اثر کاربرد ترکیبات کودی-زیستی و شیمیایی بر شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

مهدی پارسا[1*]، بهناز یوسفی[2] و رضا کمائی[2]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱/۳۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۲/۲۲)

چکیده

به‌منظور بررسی اثر رژیم‌های مختلف آبیاری و ترکیبات مختلف کودی بر برخی از صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با ۳ تکرار در سال زراعی ۹۷-۹۶، در گلخانه پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. فاکتورها شامل سطوح مختلف رژیم‌های آبیاری در سه سطح ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد گنجایش گلدانی (CC) و ۶ نوع کودهای مختلف زیستی و شیمیایی شامل: ۱- کود زیستی باکتریایی ترکیبی (NPP) (نیتروباکتر دایان (ریزجانداران تثبیت کننده نیتروژن) + فسفوپاورباکتر دایان (باکتری‌های حل کننده فسفات) + پتاپاورباکتر دایان (ریزجانداران حل‌کننده پتاسیم))، ۲- کود شیمیایی NPK (۲۰-۲۰-۲۰)، ۳- ترکیب کود زیستی باکتریایی ترکیبی و کود شیمیایی NPK (NPP+NPK)، ۴- کودهای ریزمغذی (به‌صورت محلول شامل آهن، منگنز، روی، مس، بر، مولیبدات، کبالت، سیلیسیوم، سولفور و ویتامین‌ها) (MIC)، ۵- ترکیب کود ریزمغذی و کودهای اسید آمینه (MIC+AP) و ۶- شاهد بود. نتایج نشان داد که اثر برهم‌کنش رژیم آبیاری و کودهای مختلف زیستی بر سطح برگ، ارتفاع، تعداد شاخه و هدایت روزنه‌ای در سطح یک درصد و محتوای نسبی آب برگ (RWC) در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. همچنین، آثار اصلی رژیم‌های آبیاری و انواع مختلف کودی بر شاخص‌های وزن خشک، نشت الکترولیت، قرائت SPAD (درجه سبزینگی) و درصد اسانس در سطح یک درصد معنی‌دار بود، اما اثر برهم‌کنش آنها معنی‌دار نشد. نتایج این پژوهش نشان داد استفاده از کودهای ترکیبی زیستی باکتریایی و شیمیایی در گنجایش گلدانی ۱۰۰ درصد باعث افزایش شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک شد. بر اساس نتایج این پژوهش، اگر چه کاهش میزان آب مصرفی و به دنبال آن بروز تنش خشکی تأثیر منفی بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه نعناع فلفلی داشت، اما مصرف کود زیستی باکتریایی همراه با کود شیمیایی تا حدی باعث تعدیل آثار سوء تنش خشکی بر شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک این گیاه شد.

واژه‌های کلیدی: نشت الکترولیت، عدد SPAD یا سبزینگی، هدایت روزنه‌ای، محتوای نسبی آب، نعناع فلفلی

مقدمه

خشکی یکی از شایع‌ترین تنش‌های محیطی است که با محدود کردن رشد و نمو گیاه، تولید موفقیت‌آمیز محصولات کشاورزی را به‌طور مشخص در اقلیم‌های خشک و نیمه‌خشک

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد
۲. گروه فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد
*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: parsa@ferdowsi.um.ac.ir

کره زمین، به مخاطره می‌اندازد (۲۸). در گیاهان، پاسخ به تنش‌های محیطی در تمام سطوح رخ می‌دهد که شامل پاسخ‌های سلولی، تغییر متابولیسم و تغییر در سطح مولکولی است (۴۰). کمبود رطوبت، گیاه را وادار به واکنش‌های مختلف مرفولوژیک مانند کاهش سطح برگ، خزان زودرس، کاهش اندام هوایی، و افزایش رشد ریشه کرده، و باعث تغییرات در ویژگی‌های فیزیولوژیک و متابولیک مانند بسته‌شدن روزنه‌ها، کاهش سرعت رشد گیاه، تجمع آنتی‌اکسیدانت و مواد محلول می‌شود. از نقطه نظر زراعی، تنش خشکی شرایطی است که آب از نظر مقدار و توزیع به اندازه‌ای نیست تا گیاه بتواند عملکرد بالقوه خود را تولید کند و این پدیده موجب آسیب به گیاه و محدودیت در بروز پتانسیل ژنتیکی عملکرد می‌شود (۴). واکنش و هماهنگی با تنش، به مدت و شدت تنش و مرحله رشد و نمو گیاه مرتبط است. از این‌رو افزایش توان گیاهان برای تحمل تنش‌های محیطی ناشی از کمبود آب در افزایش عملکرد مهم به نظر می‌رسد (۳۰).

از طرفی آثار تنش خشکی بر عملکرد و تغییرات مواد مؤثر گیاهان دارویی متفاوت است. به نظر می‌رسد که گیاهان دارویی واکنش‌های متفاوتی(عملکرد و مواد مؤثره تولیدی) به تنش خشکی دارند. برای درک این ویژگی‌ها (عملکرد و مواد مؤثره)، پژوهش‌های گسترده‌ای روی گیاهان با ارزش دارویی و اعمال تیمارهای مختلف لازم است (۳۰).

رویکرد روزافزون به استفاده از گیاهان دارویی در سطح جهان، اهمیت کشت و تولید این گیاهان را روشن‌تر می‌سازد. در حال حاضر تقاضا برای گیاهان دارویی به‌عنوان تولیدات قابل مصرف در صنایع بهداشتی و دارویی در حال افزایش است (۵۰). نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperitia* L. متعلق به خانواده Lamiaceae است. این گیاه گونه‌ای هیبرید است و از تلاقی بین گونه‌های *Mentha aquatica* و *Mentha spicata* حاصل شده است. این گیاه بومی مناطق معتدله دنیا به‌ویژه اروپا، آمریکای شمالی و شمال آفریقا است، اما امروزه در سراسر دنیا کشت می‌شود (۴۲). نعناع فلفلی از جمله گیاهان دارویی و معطر است که اسانس آن مصارف دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی دارد. مهم‌ترین ماده شیمیایی نعناع فلفلی اسانس آن است (بیش از ۱/۵ درصد) که از ۲۰ نوع ماده مختلف تشکیل شده است. ترکیبات اصلی اسانس نعناع فلفلی را منتول (۳۵ تا ۵۵ درصد)، منتون (۱۰ تا ۴۰ درصد) و متیل‌استات (۱ تا ۳ درصد) تشکیل می‌دهند. مواد دیگری مانند فلاونویید و اسید فنولیک هم در این گیاه وجود دارد (۵).

از طرفی عوامل محیطی و شرایط کشت به‌ویژه نوع و میزان کود، شرایط اقلیمی و یا نوع خاک می‌تواند آثار آشکاری بر رشد، عملکرد، کیفیت و ترکیب شیمیایی گیاهان داشته باشد. یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی مؤثر بر کمّیت و کیفیت گیاهان دارویی تغذیه است. بررسی کمّیت و کیفیت کود، آثار مثبت زیادی بر اجتناب از کاربرد غیرضروری و بیش از اندازه عناصر غذایی دارد که باعث کاهش هزینه‌های تولید می‌شود و این امر می‌تواند به‌عنوان راهکاری برای کشاورزی پایدار در نظر گرفته شود (۳۵ و ۳۶).

