاف آن با تیمارهای کود زیستی نیتروکسین و آبیاری با 70 درصد ظرفیت زراعی (0/323 میلی‌لیتر در بوته) معنی‌دار نبود. کمترین مقدار آن (0/015 میلی‌لیتر در بوته) از گیاهان تحت کشت تیمار-های کود زیستی مایکوریزا و آبیاری با 30 درصد ظرفیت زراعی به دست آمد (جدول 3). با توجه به اثر متقابل بین تیمارها، اختلاف عملکرد اسانس را می‌توان به تأثیر مثبت کودهای زیستی در بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاهان در شرایط تنش در نظر گرفت. 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، 1-آمینوسیکلو پروپان - 1- کربوکسیلیک دی‌آمیناز - 7 و تولید مواد هورمونی در اثر واکنش نیتريت ACC به وسیله آنزیم ACC دامیناز اسید حاصل از تنش نیتراتی با اسید آسکوربیک مهم‌ترین سازوکار تأثیر این باکتری‌ها باشند (Zahir et al., 2004). به عبارت دیگر کاربرد باکتری‌های محرک رشد می‌تواند در تعدیل شرایط تنش کم‌آبی از طریق بهبود فراهمی عناصر، ترشح مواد تحریک‌کننده رشد و تسریع

در نهایت کاهش عملکرد اسانس می‌گردد. اثرات نامناسب تنش خشکی در کاهش عملکرد اسانس توسط رفات و صالح (Refaat & Saleh, 1997) در ریحان و لتچامو و همکاران (Letchamo et al., 1994) در آویشن و سولیناس و دایانا (Solinas & Deiana, 1996) در اکلیل کوهی (*Rosmarinus officinalis* L.) نیز گزارش گردیده است.

بیشترین درصد و عملکرد اسانس (0/363 درصد و 0/277 میلی-لیتر در بوته) از گیاهان تحت کشت کود زیستی نیتروکسین به دست آمد و پس از آن به ترتیب کودهای بیوفسفر و مایکوریزا قرار داشتند (جدول 2). اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی حاکی از آن بود که بیشترین درصد اسانس (0/413 درصد) از گیاهان تحت کشت کود زیستی نیتروکسین و آبیاری با 70 درصد ظرفیت زراعی و کمترین مقدار آن (0/203 درصد) از گیاهان تحت کشت کود زیستی مایکوریزا و آبیاری با 90 درصد ظرفیت زراعی به دست آمد (جدول 3). تحقیقات نشان داده است که CO<sub>2</sub> 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 نیترژن 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 (Abdelaziz et al., 2001). عبدالعزیز و همکاران (Sangwan et al., 2007) در رزماری و قریب و همکاران (Gharib et al., 2008) در مرزنجوش (*Origanum Majorana* L.) افزایش مقدار اسانس در اثر تلقیح با/زئوباکتر و باسیلوس را ناشی از افزایش تعداد غده‌های ترش‌چی و بیوسنتز مونوترپن‌ها بیان کردند. علاوه بر این، به دلیل این-که تیمول جزو ترکیبات فلاونوئیدی می‌باشد، تجمع مواد فنلی حساس به تنش عناصر غذایی بوده و میزان کل فنل با کاهش میزان نیترژن محیط افزایش می‌یابد. بنابراین مقادیر اضافی نیترژن معمولاً رشد را تحریک نموده و از تولید فنل جلوگیری می‌کند (Omidbaygi & Nobakht, 2001) ولی چون اسانس‌ها از گروه مواد شیمیایی ترپن‌ها بوده و یا منشأ ترپنی دارند و واحدهای سازنده ترپن‌ها از جمله ایزوپنتیل پیروفسفات (IPP) و دی‌متیل آلیل پیروفسفات (DMAPP) نیاز مبرم به ATP و NADPH دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر نیترژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های فوق ضروری می‌باشد، بنابراین باکتری‌های حل‌کننده فسفات و تثبیت‌کننده

