

## تأثیر دور آبیاری و اسیدهیومیک بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris* L.)

حسین گرگینی شبانکاره<sup>۱\*</sup>، سارا خراسانی نژاد<sup>۱</sup>، مرتضی صادقی<sup>۲</sup>، علیرضا طبسی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

<sup>۲</sup> معاونت تولیدات گیاهی، سازمان جهاد کشاورزی گلستان، گرگان، ایران

<sup>۳</sup> موسسه غیرانتفاعی بهاران

تاریخ دریافت: ۹۷/۵/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۱۰

### چکیده

به منظور بررسی اثر دور آبیاری و کاربرد اسیدهیومیک بر برخی ویژگی های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris* L.) آزمایشی به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه غیرانتفاعی بهاران گرگان در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایش در چهار سطح دور آبیاری (شامل سه، شش و نه روز یکبار و هر روز آبیاری به عنوان شاهد) و سه سطح محلول دهی اسیدهیومیک (شامل ۳۰۰، ۱۵۰ و صفر میلی گرم در لیتر)، لحاظ گردید. نتایج نشان داد افزایش میزان دور آبیاری سبب افزایش معنی دار در ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی اکسیدانی، پرولین و قندهای محلول گشت. اثر فاصله آبیاری در بیشترین سطح (نه روز یکبار)، منجر به افزایش به ترتیب ۱/۰۷، ۰/۱۶، ۱۴/۵۳، ۱/۸۷ و ۳/۷۲ درصدی پرولین، ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی اکسیدانی و قندهای محلول شد. همچنین بالاترین میزان اسانس با ۱۵ درصد اختلاف نسبت به شاهد از سطح سوم دور آبیاری (شش روز یکبار) مشاهده شد. از طرفی افزایش فاصله دور آبیاری سبب کاهش معنی دار ارتفاع بوته، وزن تازه و خشک گیاه گردید. کاربرد اسیدهیومیک نیز بر تمامی صفات مورد بررسی اثر معنی داری داشت. همچنین اثر متقابل دور آبیاری و کاربرد اسیدهیومیک روی تمام صفات به جز ترکیبات فنلی اثر معنی دار داشت به طوری که فعالیت آنتی اکسیدانی و درصد تیمول در شرایط محلول پاشی با ۱۵۰ میلی گرم در لیتر اسیدهیومیک و آبیاری نه روز یکبار به بیشترین حد رسیدند. در همین راستا حداکثر درصد اسانس در سطح سوم آبیاری (شش روز یکبار) با کاربرد ۳۰۰ میلی گرم در لیتر اسیدهیومیک به دست آمد. پرولین گیاه نیز در شرایط آبیاری نه روز یکبار و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر اسیدهیومیک بیشترین مقدار را نشان داد. به طور کلی نتایج این آزمایش، کاربرد ۳۰۰ میلی گرم در لیتر اسیدهیومیک را در فاصله آبیاری نه روز یکبار به عنوان بهترین تیمار از لحاظ صرفه اقتصادی معرفی می کند، زیرا با مصرف کمتر آب همراه با کاربرد اسیدهیومیک، می توان در این گیاه به همان میزان عملکرد که در سطوح بالاتر مصرف آب دارند، دست یافت.

واژه های کلیدی: اسانس، پرولین، ترکیبات فنلی، تیمول، فعالیت آنتی اکسیدانی.

## مقدمه

آلی خاک، پیت، لیگنین و غیره به وجود می آید که می تواند جهت افزایش محصول و کیفیت آن به کارگرفته شود (Abedi and Pakniyat, 2010). از مزایای مهم اسیدهیومیک می توان به کلات کنندگی عناصر غذایی مختلف مانند سدیم، پتاسیم، منیزیم، روی، کلسیم، آهن، مس و سایر عناصر اشاره کرد (Abedi and Pakniyat, 2010). اسیدهیومیک با اصلاح فیزیکی و بهبود دانه بندی خاک فضای بیشتری برای نفوذ آب ایجاد می کند (Mirhajian, 2011) و با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو، سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می شود (Delfine et al., 2005). بررسی اثر اسیدسالیسیلیک و اسیدهیومیک به خصوص اسیدهیومیک، بر گیاه دارویی سیاهدانه تحت سطوح مختلف تنش شوری و خشکی نشان داد که غلظت پروتئین های محلول با افزایش تنش شوری و خشکی کاهش و تولید آنزیم های آنتی اکسیدانی و پرولین افزایش یافت (Ahmadpoor Dehkordi and Tadayan, 2015). همچنین بررسی اثر تنش خشکی و اسیدهیومیک بر گیاه دارویی چای ترش نشان داد که با افزایش تنش خشکی تحت تیمار اسیدهیومیک، از محتوای کارتنوئیدها و محتوای رطوبت نسبی کاسته و غلظت پرولین افزایش یافت که نشان می دهد کاربرد اسیدهیومیک شدت اثرات منفی تنش خشکی بر گیاه کاهش داده است (Sanjarimijani et al., 2015).