از طرف دیگر افزایش عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی منجر به استفاده بیش از حد کودهای شیمیایی شده که به دنبال آن آلودگی‌های زیست‌محیطی جدی را ایجاد کرده است. از این‌رو استفاده از کودهای زیستی (بیولوژیک) می‌تواند در بهبود استفاده از عناصر غذایی موجود در خاک و تحریک رشد گیاهی نقش مهمی داشته و جایگزین مناسبی برای افزایش تولید با کمترین آثار مخرب زیست‌محیطی باشد (۱۸).

کودهای زیستی علاوه بر افزایش فراهمی زیستی عناصر خاک از طریق تثبیت زیستی نیتروژن، افزایش حلالیت فسفر و پتاسیم و مهار عوامل بیماری‌زا، با تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش عملکرد گیاهان زراعی می‌شوند (۴۷). در برخی موارد مشاهده شده است که حتی در سطوح و مقادیر کافی کودهای نیتروژنی، تلقیح گیاهان با عوامل زیستی موجب افزایش رشد و نمو گیاهان شده است که در این صورت احتمالاً وجود مکانیسم‌های دیگری به غیر از تثبیت نیتروژن، از جمله مواد تنظیم‌کننده رشد مانند اکسین علت افزایش رشد گیاه بوده

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

بافت خاک	شن (٪)	سیلت (٪)	رس (٪)	نیتروژن (٪)	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)	pH	رسانایی الکتریکی EC (dS/m)	OC (%)
لوم شنی	۲۸/۹	۶۰/۳	۱۰/۸	۰/۱۲	۲۰/۵	۱۳۳	۷/۹۲	۱/۲	۱/۳۰

است (۲۱). همچنین پژوهشگران در مورد تأثیر کودهای زیستی بر گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) اعلام کردند که با کاربرد کودهای زیستی تریکودرما مقدار اسانس افزایش یافته است (۱۵). رای و همکاران (۳۳) نیز گزارش کردند که طول ریشه و ساقه، وزن، اندازه سطح برگ و تولید بذر در گیاهان دارویی در حضور عوامل زیستی افزایش می‌یابد.

با فرض اینکه کودهای زیستی در شرایط تنش خشکی و عدم تنش تأثیر مثبتی بر گیاه نعناع فلفلی خواهند داشت، هدف این پژوهش بررسی برخی از ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک نعناع فلفلی با کاربرد ترکیبات کودی زیستی و شیمیایی تحت رژیم‌های مختلف آبیاری بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۶ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط کنترل شده در گلخانه پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. ریزوم‌های نعناع فلفلی از مزرعه پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. گلدان‌های مورد استفاده از نوع پلاستیکی، با قطر دهانه ۱۹ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و گنجایش ۵ کیلوگرم با بستر کاشت مخلوط ماسه و خاک مزرعه با نسبت حجمی ۱:۱ به وزن ۴ کیلوگرم پر شده و در هر گلدان دو عدد ریزوم کشت شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در جدول (۱) ارایه شده است. در گلخانه شرایط رشد از جمله دمای روز و شب، شدت و کیفیت نور و رطوبت نسبی در حد مطلوب حفظ شد. دماهای کمینه و بیشینه گلخانه به ترتیب برابر ۲۲ و ۳۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۸ تا ۷۹ درصد در طول این دوره حفظ شد و به‌دلیل کاشت در اوایل آذر ماه، از نور مصنوعی استفاده شد.

عوامل آزمایشی شامل رژیم آبیاری در سه سطح به‌عنوان کسری از گنجایش گلدانی (CC) ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد و کودهای مختلف زیستی و شیمیایی شامل: ۱- کود زیستی باکتریایی ترکیبی (NPP) (نیتروباکتر دایان (ریزجانداران تثبیت کننده نیتروژن) + فسفوپاورباکتر دایان (باکتری‌های حل کننده فسفات) + پتاپاورباکتر دایان (ریزجانداران حل کننده پتاسیم))، ۲- کود شیمیایی NPK (۲۰-۲۰-۲۰)، ۳- ترکیب کود زیستی باکتریایی ترکیبی و کود شیمیایی NPK (NPP+NPK)، ۴- کودهای ریزمغذی (به‌صورت محلول شامل آهن، منگنز، روی، مس، بر، مولیبدات، کبالت، سیلیسیوم، سولفور و ویتامین‌ها) (MIC)، ۵-ترکیب کود ریزمغذی و کودهای اسید آمینه (MIC+AP) و ۶- شاهد بود. مشخصات کودهای زیستی و ریزمغذی‌ها به‌ترتیب در جدول‌های (۲) و (۳) آورده شده است. مقدار مصرف کودهای زیستی باکتریایی مطابق دستور استفاده، هر کدام به‌میزان ۲ سی‌سی در لیتر مورد استفاده قرار گرفت. همچنین مقدار مصرف ریزمغذی‌ها و کود اسیدآمینه به میزان ۲ سی‌سی در لیتر بود. کودها از شرکت دانش‌بنیان خوشه‌پروران زیست‌فناور تهیه شد. همچنین به میزان ۴۰ تن در هکتار کود دامی به بستر کاشت افزوده شد. اعمال تیمارهای رژیم آبیاری بر اساس روش وزنی بود. به‌طوری که ابتدا در کف هر کدام از گلدان‌ها به مقدار مساوی سنگ‌ریزه (برای زهکشی) ریخته شد و با استفاده از ترازو با وزن یکسان خاک پر شدند (در داخل هر گلدان ۴ کیلوگرم خاک). سپس با افزودن آب، خاک هر گلدان را به درجه اشباع رسانده و به‌مدت ۴۸ ساعت روی سطح مشبک قرار داده شد تا هر گلدان پس از زهکشی آب اضافی به گنجایش گلدانی (CC) برسد. در این مرحله

جدول ۲. مشخصات کودهای زیستی مورد استفاده

نوع کود	باکتری‌های استفاده شده	تعداد باکتری در واحد حجم (سلول در میلی‌لیتر مایه تلقیح)	ترکیب شیمیایی	غلظت کودها
نیتروباکتر دایان	*Azotobacter* sp. *Azospirillum* sp. *Bacillus* sp.	10^{7}	ندارد	۲ سی‌سی در لیتر
فسفوپاورباکتر دایان	*Bacillus* sp. *Pseudomonas* sp.	10^{7}	ندارد	۲ سی‌سی در لیتر
پتاپاورباکتر دایان	*Bacillus* sp. *Pseudomonas* sp.	10^{7}	ندارد	۲ سی‌سی در لیتر

جدول ۳. مشخصات کود ریزمغذی مورد استفاده

عنصر	ppm	عنصر	ppm
آهن کلات شده	۶۰۰	روی	۱۳۶۰۰
بور	۱۴۰۰	کبالت	۶۰
منگنز	۱۳۰۰۰	سولفور	۳۲۰۰۰
مس	۳۶۰۰	سیلیسیوم	۳۱۰۰
مولیبدات	۱۳۰	ویتامین C-B6-B3-B-	۱۰۰۰۰

گلدان‌ها به‌سرعت وزن شده و خاک آنها در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت کاملاً خشک شد.