نیتروکسین، بیوفسفر و مایکوریزا به ترتیب 71/32، 50/68 و 47/71 درصد را به خود اختصاص داده بود، تولید نمود که این اثر با کاهش پارا-سیمن که برای کود نیتروکسین، بیوفسفر و مایکوریزا به ترتیب 25/72، 26/78 و 28/29 درصد را به خود اختصاص داده بود، همراه بود. کارواکرول بیشترین درصد (2/10 درصد) را در گیاهان تحت کشت کود زیستی مایکوریزا و آبیاری با 30 درصد ظرفیت زراعی به خود اختصاص داده بود. این تیمار همچنین بیشترین درصد آلفا-هومولن (2/74 درصد)، جرماکرن D (1/56 درصد) و توریول (1/05 درصد) را نیز شامل شد. هیدروکربن‌های مونوترپنتی آلفا-پینن (3/46 درصد)، میرسن (3/91 درصد) و گاما-ترپینن (5/70 درصد) در گیاهان تحت کشت تیمار نیتروکسین و تنش خشکی 70 درصد ظرفیت زراعی و هیدروکربن‌های مونوترپنتی پارا-سیمن در گیاهان تحت کشت تیمار مایکوریزا و 90 درصد ظرفیت زراعی بیشترین مقدار را شامل شدند. با در نظر گرفتن ارتباط بین ترکیب فنلی تیمول و مشتق هیدروکربنی پارا-سیمن در شرایط تنش خشکی، رابطه معکوسی بین این دو ترکیب مشاهده گشت. در تیمارهای کودی با افزایش تنش خشکی درصد تیمول برای جبران پارا-سیمن افزایش یافت. این بدین معنی است که نرخ تبدیل پاراسیمن به ترکیب فنلی تیمول در شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد. این یافته، این نتیجه‌گیری را که ترکیبات فنلی در شرایط تنش افزایش می‌یابند، را تأیید می‌نماید. این یافته در توافق با یافته‌های بابایی و همکاران (Babae et al., 2010) در آویشن، استرادا و همکاران (Estrada et al., 1999) در فلفل (Capsicum annum L.)، عمر (Omer, 1998) در مرزنجوش و عمر و همکاران (Omer et al., 1994) در مرزنجوش شیرین (Majorana hortensis L.) بود.

نتایج حاصل نشان داد که محتوای دارویی ترکیبات مطلوب با دستکاری تکنیک‌های زراعی از جمله آبیاری (تنش آبی) و کوددهی امکان‌پذیر می‌باشد. در کودهای زیستی متفاوت مورد استفاده با افزایش تنش خشکی، آبیاری با 70 درصد ظرفیت زراعی بیشترین ترکیبات فنلی آویشن (تیمول) به عنوان مهم‌ترین ترکیبات آن را حاصل نمود. عوامل متعددی ممکن است سطوح مواد گیاهی اساسی فعال را در طول جمع‌آوری، فرآوری و نگهداری تحت تأثیر قرار دهند. در واقع تنش‌های زیستی و غیرزیستی اثر قابل ملاحظه‌ای بر سطوح متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارند (Dixon & Paiva, 1995).

مراحل اولیه‌ای رشد مانند ریشه‌دوانی، جوانه‌زنی و سبز شدن مفید واقع شود (Nagananda et al., 2010). در تحقیقی کاربرد باسیلوس روی گیاه ریحان سبب افزایش عملکرد اسانس و زیست‌توده شد و میزان اسانس گیاه را دو برابر افزایش داد (Banchio et al., 2009). با توجه به نتایج مصرف کودهای زیستی با بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه در شرایط تنش کم‌آبیاری می‌توانند نقش مفیدی در جهت کاهش خسارت‌های شرایط تنش‌زا داشته باشند و مهم‌تر آن‌که، جایگزینی کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی، نوید بخش کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی در آینده می‌باشد.

### ترکیب اسانس

سطوح مختلف کود زیستی و تنش خشکی موجب تغییر (افزایش و کاهش) اسانس گیاه آویشن شدند (جدول 4). ترکیبات فنلی مهم‌ترین ترکیبات معطر گیاه آویشن بودند. مهم‌ترین ترکیبات فنلی تیمول (39/49 تا 71/32 درصد) و کارواکرول (0/09 تا 2/10 درصد) بودند و پس از آن هیدروکربن‌های مونوترپنتی پارا-سیمن (24/62 تا 34/93 درصد)، گاما-ترپینن (1/36 تا 5/70 درصد)، میرسن (2/74 تا 3/91 درصد) و آلفا-پینن (1/61 تا 3/46 درصد) قرار داشتند. در بین ترکیبات الکلی مونوترپنی، لینالول (0/15 تا 5/98 درصد) و برنئول (2/08 تا 5/84 درصد) ترکیبات غالب بودند. ترانس کاریوفیلن (0/00 تا 1/94 درصد)، جرماکرن D (0/21 تا 1/56 درصد)، گاماکادینن (0/00 تا 0/40 درصد) مهم‌ترین ترکیبات سزکویی‌ترپنی<sup>1</sup> اسانس بودند. در بین ترپن‌های اکسیژنه شده، اکسید کاریوفیلن فراوان‌ترین ترکیب (0/00 تا 0/29 درصد) بود. این نتایج در توافق با نتایج گزارش شده توسط بارانائوسکین و همکاران (Baranauskienė et al., 2003) بود. این محققین بیان نمودند که مهم‌ترین ترکیبات اسانس آویشن تیمول (44/4 تا 58/1 درصد)، پارا-سیمن (9/1 تا 28/5 درصد)، گاما-ترپینن (6/9 تا 18/9 درصد) و کارواکرول (2/4 تا 4/2 درصد) می‌باشند. اوزکان و چالچار (Ozcan & Chalchar, 2004) دریافتند که اسانس آویشن اساساً متشکل از تیمول (46/2 درصد)، گاما-ترپینن (14/1 درصد)، پارا-سیمن (9/9 درصد)، لینالول (4/0 درصد)، میرسن (3/5 درصد)، آلفا-پینن (3/0 درصد) و آلفا-توجن (2/8 درصد) می‌باشد. تیمار آبیاری با 70 درصد ظرفیت زراعی بیشترین ترکیبات اصلی اسانس از جمله تیمول که در کود زیستی