آویشن (*Thymus vulgaris* L.) گیاهی خشبی و چندساله معطر و متعلق به خانواده نعناعیان می باشد که در مناطق مختلف جهان رشد می کند (Davis, 1982). اسانس در تمامی قسمت های گیاه وجود دارد، ولی بیشتر در سرشاخه های گلدار دیده می شود که مهم ترین ترکیب و عامل ارزش گذاری اسانس آن ترکیب تیمول می باشد (Dapkevicius et al., 2002). با توجه به این که خشکی و کم آبی در ایران همواره از مهمترین مسائل و مشکلات کشاورزی

گیاهان طی دوران رشد خود با تنش های متعدد محیطی مواجه می شوند، که هریک از آن ها می توانند باتوجه به میزان حساسیت و مرحله رشدی گیاه اثرات متفاوتی بر رشد و عملکرد داشته باشند. کمبود آب از مهم ترین عوامل محیطی کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی، باغی و دارویی به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک دنیاست (Gorgini et al., 2015). تنش طولانی مدت رطوبتی بر تمام فرآیندهای متابولیکی گیاه اثر می گذارد و اغلب موجب کاهش تولید گیاه می شود (Abedi and Pakniyat, 2010). به طوری که در آزمایشی گلدانی، با اعمال تنش خشکی بر شاخص های رشدی، عملکرد و اسانس گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris* L.)، میزان رشد و عملکرد اسانس کاهش یافت (Mohammadpour Vashvaei et al., 2015). همچنین نتیجه مطالعه اثر تنش خشکی بر گیاهچه های کلزا (*Brassica nupus*) نشان داد که خشکی سبب افزایش میزان پرولین، گلوکز، مانوز و رامنوز در بافت های ارقام کلزا شده (Mirzaee et al., 2013) و در سه رقم نخود سبب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان گشت (Nasr Esfahani, 2013).

اخیراً استفاده از انواع اسیدهای آلی برای بهبود کمی و کیفی محصولات زراعی و باغی رواج فراوان یافته است. مقادیر بسیار کم از اسیدهای آلی به دلیل وجود ترکیبات هورمونی، اثرات قابل ملاحظه ای در بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک و افزایش تولید و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی دارند (Sabzevari et al., 2009). بنابراین استفاده از انواع کودهای طبیعی از جمله اسیدهیومیک، بدون اثر مخرب زیست محیطی، جهت بالابردن عملکرد می تواند مثرتر واقع شود. اسیدهیومیک ترکیب پلیمری طبیعی آلی است که در نتیجه پوسیدگی مواد

است و با عنایت به اهمیت استفاده از نظام‌های کشاورزی پایدار و معرفی روش‌های مدیریتی، پژوهش حاضر، به منظور ارزیابی کاربرد اسیدهیومیک در جهت نیل به اهداف کشاورزی پایدار و تعیین نیاز آبی گیاه دارویی آویشن در شرایط رژیم‌های آبیاری در مزرعه برای افزایش کارایی مصرف آب، اجرا گردید.

### مواد و روش‌ها

**طرح آزمایشی:** به منظور بررسی اثر فواصل آبیاری و اسیدهیومیک بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی آویشن، آزمایشی در سال ۹۶-۱۳۹۵ در محوطه تحقیقاتی مؤسسه غیرانتفاعی بهاران گرگان اجرا شد. در این تحقیق اثرات دو عامل رژیم آبیاری و اسیدهیومیک به صورت کرت‌های خردشده بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. فواصل آبیاری در چهار سطح آبیاری هر روز آبیاری، سه، شش و نه روز یکبار به عنوان کرت اصلی و محلول پاشی اسیدهیومیک در سه غلظت ۳۰۰، ۱۵۰ و صفر میلی‌گرم در لیتر به عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شدند. برای سهولت در جاگذاری تیمارها در جداول، حروف اختصاری به صورت فاصله آبیاری (D<sub>1</sub>: شاهد یا هر روز آبیاری، D<sub>2</sub>: سه روز یکبار، D<sub>3</sub>: شش روز یکبار و D<sub>4</sub>: نه روز یکبار)، تیمار اسیدهیومیک (H<sub>1</sub>: صفر (شاهد)، H<sub>2</sub>: ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر و H<sub>3</sub>: ۳۰۰

میلی‌گرم در لیتر) معرفی گردید. بدین منظور بذر گیاه موردنظر از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و در سینی نشاء و در شرایط گلخانه در آذرماه ۱۳۹۵ اقدام به تولید نشاء گردید. عملیات شخم، تسطیح و آماده‌سازی زمین در نیمه دوم فروردین‌ماه ۱۳۹۶ انجام پذیرفت. در مجموع ۴۸ کرت برای کشت استفاده شد. در داخل هرکدام از کرت‌های آزمایش تعداد ۹ نشاء تولید شده، به روش جوی و پشته در سه ردیف ۱/۶ متری با فاصله ۴۰ سانتی‌متری بر روی ردیف و ۴۰ سانتی‌متری بین ردیف کشت شدند (Lebaschi et al., 2018). بعد از کاشت بلافاصله آبیاری صورت گرفت. آبیاری تا دو هفته بعد از استقرار بوته‌ها، به صورت هر روزه صورت پذیرفت و سپس آبیاری تا پایان دوره رشد بر حسب تیمارهای آبیاری (سه، شش و نه روز یکبار) به میزان ۳۰۰ میلی لیتر برای هر بوته انجام شد. از پودر اسیدهیومیک ۹۵٪ با نام تجاری هیومکس ساخت کشور امریکا (حاوی ۸۰٪ اسیدهیومیک و ۲۰٪ اسیدفلوئیک) جهت اعمال تیمار اسیدهیومیک استفاده گردید که به صورت محلول پاشی برگ‌ها به همراه آب آبیاری بود. بعد از سبز شدن، بوته‌ها در طی چند مرحله تنک شدند و در نهایت داخل هر کرت شش بوته نگهداری شد. جهت شناسایی خصوصیات کمی و کیفی خاک محل آزمایش، نمونه خاکی به آزمایشگاه منتقل و تجزیه شیمیایی و فیزیکی انجام گرفته و نتایج حاصل از تجزیه خاک در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

آزمایشگاه	شماره	مشخصات نمونه	رقم	pH	الکالینیتی	درصد نیل	درصد آب	درصد از ز	Z	درصد از ز	کربن	نیتر	فسفر	کلسیم	مگنزیوم	کلی	کلی
گرگان	۹۴۷	۰-۳۰	۷/۳۴	۴/۰۷۶	۱۴۱/۸۶	۵/۵۹	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۹	۲۴/۸	۲۵۶	۱۲	۴۲	۴۲	۴۲	Silty -Clay	
T.N.V: درصد کل مواد خنثی شونده S.P: دانه بندی خاک																	