در ادامه پس از مشخص‌شدن درصد وزنی رطوبت خاک در گنجایش گلدانی، میزان رطوبت موجود در خاک برای اعمال تیمارهای رطوبتی مختلف مشخص شده تا با توزین روزانه گلدان، کسری آب محاسبه شده و مقدار آب مورد نیاز به گلدان‌ها افزوده شد. در طول دوره رشد به‌منظور دستیابی به میزان رطوبت قابل‌دسترس موجود در هر گلدان، از دستگاه TDR (Time Domain Reflectometer) مدل TDR 150با دقت ۳٪ ± استفاده شد. به این طریق که لوله دستگاه را در عمق ۱۰ سانتی‌متری خاک گلدان قرار داده و میزان رطوبت قابل‌دسترس قرائت شد. تیمارهای تنش خشکی و کودهای مختلف (تیمار کود زیستی NPP، ریزمغذی‌ها و اسیدآمینه در دو مرحله) پس از استقرار و سبزشدن و در مرحله ۴ برگی و کود شیمیایی NPK در یک مرحله و پیش از کاشت گیاه نعناع فلفلی اعمال شد.

برای بررسی ویژگی‌های فیزیولوژیک، آنزیمی و بیوشیمیایی، نمونه‌گیری از جوان‌ترین برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته در اواخر دوره رشد و حدوداً ۸۰ روز پس از اعمال تیمارهای کودی انجام شد. برای اندازه‌گیری سطح برگ (cm^2 در گلدان) از دستگاه سطح برگ‌سنج (Leaf Area Meter) استفاده شد.

برای تعیین عملکرد ماده خشک، کل بوته‌های هر گلدان برداشت شده و پس از خشک کردن در دمای ۷۲ درجه‌سلسیوس تا ثابت شدن وزن نمونه‌ها، وزن شدند. همچنین شاخص‌های مورفولوژیک شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه (در گلدان) و قطر ساقه اندازه‌گیری شد.

میزان پایداری غشاء اندام هوایی از طریق اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیتی برگ (۳۸) و با فرمول (۱) محاسبه شد:

(۱) شاخص پایداری غشاء = ۱۰۰× ((نشت ثانویه/نشت اولیه)-۱)

نشت اولیه برابر رسانایی الکتریکی (EC) پس از گذشت ۲۴ ساعت قرارگیری در آب مقطر و نشت ثانویه میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول لوله‌های آزمایش در دستگاه بن‌ماری با دمای ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۹۰ دقیقه بود.

محتوای نسبی آب برگ (RWC) در برگ‌های جوان کاملاً

توسعه یافته پس از گذشت ۲۴ ساعت قرارگیری در آب مقطر از طریق فرمول (۲) محاسبه شد (۴۵):

(۲) RWC=((وزن خشک-وزن آماس)/(وزن خشک-وزن تازه))×۱۰۰

همچنین برای اندازه‌گیری هدایت روزنه‌ای بر اساس روش ارمیرز- والجو و کلی (۳۴)، از جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه یافته یک مرحله در اوایل دوره گلدهی استفاده شد. در هر گلدان سه برگ انتخاب شده و هدایت روزنه‌ای در دو طرف این برگ‌ها با پرومتر (SC-1 Leaf Porometer, Decagon Devices, Pullman, Washington, USA) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری شاخص SPAD (درجه سبزینگی) از دستگاه SPAD-502 استفاده شد.

برای اسانس‌گیری نمونه‌ها، مقدار ۳۰ گرم از نمونه خشک و پودر شده را همراه با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون بالن دستگاه کلونجر ریخته و اسانس‌گیری انجام شد. در نهایت برای جداسازی آب از اسانس از NA_2SO_4 استفاده شد (۴۴).

تجزیه‌های آماری بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی توسط نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. مقایسه میانگین‌های هر صفت با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت. همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

سطح برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که آثار اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف و همچنین اثر برهم‌کنش آنها بر سطح برگ (cm^2 در گلدان) در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). نتایج به‌دست آمده نشان داد که آبیاری کامل (۱۰۰ درصد گنجایش گلدانی) و کود ترکیبی NPK+NPP بیشترین میانگین را به خود اختصاص داد که در مقایسه با شاهد سطح برگ را بیش از ۱/۵ برابر افزایش داد. نتایج نشان داد سطح برگ تقریباً در تمامی تیمارهای با رژیم آبیاری ۵۰ درصد گنجایش گلدانی کاهش یافته، به گونه‌ای که کمترین سطح برگ مربوط به تیمار ترکیبی ۵۰ درصد رژیم آبیاری و کود ریزمغذی بود (جدول ۶).

کمّیت و کیفیت رشد رویشی گیاه بستگی به تقسیم سلولی، بزرگ شدن سلول‌ها و تمایز دارد که تمامی آنها متأثر از تنش خشکی است (۲۵). از اولین نشانه‌های کمبود آب، کاهش فشار آماس و در نتیجه کاهش رشد و توسعه سلول به‌ویژه در ساقه و برگ‌ها است. کاهش تقسیم سلولی و بزرگ شدن سلول‌ها موجب کاهش سطح برگ و در نتیجه کاهش فتوسنتز و اجزای رشد رویشی می‌شود. همچنین کودهای زیستی با تأمین عناصر پر مصرف و کم مصرف مورد نیاز گیاه، بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک، افزایش گنجایش نگه‌داری آب و تخلخل خاک، تولید هورمون‌های گیاهی به‌وسیله باکتری‌ها و تقویت جذب و انتقال مواد معدنی، موجب رشد و نمو بیشتر گیاه می‌شوند (۱۳). دسترسی گیاه به آب و عناصر غذایی کافی (به‌ویژه نیتروژن) از طریق تأثیر بر تقسیم و بزرگ شدن سلول‌ها در افزایش رشد رویشی بسیار مؤثر است. به همین علت تیمار ترکیبی کود NPK+NPP بیشترین رشد رویشی را حاصل کرده است. با توجه به برهم‌کنش بین تیمارها، اختلاف در سطح برگ را می‌توان به تأثیر مثبت کودهای زیستی مرتبط دانست که تحت شرایط تنش، نقش تاثیرگذاری در بهبود تغذیه گیاهان ایفا می‌کند.

ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که آثار اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف و همچنین اثر برهم‌کنش آنها بر ارتفاع گیاه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). نتایج به‌دست آمده نشان داد که آبیاری کامل و کود ترکیبی NPK+NPP بیشترین میانگین را به خود اختصاص داد که در مقایسه با تیمار شاهد، ارتفاع گیاه را ۱/۴ برابر افزایش داد. ارتفاع گیاه تقریباً در تمام تیمارهای با رژیم آبیاری ۵۰ درصد گنجایش گلدانی کاهش یافت، به گونه‌ای که کمترین مقدار آن (۲۳/۳ سانتی‌متر) مربوط به تیمار ترکیبی ۵۰ درصد گنجایش گلدانی و کود ریزمغذی بود (جدول ۶).