جدول 4- اثر تنش خشکی و کود زیستی بر ترکیبات اساسی آویشن

Table 4- Effect of drought stress and biofertilizer on essential oil constituents of thyme

| ترکیبات اساسی<br>Essential oil constituents | ۹۰ درصد ظرفیت زراعی<br>90% field capacity |                       |                          | ۷۰ درصد ظرفیت زراعی<br>70% field capacity |                       |                          | ۵۰ درصد ظرفیت زراعی<br>50% field capacity |                       |                          | ۳۰ درصد ظرفیت زراعی<br>30% field capacity |                       |                          |
|---|---|-----------------------|--------------------------|---|-----------------------|--------------------------|---|-----------------------|--------------------------|---|-----------------------|--------------------------|
|   | مایکوریزا<br>Mycorrhiza                   | نیتروکسین<br>Nitroxin | بیوفسفر<br>Biophosphorus | مایکوریزا<br>Mycorrhiza                   | نیتروکسین<br>Nitroxin | بیوفسفر<br>Biophosphorus | مایکوریزا<br>Mycorrhiza                   | نیتروکسین<br>Nitroxin | بیوفسفر<br>Biophosphorus | مایکوریزا<br>Mycorrhiza                   | نیتروکسین<br>Nitroxin | بیوفسفر<br>Biophosphorus |
| آلفا-پینین<br>α-Pinene                      | 2.62                                      | 2.78                  | 2.74                     | 2.96                                      | 3.46                  | 2.23                     | 1.81                                      | 2.83                  | 2.06                     | 2.39                                      | 1.69                  |                          |
| میوسین<br>Myrcen                            | 3.25                                      | 0.59                  | 3.48                     | 3.20                                      | 3.91                  | 3.15                     | 2.74                                      | 3.28                  | 3.12                     | 2.84                                      | 2.94                  |                          |
| پاراسیمین<br>p-Cymene                       | 34.93                                     | 24.62                 | 26.78                    | 28.29                                     | 25.72                 | 32.65                    | 30.84                                     | 27.55                 | 33.36                    | 32.77                                     | 31.13                 |                          |
| گاما-ترپینین<br>γ-Terpinene                 | 2.88                                      | 2.23                  | 4.12                     | 2.47                                      | 5.70                  | 2.73                     | 5.39                                      | 4.64                  | 1.36                     | 1.98                                      | 2.71                  |                          |
| لینالول<br>Linalool                         | 2.81                                      | 2.74                  | 2.38                     | 2.78                                      | 0.15                  | 2.60                     | 3.03                                      | 2.34                  | 5.98                     | 4.38                                      | 2.13                  |                          |
| کامفور<br>Comphor                           | 0.41                                      | 0.56                  | 0.53                     | 0.43                                      | 2.64                  | 0.40                     | 0.55                                      | 0.33                  | 1.09                     | 1.01                                      | 0.39                  |                          |
| برنول<br>Borneol                            | 3.92                                      | 4.35                  | 4.13                     | 4.34                                      | 3.59                  | 3.52                     | 4.08                                      | 4.01                  | 2.08                     | 5.84                                      | 4.0                   |                          |
| ترپینول<br>Terpineol                        | 2.26                                      | 1.89                  | 1.64                     | 2.05                                      | 2.54                  | 3.24                     | 1.63                                      | 2.47                  | 0.59                     | 0.60                                      | 1.81                  |                          |
| تیمول<br>Thymol                             | 39.49                                     | 47.87                 | 50.68                    | 47.71                                     | 71.32                 | 40.35                    | 44.20                                     | 45.94                 | 39.87                    | 42.15                                     | 44.24                 |                          |
| کارواکرول<br>Carvacrol                      | 1.00                                      | 1.15                  | 0.21                     | 0.85                                      | 0.15                  | 0.24                     | 0.18                                      | 0.22                  | 2.10                     | 0.23                                      | 0.09                  |                          |
| تا بوریونول<br>β-Bourb onene                | 0.46                                      | 0.23                  | 0.04                     | 0.36                                      | 0.04                  | 0.02                     | 0.03                                      | 0.04                  | -                        | 0.07                                      | 0.03                  |                          |
| ترانس کاروفیلین<br>Trans-caryophyllene      | 1.94                                      | 0.57                  | -                        | 0.50                                      | 0.39                  | 0.23                     | 0.32                                      | 0.47                  | 0.70                     | 0.60                                      | 0.34                  |                          |
| آلفا-هومون<br>α-Hemulene                    | 0.34                                      | 1.29                  | -                        | 1.33                                      | -                     | -                        | -   | -                     | 2.74                     | 1.58                                      | 1.56                  |                          |
| کادینین<br>Cadinene                         | 0.87                                      | 0.27                  | 1.80                     | 0.31                                      | 1.12                  | 2.12                     | 0.09                                      | 1.97                  | 0.52                     | 0.37                                      | 0.46                  |                          |
| جرمانول D<br>Germacone D                    | 0.42                                      | 0.75                  | 0.26                     | 0.65                                      | 0.24                  | 0.32                     | 0.34                                      | 0.77                  | 1.56                     | 0.37                                      | 0.81                  |                          |
| تورنول<br>Torreyol                          | 0.10                                      | 0.14                  | 0.36                     | 0.07                                      | 0.48                  | 0.78                     | 0.42                                      | 0.23                  | 1.05                     | 0.21                                      | 0.22                  |                          |
| گاما کادینین<br>γ-Cadinene                  | 0.16                                      | 0.06                  | 0.12                     | 0.17                                      | 0.11                  | 0.40                     | 0.33                                      | 0.31                  | -                        | 0.08                                      | -                     |                          |
| اکسید کاروفیلین<br>Caryophyllen oxid        | 0.27                                      | 0.11                  | 0.13                     | 0.24                                      | 0.14                  | 0.16                     | 0.11                                      | 0.15                  | -                        | 0.29                                      | 0.19                  |                          |
| کاروتل<br>Carotol                           | 0.13                                      | 0.10                  | 0.25                     | 0.10                                      | 0.16                  | 0.34                     | 0.25                                      | 0.27                  | -                        | 0.31                                      | 0.31                  |                          |