حدود ۸ هفته پس از شروع تیمارهای رژیم آبی (زمانی که ۵۰ درصد بوته‌ها در مرحله گلدهی کامل بودند)، اقدام به اندازه‌گیری ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی (ارتفاع بوته، وزن تازه و خشک گیاه، رطوبت نسبی آب برگ، پرولین و قند محلول) و بیوشیمیایی (فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی، تیمول و درصد اسانس) گردید به طوری که از هر تیمار، سه تکرار انتخاب شده، بعد از حذف ریشه و خشک نمودن اندام‌های هوایی در دمای اتاق (حدود ۲۶ درجه سانتی‌گراد) و سایه، اندازه‌گیری وزن خشک گیاه، عصاره متانولی تهیه و صفاتی نظیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، پرولین، قند محلول برای هر کرت اندازه‌گیری شد.

**اندازه‌گیری ترکیبات فنلی:** میزان ترکیبات فنلی برگ به روش فولین‌سیوکالتو اندازه‌گیری شد. ابتدا ۲۰ میکرولیتر از عصاره برداشته و با ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرو فولین‌سیوکالتو به آن اضافه شد، بعد از ۸-۵ دقیقه استراحت، ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم یک مولار به محلول افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام بخار ۴۰ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفت. در شاهد متانول خالص جایگزین عصاره متانولی گردید. سپس نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UNICO 2800) قرائت گردید. برای رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های متفاوت اسیدگالیک (۲۵۰، ۲۰۰، ۱۵۰، ۱۰۰، ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) در متانول ۸۰٪ استفاده گردید. این مقدار برای یک میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد و فنل کل بر حسب میلی‌گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم برگ خشک بدست آمد (McDonald and Ho, 2002).

**سنجش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH:** برای اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل)، ابتدا یک میلی‌لیتر از

عصاره متانولی (متانول ۸۰ درصد) با یک میلی‌لیتر DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط گردید. برای نمونه شاهد یک میلی‌لیتر متانول خالص به جای یک میلی‌لیتر عصاره متانولی قرار داده شد و برای بلانک از متانول خالص استفاده شد. بعد از ۳۰ دقیقه تاریکی، نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل؟ قرائت شدند. اعداد بدست آمده از جذب نمونه توسط رابطه ۱ به درصد مهار رادیکال آزاد تبدیل شد (Miliauskas et al., 2004).

رابطه (۱)

(درصد جذب شاهد) = درصد DPPH

۱۰۰ × درصد جذب نمونه درصد جذب شاهد

اعداد بدست آمده برابر با درصد مهار رادیکال‌های آزاد در عصاره متانولی (ppm ۰/۱) نمونه‌ها می‌باشد (Brahmilarski et al., 2012).

**اندازه‌گیری قندهای محلول:** استخراج قندهای محلول با استفاده از روش اوموکولو انجام شد. طبق این روش ۴۰ میلی‌گرم از بافت تر برگ گیاه با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب‌گرم (بن‌ماری) با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. عصاره الکلی به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰g<sup>۱</sup> سانتریفیوژ گردید و محلول شفاف به دست آمده که حاوی قندهای محلول بود به یک بشر منتقل شد و عمل فوق ۴ مرتبه دیگر روی بقایای بافت به جا مانده تکرار گردید. در نهایت عصاره الکلی با حرارت غیرمستقیم تغلیظ شد به طوری که حجم آن به یک پنجم حجم اولیه رسید. برای حذف کلروفیل، عصاره به دست آمده به نسبت ۱ به ۵ با کلروفرم مخلوط گردید و بعد از هم‌زدن، محلول به مدت ۵ دقیقه به حال سکون رها شد. این عمل سبب جداسازی کلروفیل از فاز آبی گردید. فاز آبی رویی به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ g

سانتریفیوژ شد. فاز شفاف بالایی جدا شده و از آن برای اندازه‌گیری انواع قندهای محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده گردید (Omokolo et al., 2002).

**اندازه‌گیری پرولین:** برای اندازه‌گیری پرولین ۰/۵ گرم برگ تر گیاه را با هاون خرد شده و درون یک تیوب ریخته شد، سپس ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک‌اسید ۳ درصد آماده شده به آن اضافه و نمونه درون یخ قرار داده شد. تیوب در ۱۵۰۰۰ دور به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد تا مواد اضافی از محلول جدا گردد. می‌توان به‌جای سانتریفیوژ از قیف شیشه‌ای و کاغذ صافی برای صاف کردن نمونه‌ها استفاده کرد. مقدار ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده درون تیوب جدید ریخته شد و ۲ میلی‌لیتر اسید ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک‌گلاسیال به آن افزوده و سپس خوب مخلوط شد. همزمان مقدار ۲ میلی‌لیتر از محلول‌های استاندارد صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر پرولین درون تیوب‌های جدید ریخته شد و ۲ میلی‌لیتر اسید ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک‌گلاسیال به آن‌ها افزوده و سپس خوب مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در حمام آب گرم و سپس درون حمام یخ قرار داده شد. مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه و به مدت ۲۰ ثانیه با دستگاه ورتکس بهم زده شد. استانداردهای پرولین محلول در فاز تولوئن را به اندازه‌ی لازم در کووت دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته و مقدار پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و منحنی استاندارد رسم شد. سپس میزان جذب در نمونه‌های گیاهی قرائت و با قراردادن آن در معادله خطی مقدار پرولین به دست آمد (Bates et al., 1973).