جدول ۴. تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک نعناع فلفلی تحت رژیم‌های مختلف آبیاری و ترکیبات مختلف کود

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		سطح برگ	ارتفاع	وزن خشک	قطر ساقه	تعداد شاخه	نشت الکترولیت	محتوای نسبی آب برگ (RWC)	هدایت روزنه‌ای	عدد SPAD (درجه سبزینگی)	درصد اسانس
خشکی	۲	۵۹۵۴۳۹/۲**	۴۱۸/۱**	۱۶۱/۱**	۰/۰۰۰۴ns	۳۰۳/۳**	۳۹۹/۱**	۲۲۴۴/۷**	۱۰۳۷۲/۷**	۷۵/۹**	۱/۲۶**
کود	۵	۱۶۶۳۴۴/۱**	۱۵۵/۳**	۴۶/۶**	۰/۰۰۳ns	۳۴۶/۶**	۲۱/۶*	۱۹۱/۷**	۱۴۷۴/۶**	۲۹/۶*	۰/۲۳**
خشکی × کود	۱۰	۲۶۴۷۶/۱**	۹/۶۳**	۱/۰۱ns	۰/۰۰۲ns	۱۵/۶**	۱/۴۹ns	۱۵/۱*	۴۶۰/۲**	۴/۵ns	۰/۰۴ns
خطا	۳۶	۶۷۲۱/۰۹	۳/۶۴	۰/۶۳	۰/۰۰۲۸	۳/۱۶	۷/۸۴	۶/۷	۴۱/۶۴	۱۰/۱۸	۰/۰۴۶

**، * و ns به‌ترتیب بیانگر اثر معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد و عدم اثر معنی‌دار هستند.

جدول ۵. مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک نعناع فلفلی تحت رژیم‌های مختلف آبیاری و ترکیبات مختلف کود

عامل اصلی		وزن خشک (گرم در گلدان)	نشت الکترولیت (٪)	عدد SPAD (درجه سبزینگی)	درصد اسانس (٪)
خشکی	۱۰۰	۱۴/۵۶^{a}	۵۷/۹۸^{c}	۴۵/۰۶^{a}	۱/۱۲^{c}
	۷۵	۱۱/۴۳^{b}	۶۲/۵۸^{b}	۴۲/۵۸^{b}	۱/۳۴^{b}
	۵۰	۸/۵^{c}	۶۷/۴^{a}	۴۰/۹۸^{b}	۱/۶۴^{a}
کود	C	۸/۶^{f}	۶۴/۵^{a}	۴۰/۲۸^{c}	۱/۱۱^{c}
	NPK	۱۲/۳۷^{c}	۶۱/۷۸^{b}	۴۴/۱^{ab}	۱/۴۸^{ab}
	NPK+NPP	۱۴/۵^{a}	۶۰/۲۸^{b}	۴۵/۳^{a}	۱/۵۷^{a}
	NPP	۱۳/۳^{b}	۶۲/۰۸^{ab}	۴۳/۴^{abc}	۱/۲۸^{bc}
	MIC	۹/۶^{e}	۶۳/۷۶^{a}	۴۱/۹^{bc}	۱/۳۵^{ab}
	MIC+AP	۱۰/۶^{d}	۶۳/۴۸^{a}	۴۲/۰۸^{abc}	۱/۴۱^{ab}

میانگین‌های مربوط به سطوح هر عامل اصلی که دارای حداقل یک حرف مشترک باشند اختلاف معنی‌داری ندارند (آزمون دانکن ۰/۰۵).

جدول ۶. مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش رژیم‌های مختلف آبیاری و ترکیبات مختلف کود بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک نعناع فلفلی

سطوح خشکی	نوع کود	سطح برگ (سانتی‌متر مربع در گلدان)	ارتفاع (cm)	تعداد شاخه (در گلدان)	محتوای نسبی آب برگ (%RWC)	هدایت روزنه‌ای (میلی‌مول بر متر مربع بر ثانیه)
۱۰۰	C	۸۰۷^{d}	۲۹/۳^{g}	۱۹^{g}	۷۹/۱^{bc}	۴۰/۳^{d}
	NPK	۱۱۹۱/۶^{b}	۴۰/۳^{ab}	۳۴^{b}	۷۹/۵^{bc}	۵۰^{d}
	NPK+NPP	۱۳۵۳^{a}	۴۲^{a}	۳۷^{a}	۸۳/۲^{ab}	۸۵^{b}
	NPP	۱۱۵۵/۳^{b}	۴۰/۳^{ab}	۳۰^{cd}	۸۶/۲^{a}	۹۹/۳^{a}
	MIC	۹۲۱^{cd}	۳۶^{cd}	۲۸/۳^{de}	۸۱/۹^{ab}	۵۰^{d}
	MIC+AP	۹۱۵^{cd}	۳۷/۸^{bc}	۲۹^{cde}	۷۹/۳^{bc}	۴۸/۶^{d}
۷۵	C	۸۴۸^{cd}	۲۶^{h}	۱۶/۶^{h}	۶۳/۹^{de}	۲۱^{e}
	NPK	۷۹۰/۳^{d}	۳۳/۵^{def}	۲۹/۳^{cde}	۶۷/۸^{d}	۲۲^{e}
	NPK+NPP	۹۷۶/۳^{c}	۳۷^{bcd}	۳۲^{bc}	۷۵/۶^{c}	۴۶^{d}
	NPP	۹۴۰^{cd}	۳۴^{de}	۲۷/۶^{de}	۸۱/۳^{b}	۶۳/۳^{c}
	MIC	۷۸۳/۶^{d}	۳۰/۱^{fg}	۲۱^{fg}	۶۵/۹^{d}	۴۰/۳^{d}
	MIC+AP	۸۴۳^{cd}	۳۱^{efg}	۱۵/۳^{h}	۶۶/۵^{d}	۴۸/۶^{d}
۵۰	C	۵۹۸/۶^{e}	۲۴/۳^{h}	۱۵/۶^{h}	۵۶/۳^{g}	۱۵/۳^{e}
	NPK	۸۰۶/۳^{d}	۳۱/۱^{efg}	۲۶/۶^{e}	۵۷/۴^{gf}	۱۴/۳^{e}
	NPK+NPP	۸۶۳^{cd}	۳۳/۸^{de}	۳۰/۳^{cd}	۶۱/۱^{ef}	۱۵/۳^{e}
	NPP	۸۲۴^{cd}	۳۲^{efg}	۲۲/۳^{f}	۶۷/۵^{d}	۱۸^{e}
	MIC	۵۳۰/۶^{e}	۲۳/۳^{h}	۲۰/۶^{fg}	۵۶/۶^{g}	۱۴/۶^{e}
	MIC+AP	۵۳۹^{e}	۲۳/۶^{h}	۱۵/۶^{h}	۵۶/۲^{g}	۱۴/۳^{e}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک باشند اختلاف معنی‌داری ندارند (آزمون دانکن ۰/۰۵).

کاهش مقدار آب آبیاری و تنش ناشی از آن موجب کاهش پتانسیل آب بافت‌های مریستمی در طول روز شده که موجب نقصان پتانسیل فشاری به حدی کمتر از میزان لازم برای بزرگ شدن سلول‌ها شده و سبب کاهش ارتفاع بوته می‌شود (۱۷). با کاهش رشد و نمو سلول، اندازه اندام محدود می‌شود. به همین دلیل اولین اثر محسوس کم‌آبی بر گیاهان را می‌توان از روی اندازه کوچک‌تر برگ‌ها و ارتفاع کمتر گیاهان تشخیص داد. از طرفی ارتفاع بوته و تعداد شاخه اصلی مانند هر اندام رویشی یا زایشی شدیداً تحت تأثیر عناصر غذایی و آب قرار می‌گیرند (۱۲). سینگ و چوهان (۴۴) گزارش کردند که نیتروژن و فسفر عامل اصلی افزایش ارتفاع گیاه است. از آنجایی که کمبود عناصر غذایی یکی از عوامل اصلی در تعیین اندازه ارتفاع گیاه است، به نظر می‌رسد که تیمار شاهد به‌علت کمبود مواد غذایی از رشد کمتری برخوردار بود، در حالی که میزان مواد غذایی در کلیه تیمارهای کودی مورد استفاده برای رشد رویشی گیاه مناسب بود. از طرفی وو و همکاران (۵۱) علت بهبود ارتفاع گیاه ذرت (*Zea mays* L.) تلقیح شده با کودهای زیستی را افزایش جذب عناصر و بهبود فتوسنتز عنوان کردند. همچنین اثر مفید کود اوره و کود زیستی بر ارتفاع بوته توسط سوافی و همکاران (۴۸) روی گیاه نعناع فلفلی و توسط بدران و سوافی (۳) روی گیاه رازیانه گزارش شده است. از طرفی به نظر می‌رسد یکی از دلایلی که باعث کاهش ارتفاع بوته در تیمار کودی ریز مغذی شده است سمّیت این عناصر برای گیاه نعناع فلفلی است. در آزمایشی که جعفردوخت و همکاران (۲۰) بر روی گیاه ماش تحت شرایط خشکی انجام دادند گزارش کردند که تحت شرایط خشکی، محلول‌پاشی و استفاده از کودهای ریز مغذی می‌تواند اثر سمّیت بر گیاه داشته باشد و برخی از شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه را کاهش دهد.