جدول 5- ضرایب همبستگی ساده بین صفات مربوط به عملکرد کمی و کیفی آویشن تحت تنش خشکی و کود زیستی  
Table 5- Simple correlations of quantitative and qualitative yield-related traits of thyme under drought stress and biofertilizer

| صفات<br>Traits  | ارتفاع بوته (سانتی متر)<br>Plant height (cm) | وزن تر (گرم در بوته)<br>Fresh weight (g.plant <sup>-1</sup> ) | وزن خشک (گرم در بوته)<br>Dry weight (g.plant <sup>-1</sup> ) | درصد اسانس (درصد)<br>Essential oil (%) |
|---|--|---|--|--|
| وزن تر (گرم در بوته)<br>Fresh weight (g.plant <sup>-1</sup> )                     | 0.84**                                       |   |  |  |
| وزن خشک (گرم در بوته)<br>Dry weight (g.plant <sup>-1</sup> )                      | 0.86**                                       | 0.89**  |  |  |
| درصد اسانس (درصد)<br>Essential oil (%)  | 0.08 <sup>ns</sup>                           | 0.07 <sup>ns</sup>  | 0.19 <sup>ns</sup>   |  |
| عملکرد اسانس (میلی لیتر در بوته)<br>Essential oil yield (ml.plant <sup>-1</sup> ) | 0.76**                                       | 0.93**  | 0.88**   | 0.38*                                  |

\*, \*\*, \*ns: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و غیر معنی دار  
\*, \*\* and ns: are significant at 0.05 and 0.01 probability levels, and non significant respectively.