**تعیین محتوی نسبی آب برگ:** برای تعیین درصد محتوی نسبی آب برگ، از قسمت انتهایی ساقه سه

برگ توسعه یافته از تمام واحدهای آزمایشی جدا کرده، قطعاتی یک سانتی‌متری برگ تهیه و وزن تر آن‌ها به کمک ترازو دیجیتالی اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن شباع آن‌ها را به پتری‌دیش‌های درب دار حاوی آب مقطر منتقل کرده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از خارج کردن قطعات از آب مقطر جهت حذف رطوبت اضافی سطح قطعات برگ آن‌ها را در بین دو لایه کاغذ صافی خشک نموده و سپس وزن آماس آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس وزن خشک با قرار دادن همان نمونه گیاهی در آن ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت تعیین گردید و در نهایت رطوبت نسبی آب برگ ( $RWC^1$ ) با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد (Yamasaki and Dillenburg, 1999).

$$\text{رابطه (۲): } RWC(\%) = \left[ \frac{\text{وزن خشک-وزن تر}}{\text{وزن خشک-وزن آماس}} \times 100 \right]$$

**استخراج اسانس و اندازه‌گیری میزان تیمول:** برای استخراج و اندازه‌گیری اسانس، سرشاخه‌های گلدار بوته‌ها در مرحله گلدهی کامل برداشت شده و در دمای اتاق (حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در سایه خشک شد. سپس از هر نمونه خشک شده ۱۰۰ گرم آسیاب شده و به‌روش تقطیر با آب (۱۰۰ سی‌سی) آب و کمک دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شدند (Yamasaki and Dillenburg, 1999). برای تعیین مقدار تیمول موجود در اسانس از دستگاه گاز کروماتوگراف دانشگاه شهید بهشتی، مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آن از ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۵ دقیقه در ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد نگه داشته‌شد. از گاز حامل هلیوم با

سرعت جریان ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه استفاده شد و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد. **آنالیز داده‌ها:** تجزیه و تحلیل داده‌ها (تجزیه واریانس و مقایسه میانگین به روش LSD) با استفاده از نسخه ۹/۲ نرم‌افزار SAS (SAS Institute, 2013, Cary, NC) صورت گرفت. و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

## نتایج

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) تیمارهای اعمال شده بر تمامی صفات مورد اندازه‌گیری اثر معنی‌دار داشت به طوری که دور آبیاری در سطح معنی‌داری یک درصد بر تمامی صفات اندازه‌گیری شده موثر بود. همچنین اثر اسیدهیومیک بر تمامی خصوصیات گیاه به جز فنل کل و تیمول که در سطح پنج درصد معنی‌دار بوده‌اند در سطح یک درصد معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل دور آبیاری و اسیدهیومیک به جز درصد اسانس، فنل کل و مقدار تیمول بر باقی صفات اثر معنی‌دار داشت. اثر معنی‌داری بر صفات وزن خشک، پرولین و درصد آب نسبی برگ در سطح ۵ درصد و بر باقی صفات در سطح یک درصد مشاهده شد.

**ارتفاع، وزن تازه و خشک گیاه:** ارتفاع، وزن تازه و خشک به طور معنی‌داری ( $p < 0.01$ ) تحت تأثیر فواصل مختلف آبیاری قرار گرفتند (جدول ۲). که بیشترین مقدار برای این صفت از سطح اول آبیاری (هر روز آبیاری) بدست آمد (جدول ۳). همچنین کاربرد اسیدهیومیک نیز برای صفات مذکور در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). به طوری که بیشترین مقدار ارتفاع بوته، وزن تازه و خشک گیاه به ترتیب ۲۵/۱۱، ۶۷/۴۸، ۳۴/۳۶ درصد مربوط به کاربرد ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک بود (جدول ۴). در تیمارهای ترکیبی با افزایش فواصل آبیاری میزان صفات

مذکور کاهش یافت به طوری که کمترین میزان ارتفاع بوته (۱۵/۳۰ سانتی‌متر)، وزن تازه گیاه (۳۰/۴۵ درصد) و وزن خشک گیاه (۱۴/۳۴ درصد) از شرایط نه روز یکبار آبیاری و عدم کاربرد اسیدهیومیک حاصل شد (جدول ۵). به طور کلی کاربرد ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک در شرایط آبیاری روزانه بیشترین مقدار صفات مورد بررسی را به دنبال داشت (جدول ۵).

**ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی:** صفات فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.01$ ) تحت تأثیر تیمارهای فواصل آبیاری و اسیدهیومیک قرار گرفتند (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان فنل کل با میانگین ۰/۰۷۶ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک مربوط به تیمار فاصل آبیاری نه روز یکبار و کمترین آن با میانگین ۰/۰۵۰ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک مربوط به سطح اول تیمار فواصل آبیاری (هر روز آبیاری) است (جدول ۳). کاربرد ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک موجب افزایش معنی‌دار این صفت نسبت به شاهد گردید. البته کاربرد اسیدهیومیک با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نیز بهبود در این صفت را به عنوان صفت مثبت، نسبت به شاهد به دنبال داشت (جدول ۴). با افزایش فواصل آبیاری، آنتی‌اکسیدان به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۲). فواصل آبیاری نه، شش و سه روز یکبار با میانگین‌های ۸۱/۸۵، ۷۲/۰۸ و ۶۹/۶۲ درصد به ترتیب باعث افزایش ۱۴/۵۳، ۴/۷۶ و ۲/۳ درصدی در میزان آنتی‌اکسیدان نسبت به شاهد گردید (جدول ۳). در شرایط فواصل آبیاری در سطوح بالا، کاربرد اسیدهیومیک توانست میزان آنتی‌اکسیدان را افزایش دهد، به طوری که بیشترین مقدار آنتی‌اکسیدان (۸۴/۷۳ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) به ترتیب از کاربرد ۱۵۰ میلی‌گرم اسیدهیومیک در ترکیب تیماری با نه روز فاصله آبیاری حاصل شد (جدول ۵).