وزن خشک

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که آثار اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر وزن خشک (گرم در گلدان) در سطح یک درصد معنی‌دار بود، اما اثر برهم‌کنش آنها معنی‌دار نبود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان وزن خشک گیاه (گرم در گلدان) کاهش یافت. در این کاهش بین هر سه تیمار خشکی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بیشترین مقدار وزن خشک در رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد گنجایش گلدانی (۱۴/۵۶ گرم در گلدان) و کمترین آن در رژیم آبیاری ۵۰ درصد گنجایش گلدانی (۸/۵ گرم در گلدان) مشاهده شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در اثر استفاده از کودهای مختلف بر وزن خشک تولیدی مشاهده شد. بیشترین میزان وزن خشک نعناع فلفلی در تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۱۴/۵ گرم در گلدان مشاهده شد (جدول ۵).

در شرایط کم‌آبی، جذب مواد و عناصر غذایی کاهش یافته و بنابراین رشد و توسعه برگ‌ها محدود می‌شود. متعاقب کاهش سطح برگ، جذب نور نیز کاهش یافته و توان کل فتوسنتزی گیاه کاهش می‌یابد. بدیهی است که با محدود شدن فرآورده‌های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، رشد گیاه و در نهایت عملکرد آن دچار نقصان می‌شود (۳۲). کاهش عملکرد در طی افزایش سطح تنش خشکی بر اساس نظر سروالی و همکاران (۴۶) می‌تواند مربوط به افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه باشد. همچنین تنش خشکی با محدودیت‌هایی که در جذب آب توسط گیاه و همچنین جذب عناصر غذایی برای گیاه ایجاد می‌کند باعث کاهش زیتوده تولیدی می‌شود (۲). از طرفی این افزایش در وزن خشک می‌تواند ناشی از اثر کاربرد باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن باشد که با تولید مقادیر مناسب مواد تنظیم کننده رشد گیاه مانند اکسین، جیبرلین، سیتوکینین و ویتامین‌های گروه B، توان ریشه‌زایی گیاه و جذب مواد غذایی از خاک را بهبود بخشیده و در نتیجه میزان نیتروژن و فسفر را در برگ‌ها افزایش داده است (۱۱).

قطر ساقه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که آثار اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف و همچنین اثر برهم‌کنش آنها بر قطر ساقه معنی‌دار نبود (جدول ۴).

تعداد شاخه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که آثار اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف و همچنین اثر برهم‌کنش آنها بر تعداد شاخه (در گلدان) در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). بیش‌ترین تعداد شاخه (در گلدان) در تیمار آبیاری کامل و کود ترکیبی NPP+NPK و کمترین مقدار در تیمار آبیاری با گنجایش گلدانی ۷۵ درصد و کود ترکیبی ریزمغذی + اسیدآمینه مشاهده شد (جدول ۶).

نتیجه پژوهشی با گیاه کنف نشان داد که شاخه‌دهی زیاد تحت وضعیت خشکی، صفتی نامطلوب به‌حساب می‌آید، زیرا سبب مصرف بیهوده رطوبت خاک و اتلاف آن می‌شود. اما محدود شدن شاخه‌دهی تحت شرایط خشکی، نوعی سازوکار سازگاری به‌حساب می‌آید که گیاه به‌وسیله آن تلاش می‌کند آب را برای مراحل بحرانی‌تر نمو مانند گل‌دهی حفظ کند (۳۱). بنابراین کاهش تعداد شاخه فرعی در وضعیت کم‌آبی را نیز شاید بتوان نوعی سازوکار سازگاری در نعناع فلفلی در نظر گرفت. همچنین گزارش شده است تحت شرایط افزایش فواصل آبیاری تعداد سلول‌های آغازین تشکیل شده برای تولید انشعابات اولیه ساقه کاهش یافته و در نتیجه به کاهش تعداد شاخه اصلی در بوته در گیاه می‌انجامد (۹). از طرفی دسترسی گیاه به آب و عناصر غذایی کافی، به ویژه نیتروژن از طریق تأثیر بر تقسیم و بزرگ شدن سلول‌ها در افزایش اجزای رشد رویشی بسیار موثر است. به همین علت تیمار کود زیستی باکتریایی و شیمیایی NPK بیشترین تعداد شاخه را سبب شده است. وو و همکاران (۵۱) علت بهبود اندام رویشی ذرت تلقیح شده با کودهای زیستی را افزایش جذب عناصر غذایی و بهبود فتوسنتز عنوان کردند.

نشت الکترولیت

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری در سطح یک درصد و مصرف کودهای مختلف بر نشت الکترولیت در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. اما اثر برهم‌کنش آنها معنی‌دار نبود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی، میزان نشت الکترولیت افزایش یافت. بیشترین نشت الکترولیت در رژیم آبیاری ۵۰ درصد گنجایش گلدانی به‌مقدار ۶۷/۴ درصد و کمترین آن در رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد گنجایش گلدانی به‌مقدار ۵۷/۹۸ درصد گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در اثر استفاده از کودهای مختلف بر نشت الکترولیت مشاهده شد. بیشترین نشت الکترولیت نعناع فلفلی در تیمار شاهد به میزان ۶۴/۵ درصد و کمترین مقدار نشت الکترولیت در تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۶۰/۲۸ درصد مشاهده شد (جدول ۵).

تحت تنش خشکی، غشای سلولی پایداری خود را از دست داده و در صورت قرار گرفتن برگ در یک محیط آبی مواد محلول از سلول آن تراوش می‌کند؛ لذا پایداری غشا به وسیله ارزیابی تراوش یون‌ها ارزیابی می‌شود (۳۸). به نظر می‌رسد که پایداری غشای سلولی در تنش‌ها با سنتز پروتئین‌های شوک گرمایی و ویژگی‌های سیستم فتوسنتزی، از جمله آنزیم‌های کلیدی و غشاهای تیلاکوئیدی مرتبط است (۱۰). همچنین تغذیه مناسب گیاه به‌ویژه به لحاظ تامین کافی نیتروژن مورد نیاز گیاه به‌ویژه برای سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت باعث افزایش پایداری غشای سلولی می‌شود. سانوکا و همکاران (۳۹) در بررسی آثار تغذیه گیاهچه‌های علف نی‌زار با کود نیتروژنه در شرایط تنش خشکی اظهار داشتند گیاهچه‌های تغذیه شده توسط نیتروژن از پایداری غشاء سلولی بیش‌تری نسبت به گیاهچه‌های تغذیه‌نشده برخوردار بودند. همچنین در آزمایشی که حمدی محمودآباد و همکاران (۱۶) در مورد عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی نعناع فلفلی تحت شرایط تنش خشکی و محلول‌پاشی کودهای بیولوژیک انجام دادند نشان دادند که استفاده از کودهای بیولوژیک سبب کاهش میزان نشت

الکترولیت شد.