جدول 6- رگرسیون گام به گام عملکرد اسانس و اجزای آن در آویشن تحت تنش خشکی و کود زیستی  
Table 6- Stepwise regression of essential oil yield of thyme under drought stress and biofertilizer

| مدل<br>Model   | R <sup>2</sup> | C (p)  | F        |
|--|----------------|--------|----------|
| Essential oil yield = 0.00508 + 0.00332 Fresh weight                         | 0.87           | 213.55 | 307.51** |
| Essential oil yield = 0.15424 + 0.00324 Fresh weight + 0.48764 Essential oil | 0.98           | 6.50   | 193.63** |

\*\* : معنی دار در سطح احتمال یک درصد  
\*\* : significant at 0.01 probability level

های به نژادی، برای افزایش عملکرد اهمیت زیادی دارد، زیرا انتخاب یک طرفه صفات بدون در نظر گرفتن صفات دیگر، نتایج نامطلوبی را در پی خواهد داشت. نتایج حاصل از همبستگی بین صفات حاکی از آن بود که بیشترین همبستگی بین وزن تر سرشاخه‌های گلدار و عملکرد اسانس (0/93) وجود داشت (جدول 5). همبستگی وزن تر سرشاخه‌های گلدار با وزن خشک آن (0/89) و ارتفاع بوته (0/84) و همبستگی وزن خشک سرشاخه‌های گلدار با ارتفاع بوته (0/86) بسیار قوی، مثبت و معنی دار بود (جدول 5). لذا با افزایش وزن خشک سرشاخه‌های گلدار و ارتفاع بوته وزن تر آن اضافه می‌گردد. همبستگی عملکرد اسانس با ارتفاع بوته (0/76)، وزن تر و خشک سرشاخه‌های گلدار (به ترتیب 0/93 و 0/88) بسیار قوی، مثبت و معنی دار بود (جدول 5). همبستگی عملکرد اسانس با درصد اسانس ضعیف و معنی دار (0/38) بود (جدول 5). نتایج حاصل از رگرسیون بین صفات مبین این بود که وزن تر بوته به تنهایی حدود 87 درصد از تغییرات عملکرد اسانس و درصد اسانس فقط 11 درصد از تغییرات آن را توجیه می‌نماید (جدول 6). بنابراین مهم‌ترین جزء تعیین کننده عملکرد اسانس در آویشن، وزن تر سرشاخه‌های گلدار آن می‌باشد که خود نیز متأثر از وزن خشک سرشاخه‌های گلدار و ارتفاع بوته می‌باشد.

تنش خشکی بیوستنز ایزوپنتنیل پیروفسفات، پیش ماده اولیه ترین‌ها، را در گیاهان القا می‌نماید. (Turtola et al., 2003; Milborrow, 2001). ایزومرهای ایزوپنتنیل دی فسفات مسئول ایزومریزاسیون ایزوپنتنیل دی فسفات به دی متیل آلایل دی فسفات برای ساخت واحد ایزوپرن، ترکیب اساسی برای ساخت کلیه ترین‌ها، می‌باشند. آبرو و مزافرا (Abreu & Mazzafera, 2007) نشان دادند که کمبود آب محتوای ترکیبات اساسی علف چای (Hypericum brasiliense L. را تحت تأثیر قرار می‌دهد و ممکن است از طریق تخصیص مجدد کربن جذب شده موجب کاهش تدریجی رشد گیاه و افزایش متابولیت‌های ثانویه گردد. ارتباط فیزیولوژیک این پدیده از لحاظ هزینه رقابت ناشناخته است. اگر چه برای ترکیبات فنلی با ظرفیت آنتی اکسیدانی این پدیده ممکن است با مکانیزم مقابله با اثرات زیان آور گونه‌های فعال اکسیژن<sup>1</sup> (ROS) در ارتباط باشد (Kirakosyan et al., 2004).

#### همبستگی و رگرسیون

اطلاع از چگونگی ارتباط بین صفات مختلف در پیشرفت برنامه -

1- Reactive oxygen speices

## نتیجه‌گیری

خشکی افزایش یافت. کود زیستی نیتروکسین نسبت به سایر کودها توانست تنش خشکی را بهتر تعدیل نماید و موجب بهبود رشد، عملکرد، درصد اسانس و ترکیب فنلی تیمول آویشن شود. بنابراین، به نظر می‌رسد که در راستای نیل به اهداف کشاورزی پایدار به جای کودهای شیمیایی قابل توصیه باشد.