جدول ۴: مقایسه میانگین اثرات ساده اسیدهیومیک بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی آویشن

تیمول (درصد)	قندهای محلول (میلی گرم در گرم)	درصد رطوبت نسبی آب (درصد)	فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد)	ترکیبات فنلی (میلی گرم در م)	پروترین (میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک)	درصد اسانس (درصد)	وزن خشک (گرم)	وزن تازه (گرم)	ارتفاع بوته (سانتی متر)	اسید هیومیک
۸/۹۶c	۲۸/۲۱c	۴۶/۷۷c	۶۹/۵۲b	۰/۰۵۸c	۱/۵۹c	۰/۲۶b	۲۰/۵۸c	۴۵/۲۸c	۱۸/۲۷c	عدم مصرف
۹/۵۶a	۳۱/۳۰b	۵۲/۶۳b	۷۳/۹۶a	۰/۰۶۰b	۱/۹۵b	۰/۲۸ab	۳۰/۷۵b	۶۱/۴۰b	۲۳/۶۵b	۱۵۰ میلی گرم در لیتر
۹/۵۴b	۳۷/۰۲a	۵۴/۰۹a	۷۴/۶۷a	۰/۰۶۳a	۲/۱۱a	۰/۲۹a	۳۴/۳۶a	۶۷/۴۸a	۲۵/۱۱a	۳۰۰ میلی گرم در لیتر

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

این صفت نسبت به شاهد گردید (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین مقدار پروترین (۲/۸۶ میلی‌گرم در گیاه خشک) از برهمکنش تیمار شش روز یکبار آبیاری و کاربرد ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک حاصل شد (جدول ۵).

همان‌گونه‌که در جدول ۳ نشان داده می‌شود فواصل آبیاری نه، شش و سه روز یکبار آبیاری با میانگین ۱/۶۱، ۱/۸۱ و ۲/۵۹ گرم در گیاه خشک باعث افزایش میزان پروترین نسبت به شاهد شد. در شرایط سطح چهارم فاصله آبیاری کاربرد هر دو سطح ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک موجب افزایش

جدول ۵: مقایسه میانگین اثرات متقابل فواصل آبیاری و اسیدهیومیک بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آویشن

قندهای محلول (میلی گرم در گرم)	درصد رطوبت نسبی آب (درصد)	فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد)	پروترین (میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک)	وزن خشک (گرم)	وزن تازه (گرم)	ارتفاع بوته (سانتی متر)	دور آبیاری x اسیدهیومیک
۲۱/۲۵i	۵۱/۶۳cd	۶۱/۸۵h	۱/۲۲f	۲۶/۴۹e	۵۵/۶۳ef	۲۱/۱۱f	عدم مصرف
۲۳/۵۰h	۵۵/۳۹ab	۶۹/۷۵f	۱/۵۹d	۳۴/۱۳ab	۶۴/۸۰bc	۲۵/۶۴b	هر روز ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر
۲۸/۱۸fg	۵۷/۴۸a	۷۰/۳۵ef	۱/۷۵c	۳۶/۲۲a	۷۵/۵۴a	۲۸/۵۲a	۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر
۲۷/۲۱g	۵۰/۳۲d	۶۶/۶۷g	۱/۴۲e	۲۳/۱۰f	۵۲/۶۴f	۱۹/۳۳g	عدم مصرف
۲۸/۲۸gf	۵۳/۶۲bc	۶۹/۸۹f	۱/۶۴d	۳۱/۷۵c	۶۲/۱۰cd	۲۴/۰۷c	هر سه روز آبیاری ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر
۳۱/۴۵e	۵۵/۳۰ab	۷۲/۳۱e	۱/۷۷c	۳۴/۹۸ab	۶۸/۸۸b	۲۵/۷۷b	۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر
۳۰/۱۲ef	۴۶/۲۸e	۷۰/۴۰ef	۱/۵۸d	۱۸/۴۰g	۴۲/۴۲g	۱۷/۳۲h	عدم مصرف
۳۵/۱۴d	۵۱/۲۵cd	۷۱/۴۸ef	۱/۸۱c	۲۹/۵۵d	۵۹/۴۷ed	۲۲/۴۸e	هر روز آبیاری ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر
۴۰/۴۵b	۵۲/۳۴cd	۷۴/۳۶d	۲/۰۵b	۳۳/۱۱bc	۶۲/۶۰cd	۲۳/۳۷cd	۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر
۳۴/۳۳d	۳۸/۸۵f	۷۹/۱۵c	۲/۱۳b	۱۴/۳۲h	۳۰/۴۵h	۱۵/۳۰i	عدم مصرف
۳۸/۳۱c	۵۰/۲۷d	۸۴/۷۳a	۲/۷۸a	۲۷/۵۸e	۵۹/۲۴ed	۲۲/۴۸e	هر سه روز آبیاری ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر
۴۸/۰۱a	۵۱/۲۵cd	۸۱/۶۷b	۲/۸۶a	۳۳/۱۴bc	۶۲/۹۰cd	۲۲/۷۷de	۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

۴۰/۱۸ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک به بیشترین سطح خود رسید (جدول ۴).

با افزایش فاصله آبیاری تا نه روز یکبار آبیاری میزان قندهای محلول افزایش یافت و با میانگین

نسبت به شاهد گردید. البته قابل ذکر است که کاربرد ۱۵۰ میلی گرم در لیتر نیز سبب بهبود این صفت نسبت به عدم کاربرد اسیدهیومیک گردید (جدول ۴).