محتوای نسبی آب برگ (RWC)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که آثار اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر RWC در سطح یک درصد و اثر برهم‌کنش آنها در سطح پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که تیمار ترکیبی آبیاری کامل و کود NPK بیشترین میانگین را به خود اختصاص داد که در مقایسه با شاهد RWC را بیش از ۱/۱ برابر افزایش داد. نتایج نشان داد RWC تقریباً در تمام تیمارهای با رژیم آبیاری ۵۰ درصد گنجایش گلدانی کاهش یافت، به گونه‌ای که کمترین میزان RWC مربوط به تیمار ترکیبی ۵۰ درصد گنجایش گلدانی و تیمار ترکیبی ریزمغذی و اسید آمینه بود (جدول ۶).

بسیاری از پژوهشگران معتقدند که کاهش محتوای نسبی آب برگ در اثر تنش کم‌آبی مربوط به بسته‌شدن روزنه‌ها در اثر تجمع هورمون آبسزیک اسید است که در شرایط تنش خشکی در ریشه ساخته شده و در سلول‌های روزنه‌ای تجمع می‌یابد (۷ و ۲۳). همچنین در این پژوهش با مصرف کودهای شیمیایی بر میزان RWC برگ افزوده شد. به‌نظر می‌رسد پتاسیم موجود باعث افزایش میزان محتوای آب نسبی در گیاه نعناع فلفلی شده است زیرا پتاسیم نقش مهمی در بهبود رشد و افزایش جذب آب در گیاهان دارد. همچنین کوپتا و همکاران (۸) گزارش کردند که کودهای بیولوژیک از طریق بهبود جذب و دسترسی به عناصر غذایی سبب افزایش کارایی مصرف آب می‌گردند.

هدایت روزنه‌ای

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که آثار اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف و همچنین اثر برهم‌کنش آنها بر هدایت روزنه‌ای در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). تیمار ترکیبی آبیاری کامل و کود NPP بیشترین میانگین را به خود اختصاص داد که در مقایسه با شاهد هدایت روزنه‌ای را بیش از ۱/۳ برابر افزایش داد. نتایج نشان داد هدایت روزنه‌ای تقریباً در تمام تیمارهای با رژیم آبیاری ۵۰ درصد گنجایش گلدانی کاهش یافت، به گونه‌ای که کمترین میزان سطح برگ مربوط به تیمار ترکیبی ۵۰ درصد گنجایش گلدانی و کود ریزمغذی، NPK و تیمار ترکیبی ریزمغذی و اسیدآمینه بود (جدول ۶).

ریتچ و همکاران (۳۵) نشان دادند که با اعمال تنش خشکی ابتدا هدایت روزنه‌ای کاهش می‌یابد، سپس محتوای آب نسبی و فتوسنتز شروع به کاهش می‌کند. کاهش شدید هدایت روزنه‌ای با تغییر جزئی محتوای آب نسبی بیان‌گر این است که احتمالاً سیگنال‌های شیمیایی ارسالی از ریشه، ABA (آبسیزیک اسید)، در شرایط تنش خشکی، عامل بسته شدن روزنه و کاهش فتوسنتز است (۴۹). همچنین مارچیول و همکاران (۲۹) اظهار داشتند که کودهای شیمیایی حاوی پتاسیم و نیتروژن می‌توانند از طریق افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، باعث افزایش هدایت روزنه‌ای شود. همچنین گزارش شده است کمبود نیتروژن به میزان قابل توجهی میزان فتوسنتز برگ را کاهش می‌دهد که این کاهش فتوسنتز برگ به‌دلیل کمبود نیتروژن، در مقایسه با توان کربوکسیلاسیون شیمیایی برگ عمدتاً به‌دلیل کاهش هدایت روزنه‌ای برگ است (۵۳).

عدد SPAD (درجه سبزینگی)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که آثار اصلی آبیاری بر عدد SPAD در سطح یک درصد و مصرف کودهای مختلف بر آن در سطح پنج درصد معنی‌دار بود اما اثر برهم‌کنش آنها معنی‌دار نبود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان عدد SPAD کاهش یافت. بیش‌ترین عدد SPAD در رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد گنجایش گلدانی برابر ۴۵/۰۶ و کمترین آن در رژیم آبیاری ۵۰ درصد گنجایش گلدانی برابر ۴۰/۹۸ به دست آمد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در اثر استفاده از کودهای مختلف بر میزان عدد SPAD مشاهده شد. بیش‌ترین عدد SPAD نعناع فلفلی در تیمار ترکیبی NPK+NPP برابر ۴۵/۳ درصد و کمترین

عدد SPAD در تیمار شاهد بدون کود برابر ۴۰/۲۸ گزارش شد (جدول ۵).

تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل گیاه می‌شود (۶). شاخص کلروفیل بالا باعث سبزمانی بیشتر برگ و در نتیجه دوام سطح برگ می‌شود. گزارش شده است که شاخص کلروفیل با میزان کلروفیل ارتباط خطی مثبت دارد و برگ‌هایی که شاخص کلروفیل بالاتری دارند دوام بیشتری داشته و مدت زمان استفاده از تشعشع و فتوسنتز در آنها افزایش می‌یابد (۲۷). از طرفی میزان کلروفیل برگ می‌تواند برای تعیین وضعیت نیتروژن گیاه و تنظیم میزان کود نیتروژن مورد نیاز به‌منظور افزایش کارایی مصرف نیتروژن با رسیدن به عملکرد بیشینه در گیاهان، استفاده شود (۵۲). با توجه به اینکه نیتروژن یکی از مهم‌ترین عناصر تشکیل-دهنده کلروفیل، پروتوپلاسم، اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و بسیاری از آنزیم‌های گیاهی است، رشد بیشتر گیاه نیز حاکی از جذب بیشتر عنصر مذکور است. در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد که با کاربرد ترکیبی کود شیمیایی و کود باکتریایی در شرایط بدون تنش عدد SPAD گیاه نعناع فلفلی در مقایسه با سایر تیمارها افزایش یافت.

درصد اسانس

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که آثار اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر درصد اسانس در سطح یک درصد معنی‌دار بود اما اثر برهم‌کنش آنها معنی‌دار نبود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی، درصد اسانس افزایش یافت. بیشترین درصد اسانس در رژیم آبیاری ۵۰ درصد گنجایش گلدانی برابر ۱/۶۴ درصد و کمترین آن در رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد گنجایش گلدانی برابر ۱/۱۲ درصد تعیین شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در اثر استفاده از کودهای مختلف بر درصد اسانس مشاهده شد. بیشترین درصد اسانس نعناع فلفلی در کود ترکیبی NPK+NPP برابر ۱/۵۷ درصد و کمترین درصد اسانس را تیمار شاهد برابر ۱/۱۱ درصد مشاهده شد (جدول ۵).

تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان تحت شرایط محیطی خشک تمایل به افزایش نشان می‌دهد. امروزه فرضیه‌ای با عنوان فرضیه موازنه رشد-تمایز مطرح شده که بیان می‌کند هر کمبودی که رشد را بیش از فتوسنتز محدود کند، تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان را افزایش می‌دهد (۱۹). در پژوهشی بر روی گیاهچه ریحان مشخص گردید، با اعمال تنش خشکی، میزان اسانس برگ‌های تازه از ۳/۱ به ۶/۲ میکرولیتر در گرم وزن خشک گیاه افزایش می‌یابد (۴۲). همچنین کالرا (۲۲) گزارش کرد که درصد اسانس در گیاه دارویی نعناع فلفلی در تیمار ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم با تیمار کاربرد کودهای شیمیایی برابری می‌کند. از طرفی نتایج پژوهش حاضر با نتایج لیتی و همکاران (۲۶) در بررسی اثر کاربرد ازتوباکتر بر افزایش میزان اسانس در گیاه رزماری و فاتما و همکاران (۱۵) در مورد اثر مثبت ازتوباکتر، آزوسپریلیوم و باکتری‌های حل کننده فسفات بر اسانس گیاه *Mazorana hortensis* همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این آزمایش می‌توان بیان کرد هر چند با کاهش میزان آب مصرفی و به تبع آن بروز تنش خشکی برخی از شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه نعناع فلفلی کاسته می‌شود اما با مصرف کود، به‌ویژه کود زیستی باکتریایی همراه با کود شیمیایی، می‌توان تا حدی از بروز آثار سوء تنش خشکی بر شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک این گیاه کاست. از طرفی با کاهش میزان آب مصرفی، بر درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی افزوده می‌شود. همچنین نتایج نشان داد استفاده از کودهای زیستی میزان نشت الکترولیت را تحت تنش خشکی زیاد نسبت به دیگر تیمارهای کودی کمتر افزایش داد.

سپاسگزاری

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

منابع مورد استفاده

1. Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agron. J. 23: 112−121.
2. Ashraf, M. and M. R. Foolad. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environ Exp. Bot. 59: 206−216.
3. Badran, F. S. and M. S. Safwat. 2004. Response of fennel plants to organic manure and bio-fertilizers in replacement of chemical fertilization. Egypt. J. Agric. Res. 82 (2): 247−256.
4. Bloem, E., S.M. Haneklaus., J. Paulsen., E. Schnug and D. Selmar. 2014. Stress-induced changes of bioactive compounds in *Tropaeolum majus* L. Ind. Crop Prod. 60: 349–359.
5. Boyer, J. S.1982. Plant productivity and envairoment. Crop Sci. 218: 443−448.
6. Brevedan, R. E., and D.B. Egli. 2003. Short periods of water stress during seed filling, leaf senescence, and yield of soybean. Crop Sci. 43: 2083−2088.
7. Chaves, M. M., J. S. Pereira., J. P. Maroco, M. L. Rodrigues., C. P. Ricardo and M. L. Osorio. 2002. Composition of (*Salvia officinalis* L.). Ann.Agri. Sci. 49: 299−311.
8. Copetta, A., G. Lingua and G. Berta. 2006. Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. Mycorrhiza 16: 485−494.
9. Cox, W. J., and G. D. Jollif. 1986. Growth and yield of sunflower and soybean under soil water deficits. Agron, J. 78: 266−230.
10. Demin, I. N., A. N. Deryabin., M. S. Sinkevich and T. I. Trunova. 2008. Insertion of cyanobacterial desA gene coding for Δ12-acyl-lipid desaturase increases potato plant resistance to oxidative stress induced by hypothermia. Russ. J. Plant Physiol. 55: 710−720.
11. Eid, R. A., S. A. Abo-Sedera and M. Attia. 2006. Influence of nitrogen fixing bacteria incorporation with organic and/or inorganic nitrogen fertilizers on growth, flower yield and chemical composition of *Celosia argenta*. World J. Agric. Res. 2(4): 450−458.
12. Erkossa, T., K. Stahr and G. Tabor. 2002. Integration of organic and inorganic fertilizers: Effect on vegetable productivity. EARO. 82: 247−256.
13. Fatma, A.G., A. M. Lobna and N. M. Osman. 2008. Effect of compost and biofertilizers on growth yield and essential oil of sweet marjoram (*Majorana hortensis*) plant. Int. J. Agric. Biol. 10(4): 381–387.
14. Fatma, E. M., I. El-Zamik., T. Tomader., H. I. El-Hadidy., L. El-Fattah and H. Seham. 2006. Efficiency of biofertilizers, organic and in organic amendments application on growth and essential oil of marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous soils. Agric. Microbiology Dept., Faculty of Agric., Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Dept., EJDR.
15. Gupta, M. L., A. Prasad., M. Ram and S. Kumar. 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crop of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. Bioresour. Technol. 81: 77−79.
16. Hamdi Mahmod Abad, H., Poor Yosef Meyandoab, M., and Habibi, F. 2015. FEffect of drought stress and foliar application of biological fertilizers on quantitative and qualitative yield of peppermint. IAEEA. Course 1.
17. Hassani, A. 2006. Effect of water deficit stress on growth, yield and essential oil content of *Dracocephalum moldavica*. IJMAPR, 22(3): 256−261. (In Farsi)
18. Hermosa, R., A. Viterbo., I. Chet and E. Monte. 2012. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. Microbiology. 158: 17−25.
19. Herms, D.A., and W.J. Mattson. 1992. The dilemma of plants: To grow or defend. Q. Rev. Biol. 67: 283–325.
20. Jafar dokht, R., Mosavi Nik, S. M. Mehraban, A, and Basiri. 2015. Effect of water stress and foliar micronutrient application on physiological cahracteristics and nutrient uptake in mung bean. EJCP. 8(1): 121-141.
21. Kader, M. A., M. H. Mahn and M. S. Haque. 2002. Effects of azotobacter inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. Online J. Biol. Sci. 2: 261−259.
22. Kalra, A. 2003. Organic cultivation of medicinal and aromatic plants. A hope for sustainability and qualility enhancement. MADPS. FAO. pp: 198.
23. Kari Dolatabadi, H. 2010. Effect of *Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera* endophytic fungi on plant growth and essential oil production in *Mentha piperita*, thyme and fennel in vitro and greenhouse conditions. Master's Thesis. Tarbiat Modares University (TMU).
24. Khan, H. U., W. Link, T. Hocking and F. Stoddard. 2007. Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vicia faba* L.). Plant Soil. 292: 205−217.
25. Kusaka, M., A. G. Lalusin and T. Fujimura. 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 Sci. J.168: 1−14.