افزایش محتوای ترکیبات دارویی مطلوب آویشن با دست‌ورزی تکنیک‌های زراعی امکان‌پذیر می‌باشد. افزایش تنش خشکی تا 70 درصد ظرفیت زراعی موجب افزایش ترکیبات فنلی مهم مثل تیمول گردید که در کود زیستی نیتروکسین 71/32 به دست آمد. نرخ تبدیل ترکیب هیدروکربنی پارا-سیمن به ترکیب فنلی تیمول در شرایط تنش

## 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.
- Abdul-Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R., and Panneerselvam, R. 2007. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 60: 7-11.
- Abreu, I.N., and Mazzafera, P. 2007. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiology and Biochemistry* 43: 241-248.
- Adams, R.P. 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. Allured, USA.
- Alkire, B.H., Simon, J.E., Palevitch, D., and Putievsky, E. 1993. Water management for Midwestern peppermint (*Mentha piperita* L.) growing in highly organic soil. Indiana, USA. *Acta Horticulture* 344: 544-556.
- Babae, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S.A.M., and Jabbari, R. 2010. Water deficit effect on morphology, proline content and thymol percentage of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 26(2): 239-251. (In Persian with English Summary)
- Banchio, E., Xie, X., Zhang, H., and Pare, P.W. 2009. Soil bacteria elevate essential oil accumulation and emissions in sweet basil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 653-657.
- Baranauskienė, R., Venskutonis, P.R., Viskeki, P., and Dambrauskienė, E. 2003. Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51(26): 7751-7758.
- Barnes, J., Anderson, L.A., and Phillipson, J.D. 2002. Herbal Medicines. A Guide for Healthcare Professionals, Second Edition, London: Pharmaceutical Press.
- Cardoso, I.M., and Kuyper, T.W. 2006. Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 116: 72-84.
- 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 16-20. Thailand p. 11.
- Coronic, G., Hashghaie, J.G., Genty, B., and Briantais, J.M. 1992. Leaf photosynthesis is resistant to a mild drought stress. *Photosynthetica* 27: 295-300.
- Dapkevicius, A., Van Beek, T.A., Lelyveld, G.P., Veldhuizen, A., Groot, A., Linssen, J.P.H., and Venskutonis, R. 2002. Isolation and structure elucidation of radical scavengers from *Thymus vulgaris* leaves. *Journal of Natural Production* 65: 892-896.
- Darzi, M.T., Ghalavand, A., Sepidkan, F., and Rejali, F. 2008. Effect of mycorrhiza, vermicompost and biological phosphate fertilizer on the quality and quantity of essential oil of fennel. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 24: 396-413. (In Persian with English Summary)
- Davis, P.H. 1982. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. University Press, Edinburgh 7: 320-354.
- Demir, S. 2004. Influence of Arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology* 28: 85-90.

- Dixon, R.A., and Paiva, N. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant, Cell and Environment* 7: 1085-1097.
- Erkossa, T., Stahr, K., and Tabor, G. 2002. Integration of organic and inorganic fertilizers: effect on vegetable productivity. Ethiopian Agricultural Research Organization, Debre Zeit Agricultural Research Centre, Ethiopia 82: 247-256.
- Estrada, B., Pomar, F., Do, A., Az, J., Merino, F., and Bernal, M.A. 1999. Pungency level in fruits of the Padron pepper with different water supply. *Scientia Horticulturae* 81: 385-396.
- Farooqi, A.H.A., Fatima, S., Ansari, S.R., and Sharma, S. 1999. Effect of water stress on growth and essential oil metabolism in *Cymbopogon martini* (plamerosa) cultivars. *Journal of Essential Oil Research* 11: 491-496.
- 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.
- Gigord, L., Lavigne, C., Shykoff, J.A., and Atlan, A. 1999. Evidence for effects of restorer genes on male and female reproductive functions of hermaphrodites in the gynodioecious species *T. vulgaris* L. *Journal of Evolutionary Biology* 12(3): 596-604.
- Glick, B.R., Penrose, D.M., and Li, J. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology* 190: 3-68.
- Gliessman, S.R. 1998. *Agroecology: Ecological Processes in Sustainable Agriculture*. CRC Press.
- Gutierrez-Manero, F.J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehouchi, J., Tadeo, F.R., and Talon, M. 2001. The plant-growth promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus 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 enzyme in sunflower subjected to drought stress. 4<sup>th</sup> international Crop science Congress, Brishbane, Australia, 26 Septamber 1-October p. 1-4.
- Han, H.S., and Lee, K.D. 2006. Effect of inoculation with phosphate and potassium co-insolubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant, Soil and Environment* 52: 130-136.
- Han, H.S., Supanjani, D., and Lee, K.D. 2006. Effect of coin coculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant, Soil and Environment* 52: 130-36.
- Haupt-Herting, S., and Fock, H.P. 2000. Exchange of oxygen and its role in energy dissipation during drought stress in tomato plants. *Physiologia Plantarum* 110: 489-495.
- Janssen, A.M., Scheffer, J.J.C., and Baerheim Svendsen, A. 1987. Antimicrobial activity of essential oils. A 1976-1986, literature review. *Planta Medica* 53(5): 395-397.
- Jellin, J.M., Batz, F., and Hitchens, K. 2000. *Natural Medicines Comprehensive database*. California: Therapeutic Research Faculty.
- Joshee, N., Mentreddy, S.R., and Yadav, K. 2007. Mycorrhizal fungi and growth and development of micropropagated *Scutellaria integrifolia* plants. *Industrial Crops and Products* 25: 169-177.
- Kader, M.A. 2002. Effects of *Azotobacter* inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. *Journal of Biological Sciences* 2: 259-261.
- Kalamian, S., Modares Sanavi, S.A.M., and Sepehri, A. 2006. Effect of water deficit at vegetative and reproductive growth stages in leafy and commercial hybrids of maize. *Agricultural Research* 5(3): 38-53.
- 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.
- Karthykeyan, B., Abdul Jaleel, C., Lakshmanan, G.M.A., and Deiveekasundaram, M. 2008. Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 62(1): 143-145.
- Khorramdel, S., Koocheki, S., Nassiri Mahallati, M., and Ghorbani, R. 2008. Application of biological fertilizers on growth indices of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Iranian Journal of Field Crops Researc* 2: 294-285. (In Persian with English Summary)
- Koocheki, A., Shabahng, J., Khorramdel, S., and Nadjafi, F. 2015. Effects of mycorrhiza inoculation and different irrigation levels on yield, yield components and essential oil contents of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and ajwain