**مقدار تیمول - درصد تیمول تحت تأثیر فواصل آبیاری** ( $P < 0/01$ ) و اسیدهیومیک ( $P < 0/05$ ) قرار گرفت (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین مقدار تیمول با ۱۰/۳۹ درصد مربوط به سطح چهارم فاصله آبیاری (نه روز یکبار آبیاری) و کمترین آن با میانگین ۸/۶۶ درصد مربوط به سطح اول فاصله آبیاری (هر روز آبیاری) بود (جدول ۳). کاربرد ۱۵۰ میلی گرم در لیتر موجب افزایش معنی دار این صفت نسبت به شاهد گردید. البته قابل ذکر است که کاربرد ۳۰۰ میلی گرم در لیتر نیز دارای کمترین اثر می باشد (جدول ۵).

#### بحث

همان طور که از نتایج مشخص می باشد با افزایش فاصله آبیاری، از میزان ارتفاع بوته، وزن تازه و خشک گیاه و محتوای آب نسبی کاسته شد که کاربرد اسیدهیومیک توانست اثرات منفی کم آبی را جبران نموده و سبب افزایش بیومس گیاه گردید. از طرف دیگر محتوای پرولین، ترکیبات فنلی، درصد اسانس و فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت که منجر به افزایش کیفیت گیاه حاصله گردید در همین راستا علت کاهش ارتفاع بوته در شرایط تنش کم آبی، می تواند کاهش فشار تورژسانس و متعاقب آن کاهش تقسیم و بزرگ شدن سلولی نسبت به شرایط مطلوب آبیاری باشد. به عبارتی افزایش فواصل آبیاری و تنش ناشی از کمبود آب موجب کاهش پتانسیل آب بافت های مرستمی در طول دوره رشد که موجب نقصان پتانسیل فشاری به حدی کمتر از میزان لازم برای بزرگ شدن سلول ها می گردد و سبب کاهش

**محتوای نسبی آب برگ:** محتوای نسبی آب تحت تأثیر رژیم آبیاری، اسیدهیومیک و اثر متقابل ( $P < 0/01$ ) قرار گرفت (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین میزان محتوای نسبی آب برگ با میانگین ۵۴/۸۳ درصد مربوط به تیمار شاهد (هر روز آبیاری) و کمترین آن با میانگین ۴۶/۷۹ درصد مربوط به نه روز یکبار بود که با توجه به نوع گیاه منطقی به نظر می رسد (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در سطوح اول تا چهارم فواصل آبیاری به ترتیب مقادیر محتوای نسبی آب برگ برابر با ۵۴/۸۳، ۵۳/۰۸، ۴۹/۹۶ و ۴۷/۷۹ درصد شد که نشان دهنده کاهش میزان این صفت با افزایش فواصل آبیاری می باشد (جدول ۳). سطوح ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر اسیدهیومیک موجب افزایش این صفت نسبت به شاهد گردید (جدول ۴). کاربرد اسیدهیومیک در هر دو سطح ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب موجب افزایش ۵/۸۶ و ۷/۳۲ درصدی این صفت نسبت به شاهد گردید (جدول ۴). کاربرد اسیدهیومیک در شرایط اعمال فواصل آبیاری اثر معنی داری بر محتوای نسبی آب داشت. به طوری که کاربرد ۳۰۰ میلی گرم از این ماده در شرایط تنش خشکی، حداکثر مقدار (۵۷/۴۸ درصد) این صفت را به دنبال داشت (جدول ۵). به طور کلی با افزایش فواصل آبیاری (افزایش رژیم آبیاری)، محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت.

درصد اسانس درصد اسانس تحت تأثیر فواصل آبیاری و اسیدهیومیک ( $P < 0/01$ ) قرار گرفت (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین درصد اسانس با میانگین ۰/۳۴ درصد مربوط به سطح سوم فاصله آبیاری (شش روز یکبار آبیاری) و کمترین آن با میانگین ۰/۱۸ درصد مربوط به سطح اول فاصله آبیاری (هر روز آبیاری) بود (جدول ۳). کاربرد ۳۰۰ میلی گرم در لیتر موجب افزایش معنی دار این صفت

گردید (Khazaie and Borzooei, 2006). امروزه برخی از محققان معتقدند که افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز تحمل گیاه را به تنش‌های محیطی افزایش می‌دهند (Guo et al., 2005). با افزایش سطح اسید هیومیک بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزوده شد (جدول ۳). نوع خاک و میزان ترکیبات هیومیکی موجود در خاک می‌تواند اثرات قابل توجهی داشته باشد به گونه‌ای که هرچه ترکیبات هیومیکی خاک بیشتر باشد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن بیشتر است (Rimmer, 2006).

با افزایش فواصل آبیاری میزان ترکیبات فنلی افزایش یافت. در همین ارتباط محققان در بررسی اثر غلظت‌های مختلف ورمی‌کمپوست و اسید هیومیک بر خصوصیات کمی و کیفی گل همیشه‌بهار دریافتند که غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک می‌تواند سبب افزایش ترکیبات فنلی گردد (Abedini et al., 2015). همچنین در شرایط تنش خشکی، به علت تضعیف سیستم ایمنی گیاه بادام‌زمینی (*Arachis hypogea*) مواد فنلی به همراه سایر آنزیم‌های دفاعی در مقاومت علیه میکروارگانیسم‌ها افزایش می‌یابند (Latha et al., 2007). همچنین در بررسی اثر تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلیکول در گندم مشخص شد که علت بالا رفتن سطوح ترکیبات فنلی، افزایش فعالیت و میزان آنزیم بیوستتزی فنل‌ها (فنیل آلانین آمونیا لیاز) است (Tian and Lei, 2006). در آزمایشی که در رابطه با تاثیر اسید هیومیک بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کیفیت میوه‌ی فلفل انجام شد، میزان ترکیبات فنلی تحت تاثیر اسید هیومیک قرار نگرفت ولی فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت (Aminifard et al., 2012). در این تحقیق نیز میزان ترکیبات فنلی تحت تأثیر تیمار ترکیبی فاصله

ارتفاع گیاه خواهد شد (Nakheinejad and Mosavi, 2017).