26. Leithy, S., T. El-Meseiry and, E. F. Abdallah. 2006. Effect of biofertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on Rosemary herbage oil yield and quality. Indian J. Appl. Res. 2: 773−779.
27. Lindquist, J. L., J. T. Arkebauer., T. D. Walters., G.K. Cassman and A. Dobermann, 2005. Maize radiation use efficiency under optimal growth conditions. Agron. J. 97: 72−78.
28. Mao, H., L. Yu., R. Han., Zh. Li and H. Liu. 2016. Zm NAC, a maize stress-responsive NAC transcription factor, confers drought resistance in transgenic Arabidopsis. Plant Physiol. Bioch. 105: 55−66.
29. Marchiol, L., L. Letia, M. Marti, A. Perssotti and G. Zerbi. 1996. Physiological responses of two soybean cultivars to cadmium. J. Environ. Qual. 25: 562−566.
30. Meng, D., Y. Li., Y. Bai., M. Li and L. Cheng. 2016. Genome-wide identification and characterization of WRKY transcriptional factor family in apple and analysis of their responses to waterlogging and drought stress. Plant Physiol. Bioch. 103: 71−83.
31. Ogbonnaya, C. L., M. C. Nwalozie., H. Roy-Macauley and D. J. M. Annerose. 1998. Growth and water relations of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) under water deficit on a sandy soil. Ind. Crops Prod. 8: 65−76.
32. Omidbaigi, R., A. Hassani and F. Sefidkon. 2003. Essential oil content and composition of sweet Basil (*Ocimum basilicum*) at different irrigation regimes. J. Essent Oil-Bear, 6: 104−108. (In Farsi)
33. Rai, M., D. Acharya., A. Singh and A. Varma. 2001. Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* toinoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. Mycorrhiza. 11: 123–128.
34. Ramirez-Vallejo, P., and J. D. Kelly. 1998. Traits related to drought resistance in common bean. Euphytica 99: 127–136.
35. Ritchie, S. W., H. T. Nguyen and A. S. Holaday. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Sci. 30: 105−111.
36. Rouphael, Y., G. Raimondi., A. Paduano., R. Sacchi., G. Barbieri and De Pascale, S. 2015. Influence of organic and conventional farming on seed yield, fatty acid composition and tocopherols of *Perilla*. Aust. J. Crop Sci. 9: 303−308.
37. Safaei, Z., M. G. H. Azizi., H. Davarynejad and Aroiee. 2014. The effect of foliar application of humic acid and nanofertilizer on yield and yield components of black cumin (*Nigella sativa* L.). JMPB. 2: 133−140.
38. Sairam, R. K., K. V. Rao and G. C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Sci. 163: 1037–1046.
39. Saneoka, H., R. E. A. Moghaieb., G. S. Premachandra and K. Fujita. 2004. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis palustris* Huds. Environ. Exp. Bot. 52: 131–138.
40. Shukla, N., R. P. Awasthi., L. Rawat and J. Kumar. 2012. Biochemical and physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* under drought stress. Plant Physiol. Bioch. 54: 78–88.
41. Simon, J. E., R. D. Bubenheim., R. J. Joly and D. J. Chares. 1992. Water stress induced alteration in essential oil content and composition of sweet basil. J. Essent Oil-Bear. 4: 71–75.
42. Singh, R., M. A. M. Shushni and A. Belkheir. 2015. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. Arab. J. Chem. 8(3): 322−328.
43. Singh, R.V., and S. P. S. Chauhan. 1994. Response of barley to the levels and sources of nitrogen with and without zinc in relation to yield and water use under dry land conditions. Res. J. Anim. Sci. 6: 43−48.
44. Singleton, U. L., and J. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-posphotungustic acid reagent. Am. J. Enol. Viticult. 16: 144−158.
45. Smart, R. E., and G. E. Bingham. 1974. Rapid estimates of relative water content. Plant Physiol. 53: 258–260.
46. Sreevalli, Y., K. Baskaran., R. Chandrashekara and R. Kuikkarni. 2001. Preliminary observations on the effect of irrigation frequency and genotypes on yield and alkaloid concentration in petriwinkle. OAJMAX. 22: 356−358.
47. Sturz, A. V., and B. R. Christie. 2003. Beneficial microbial allelopathies in the root zone: The management of soil quality and plant disease with rhizobactria. Soil Till. Res. 72: 107−123.
48. Swaefy Hend, M. F., R. A. Sake Weaam, A. Z. Sabh and A. A. Ragab. 2007. Effect of some chemical and biofertilizers on peppermint plants grown in sandy soil. Ann. Agric. Sci. 52 (2): 451−463.
49. Taize, L., and E. Zaiger. 2007. ABA and drought adaptation. Chapter 25 (Role of ABA in Arabidopsis Salt, Drought, and Desiccation Tolerance. Dilukshi Fernando, V. C. and Dana F. Schroeder). 671−682.
50. Telci, I., O. G. Toncer and N. Sahbaz. 2006. Yield, essential oil content and composition of *Coriandrum sativum* varieties (var. vulgare Alef. and var. microcarpum DC.) grown in two different locations. J. Essent. Oil Res. 18: 189−193.
51. Wu, S. C., Z. H. Cao, Z. G. Li, K. C. Cheung and M. H. Wong. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma. 125: 155−166.
52. Zgallai, H., K. Steppe and R. Lemeur. 2006. Effects of different levels of water stress on leaf water potential,

stomatal resistance, protein and chlorophyll content and certain anti oxidative enzymes in tomato plants. J. Integr. Plant Biol. 48(6): 679−685.

53. Zhao, D., K. R. Reddy, V. G. Kakani and V. Reddy. 2005. Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum. Eur. J. Agron. 22(4): 391−403.

Effect of Biofertilizer and Chemical Compounds Application on Morphological and Physiological Characteristics of Peppermint (*Mentha piperita*) Under Different Irrigation Regimes

M. Parsa[1], B. Yousefi[2] and R. Kamaei[2]

(Received: 20 April 2019; Accepted: 11 May 2020)

Abstract

In order to evaluate the effect of various irrigation regimes and different fertilizer compounds on some morphological and physiological traits of peppermint (*Mentha piperita*), a factorial greenhouse experiment in completely randomized design with 3 replicates was carried out in the research greenhouse of Ferdowsi University of Mashhad, during growing season 2017–2018. Factors were consisted of different irrigation regimes levels in 3 levels: 100, 75 and 50% container capacity (CC) and 6 type of different biological and chemical fertilizers combinations including: 1- combined bacterial biofertilizer NPK + NPP (DAYAN Nitrobacter (Nitrogen-Stabilizing Microorganisms) + Phosphopower Bacter DAYAN (Phosphate Soluble Bacteria) + PetaPower Bacter DAYAN (Potassium Solvent Microorganisms)), 2- chemical fertilizer NPK (20-20-20), 3- NPK+ bio-fertilizer NPP (NPK+NPP), 4- micronutrient fertilizer (MIC) (in the form of a solution containing iron, manganese, zinc, copper, barium, molybdate, cobalt, silicon, sulfur and vitamins), 5- MIC + amino acid fertilizer (AP) and 6- control. The results showed that the interaction of irrigation regimes and different biofertilizers had significant effects on leaf area, height, branch number and stomatal conductance at 1% level and on relative water content (RWC) at 5% level. In addition, the main effects of irrigation regimes and different fertilizer types on dry weight, electrolyte leakage, SPAD number (greenness) and essence percentage were significant at 1% level, but their interactions were not significant. The results of this study showed that the use of bacterial and chemical fertilizers combinations in the full irrigation regime (100%CC) increased morphological and physiological traits. The results showed that although by reducing the amount of water consumed and consequently incidence of drought stress, some morphological and physiological indices of peppermint were reduced, but the use of bacterial biofertilizer with chemical fertilizer partially reduced the effects of drought stress on these morphological and physiological indices of this plant.

Keywords: Electrolyte leakage, SPAD number or Greenness, Stomatal conductance, Relative water content, Peppermint.

1. Dept. of Agric. and Plant Breeding, Ferdowsi Univ. of Mashhad, Mashhad, Iran.
2. Dept. of Crop Physiology, Ferdowsi Univ. of Mashhad, Mashhad, Iran.
* Corresponding Author, Email: parsa@ferdowsi.um.ac.ir