- (*Trachyspermum ammi* L.). Journal of Agroecology 7(1): 20-37. (In Persian with English Summary)
- Kirakosyan, A., Kaufman, P., Warber, S., Zick, S., Aaronson, K., and Bolling, S. 2004. Applied environmental stresses to enhance the levels of polyphenolics in leaves of hawthorn plants. *Physiology Plantarum* 121: 182-186.
- Kusaka, M., Lalusin, A.G., and Fujimura, T. 2005. The maintenance of growth and turgor in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L. Leeke) cultivars with different root structures and osmo-regulation under drought stress. *Plant Science* 168: 1-14.
- 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 Applied Research* 2: 773-779.
- Letchamo, W., and Gasselín, A. 1996. Transpiration, essential oil glands, epicuticular wax and morphology of *Thymus vulgaris* are influenced by light intensity and water supply. *Journal of Horticultural Science* 71(1): 123-134.
- Letchamo, W., Marquard, R., Holz, J., and Gosselin, A. 1994. Effects of water supply and light intensity on growth and essential oil of two *Thymus vulgaris* selections. *Angewandte Botanik* 68: 83-88.
- Leung, A.Y., and Foster, S. 1996. *Encyclopedia of Common Natural Ingredients: Used in Food, Drugs and Cosmetics*. A Wiley Interscience Publication- John Wiley and Sons, Inc.
- 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.
- Migahed, H.A., Ahmed, A.E., and Abd El-Ghany, B.F. 2004. Effect of different bacterial strains as biofertilizer agents on growth, production and oil of *Apium graveolense* under Calcareous soil. *Journal of Agricultural Sciences* 12: 511-525.
- Milborrow, B.V. 2001. The pathway of biosynthesis of abscisic acid in *Vascular plants*: a review of the present state of knowledge of ABA biosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 52: 1145-1164.
- Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Annual Review of Plant Science* 7: 405-415.
- 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.
- Muni Ram, D., and Singh, S. 1995. Irrigation and nitrogen requirements of Bergamot min on a sandy loam soil under sub-tropical conditions. *Agricultural water management* 27: 45-54.
- Nagananda, G.S., Das, A., Bhattacharya, S., and Kalpana, T. 2010. In vitro studies on the effects of biofertilizers (*Azotobacter* and *Rhizobium*) on seed germination and development of *Trigonella foenum-graecum* L. using a novel glass marble containing liquid medium. *International Journal of Botany* 6: 394-403.
- Nickavar, B., Mojab, F., and Dolat Abadi, R. 2005. Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry* 90(4): 609-611.
- Nogues, S., and Baker, N.R. 2000. Effect of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. *Journal of Experimental Botany* 51: 1309-1317.
- Omer, E.A. 1998. Response of wild Egyptian oregano to nitrogen fertilization in sandy soil. *Egyptian Journal of Horticulture* 25(3): 295-307.
- Omer, E.A., Ouda, H.E., and Ahmad, S.S. 1994. Cultivation of sweet marjoram, *Majorana hortenses* in newly reclaimed lands of Egyptian Journal Herbs Spices Medicinal Plants 2(2): 9-16.
- Omidbaygi, R., Hassani, A., and Sefidkon, F. 2003. Essential oil content and composition of sweet Basil (*Ocimum basilicum*) at different irrigation regimes. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 6: 104-108.
- 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.
- Ozcan, M., and Chalchat, J.C. 2004. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. *Buletin of Plant physiology* 30(3-4): 68-73.
- Pal, K.K., Tilak, V.B.R., Saxena, A.K., Dey, R., and Singh, C.S. 2001. Suppression of maize root diseases caused by *Macrophomia phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminearum* caused by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research* 156: 209-223.
- Rademacher, W. 1994. Gibberellin formation in microorganisms. *Plant Growth Regulation* 15: 303-314.
- Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N., and Gautam, S.P. 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martini* var. Motia by rhizobacteria, AMF and *Azospirillum* inoculation. *Microbiology Research* 156: 145-149.
- Refaat, A.M., and Saleh, M.M. 1997. The combined effect of irrigation intervals and foliar nutrition on sweet basil