در ارتباط با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت تنش کم‌آبی، یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در گیاهان تحت شرایط تنش خشکی اتفاق می‌افتد، تجمع گونه‌های فعال اکسیژن ( $ROS^1$ ) است. در گزارش‌های متعددی بیان شده است که تنش خشکی میزان تولید ROS را افزایش می‌دهد. سلول‌های گیاهی قادرند از طریق القا سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بر شرایط تنش اکسیداتیو ایجاد شده تحت تنش غلبه کنند. بنابراین، توانایی برای به‌دام انداختن گونه‌های فعال اکسیژن یک راهکار سازشی در گیاهان است که گونه‌های گیاهی از آن برای مقابله با تنش اکسیداتیو استفاده می‌کنند (Foyer and Noctor, 2003). مقاومت گیاه به تنش‌های مختلف محیطی ممکن است با سطح فعالیت آنزیم‌های مسئول به‌دام انداختن رادیکال‌های آزاد اکسیژن مرتبط باشد. پاسخ آنتی‌اکسیدان‌ها به کمبود آب، به شدت تنش و نوع گونه گیاهی بستگی دارد. گونه‌های گیاهی مقاوم معمولاً ظرفیت حفاظتی کارآمدتری در مقابل تنش اکسیداتیو الفاشده توسط تنش کم‌آبی دارند که می‌تواند از طریق بالا بردن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش پیدا کند (Hosseini Boldaji et al., 2012). از جمله مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان تحت تنش خشکی، افزایش سطوح ترکیبات فنلی است، چراکه این‌گونه ترکیبات به‌عنوان پالاینده‌های گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن عمل کرده و در نتیجه سبب ثبات غشاهای سلولی و مانع از پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند (Chang et al., 2002). در تحقیقات صورت گرفته روی گندم مشخص شد که تنش خشکی به‌طور معنی‌داری سبب افزایش مقاومت روزنه‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در همه ژنوتیپ‌های گندم

## 1. Reaction oxygen species

در گیاه بنت‌گراس (*Agrostis stolonifera*) را افزایش داد (Ghorbani et al., 2010). نتایج مطالعه اثر اسیدهیومیک در شرایط تنش نشان داد که میزان تنظیم‌کننده‌های اسمزی همچون پرولین در بالاترین سطح تنش خشکی و محلول‌پاشی اسیدهیومیک به میزان ۱/۵ تا ۳ لیتر در هزار لیتر آب بیشترین مقدار را دارد (Heidari and Miri Azad Minaei, 2014). پرولین، اسیدآمینو ذخیره‌شده در سیتوپلاسم بوده و احتمالاً در حفاظت از ساختمان ماکرومولکول‌های درون سلول در طی تنش خشکی نقش مؤثری دارد. پرولین در واقع به‌عنوان یک شاخص در تعیین میزان حساسیت به تنش شوری و خشکی در گیاهان به‌شمار می‌رود. بالا رفتن میزان این ترکیب در بافت‌های گیاهان به‌نوعی بیانگر فعال شدن مکانیسم تنظیم اسمزی است که شرایط گیاه را برای جذب آب و املاح از محیط ریشه بهینه می‌کند.

همان‌گونه که از نتایج مشخص است با افزایش فواصل دور آبیاری، میزان قندهای محلول در گیاه آویشن ازدیاد یافت از طرف دیگر کاربرد اسیدهیومیک توانست به تجمع آن کمک کرده و در نتیجه مقاومت گیاه را به شرایط تنشی افزایش دهد. کربوهیدرات‌ها در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، تعرق و تنفس، نقش مستقیم داشته و از این‌رو تغییر در مقدار آن‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است. در گیاهان، قندهای طی فرآیند فتوسنتز تولید می‌شوند. نقش قندها به‌عنوان پیش‌ماده تولید مواد کربنی و انرژی شناخته شده است. حفاظت از گیاه در مقابل از دست دادن آب به افزایش قندها بستگی دارد. مطالعات نشان داده است که تنش خشکی تبدیل هگروزها و سایر کربوهیدرات‌ها مانند ساکارز و نشاسته را به الکل‌های قندی (پلی‌اول‌ها) و پرولین در پی دارد (Najaf Zadeh Asland Ehsanpour, 2012). توزیع مواد هیدروکربنی به‌طور مستقیم

آبیاری و کاربرد اسیدهیومیک قرار نگرفت و در مقابل فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت.

با افزایش فواصل دور آبیاری، میزان پرولین در گیاه آویشن افزایش یافت از طرف دیگر کاربرد اسیدهیومیک توانست به تجمع پرولین کمک کرده و در نتیجه مقاومت گیاه را به شرایط تنشی افزایش داد. در بسیاری از گیاهان ثابت شده است که تغییرات میزان پرولین با توانایی آنها برای تحمل یا سازش به شرایط تنش خشکی مرتبط است و می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای انتخاب گیاهان مقاوم به تنش خشکی استفاده شود (Niknam et al., 2006). هنگامی که گیاه در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرد، تجزیه پروتئین‌ها و در نتیجه افزایش آمینواسیدها و آمیدها تسریع می‌شود که یکی از این آمینواسیدها پرولین است (Kafi et al., 2009). همچنین هنگامی که گیاهان تحت تأثیر تنش‌ها قرار می‌گیرند، غلظت اسمولیت‌هایشان را افزایش می‌دهند تا جذب آب تحت شرایط تنش ادامه یابد. در بین اسمولیت‌های آلی، پرولین احتمالاً فراوان‌ترین و عمومی‌ترین ماده حل‌شده سازگار است که تجمع می‌یابد (Sanjarimijani et al., 2015). احتمالاً گیاه به دلایل یادشده پرولین خود را افزایش داده است. افزایش پرولین طی تنش خشکی در گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) نیز گزارش شده است (Babaei et al., 2010). همچنین بررسی اثر تنش خشکی و اسیدهیومیک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک چای‌ترش (*Hibiscuss abdarifa*) نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش تجمع پرولین می‌گردد (Sanjarimijani et al., 2015) که با نتایج تحقیق حاضر منطبق می‌باشد. همچنین اسیدهیومیک از طریق ایجاد شرایط مناسب برای افزایش محتوای نیتروژن گیاهان سبب افزایش عملکرد می‌شود و با بالا بردن میزان تولید ترکیبات آلی نیتروژن‌دار همانند پروتئین و اسیدهای آمینه سرعت رشد و تولید بیوماس