- plants. Bulletin of Faculty of Agriculture University of Cairo 48: 515-527.
- Rezapour, A.R., Heidari, M., Galavi, M., and Ramrodi, M. 2011. Effect of water stress and different amounts of sulfur fertilizer on grain yield, grain yield components and osmotic adjustment in *Nigella sativa* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 3: 384-396. (In Persian with English Summary)
- Rustaiyan, A., Masoudi, S., Monfared, A., Kamalinejad, M., Lajevardi, T., Sedaghat, S., and Yari, M. 2000. Volatile constituents of three *Thymus* species grown wild in Iran. Planta medica 66: 197-198.
- Sailo, G.L., and Bagyaraj, D.J. 2005. Influence of different AM-fungi on the growth, nutrition and forskolin content of *Coleus forskohlii*. Mycological Research 109: 795-798.
- 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.
- 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.
- Shabahang, J., Khorramdel, S., Siahmargue, A., Gheshm, R., and Jafari, L. 2014. Evaluation of integrated management of organic manure application and mycorrhiza inoculation on growth criteria, qualitative and essential oil yield of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) under Mashhad climatic conditions. Journal of Agroecology 6(2): 353-363. (In Persian with English Summary)
- Sharma, A.K. 2002. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios, India.
- Simon, J.E., Bubenheim, R.D., Joly, R.J., and Chries, D.J. 1992. Water stress induced alternations in essential oil content and composition of sweet basil. Journal of Essential Oil Research 4: 71-75.
- Solinas, V., and Deiana, S. 1996. Effect of water and nutritional conditions on the *Rosmarinus officinalis* L. phenolic fraction and essential oil yields. Italian Eppos 19: 189-198.
- Sreevalli, Y., Baskaran, K., Chandrashekara, R., Kuikkarni, R., and et al. 2001. Preliminary observations on the effect of irrigation frequency and genotypes on yield and alkaloid concentration in petriwinkle. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science 22: 356-358.
- Tilak, K.V.B.R., Ranganayaki, N., Pal, K.K., De, R., Saxena, A.K., Shekhar Nautiyal, C., Mittal, S., Tripathi, A.K., and Johri, B.N. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. Current Science 89: 136-150.
- 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.
- Turtola, S., Manninen, A.M., Rikalaand, R., and Kainulainen, P. 2003. Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings. Journal Chemistry Ecology 29: 1981-1955.
- Vinutha, T. 2005. Biochemical Studies on *Ocimum* sp. Inoculated with Microbial Inoculants. MSc (Agriculture) thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India.
- Vital, W.M., Teixeira, N.T., Shighihara, R., and Dias, A.F.M. 2002. Organic manuring with pig biosolids with applications of foliar biofertilizers in the cultivation of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Ecosystema 27: 69-70.
- Wang, W., Vinocur, B., and Altman, M.A. 2003. Plant responses to drought towards genetic engineering for stress tolerance. Planta 218: 1-14.
- Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C., and Wong, M.H. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma 125: 155-166.
- Xia, L., Yang, W., and Xiufengl, Y. 2007. Effects of water stress on berberine, jatrorrhizine and palmatine contents in amur corktree seedlings. Acta Ecologica Sinica 27(1): 58-64.
- Young, C.C., Lai, W.A., Shen, F.T., Huang, W.S., and Arun, A.B. 2004. Characterization of multifunctional biofertilizer from Taiwan and biosafety considerations. International Symposium on Future Development of Agricultural Biotechnology Park p. 373-388.
- Youssef, A.A., Edri, A.E., and Gomaa, A.M. 2004. A comparative study between some plant growth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of *Salvia officinalis* L. Plant Annals of Agricultural Science 49: 299-311.
- Zahir, A.Z., Arshad, M., and Frankenberger, W.F. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria. Advances in Agronomy 81: 97-168.