تحت تأثیر تنش‌هایی نظیر کمبود آب و به‌طور غیرمستقیم تحت تأثیر هورمون‌های گیاهی قرار می‌گیرد. کاربرد اسیدهیومیک به دلیل افزایش فتوسنتز و تولید هیدرات‌های کربن تحمل گیاه را به شرایط تنش افزایش می‌دهد (Sanjarimijani et al., 2015). از طرف دیگر اسیدهیومیک دارای فعالیت شبه‌هورمونی است و جذب عناصر معدنی همانند سفر و پتاسیم را در گیاهان افزایش می‌دهد که این امر نیز به نوبه خود سبب بهبود در فتوسنتز و افزایش مقدار قندهای تولیدی خواهد شد (Thi Lua and Bome, 2001). اسیدهیومیک در تیمار کامل آبیاری گیاه آکاسیا (*Acaciasaligna*) بیشترین مقدار کربوهیدرات برگ را تولید کرد (El-khateeb et al., 2011) که با نتایج آزمایش حاضر از بعد تاثیر اسیدهیومیک مطابقت دارد.

طبق نتایج بدست آمده درصد اسانس با عرضه آب قابل استفاده رابطه عکس نشان داد، بدین ترتیب که در همه اندام‌های گیاهی با افزایش مقدار آب در دسترس درصد اسانس کاهش یافت و در تیمارهایی که هر روز آبیاری شده بودند و یا به نوعی فاصله آبیاری اعمال نشده بود، کمترین درصد اسانس مشاهده شد. دلایل اثبات شده‌ای مبنی بر نحوه واکنش متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی به تنش خشکی وجود ندارد. تنها دو فرضیه در مورد نحوه تأثیر شرایط محیطی بر متابولیت‌های ثانویه این گیاهان تکوین یافته است. فرضیه اول با عنوان موازنه کربن-عناصر غذایی (CNB)، میزان هزینه کربن برای تولید متابولیت‌های ثانویه را به‌عنوان موازنه بین فتوسنتز و رشد توضیح می‌دهد (Kafi et al., 2009). بر اساس این فرضیه هنگامی که عناصر غذایی در دسترس باشند گیاه کربن را برای رشد اختصاص می‌دهد. کمبود عناصر غذایی رشد را بیش از فتوسنتز محدود می‌کند و منجر به تشکیل هیدرات‌های کربنی

می‌شود که متابولیت ثانویه کربن‌دار را تولید می‌کنند. فرضیه دوم یا موازنه رشد-تمایز، عنوان می‌کند تا زمانی که شرایط اجازه رشد و تقسیم سلولی را بدهد کربن صرف رشد می‌شود. با وقوع تنش کم‌آبی رشد متوقف شده، سلول‌ها تمایز یافته و مخازن متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند. گیاه کربن را به تولید مواد مؤثره دارویی اختصاص می‌دهد. هر کمبودی که رشد را بیش از فتوسنتز محدود کند، تولید متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد (Soltaninejad et al., 2013). در همین ارتباط بررسی اثر کودهای زیستی بر اسانس گیاه دارویی بادرشوبیه (*Dracoecephalum moldivica* L.) تحت شرایط رژیم‌های کم‌آبی نشان داد که افزایش تنش خشکی تا ۶۰٪ ظرفیت زراعی سبب افزایش درصد اسانس گردید (Gorgini Shabankarehet et al., 2015) که با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر مطابقت دارد. نتایج این تحقیق نشان داد که برای دسترسی به درصد بالای اسانس در گیاه آویشن که سبب افزایش کیفی محصول می‌شود، اعمال تنش رطوبتی می‌تواند مناسب باشد. تصور بر این است که در شرایط وقوع تنش خشکی و کم‌آبی، میزان تولید مواد مؤثره به دلیل جلوگیری از اکسیداسیون درون سلولی افزایش می‌یابد و از طرف دیگر با کاهش سطح اندام رویشی در اثر تنش خشکی، تعداد غده‌های مترشحه اسانس افزایش می‌یابد، در نتیجه میزان اسانس افزایش خواهد یافت (Najaf Zadeh Asl and Ehsanpour, 2012). در تحقیق صورت گرفته روی چای ترش در شرایط تنش خشکی مشخص شد که بیشترین میزان اسانس از تیمار آبیاری ۴۰ درصد ظرفیت‌زراعی بدست آمد (Sanjary-Mijani, al., 2015). همچنین محققان در گزارشی نشان دادند که کاربرد اسیدهیومیک تا ۳ کیلوگرم در هکتار سبب افزایش میزان اسانس در گیاه

محدودکننده غیرروزنه‌ای در شرایط تنش فرار می‌کند. در تحقیقی دیگر بررسی کاربرد کودهای زیستی در شرایط تنش خشکی بر روی گیاه کلزا نشان داد که افزایش سطح تنش (ملایم و شدید) سبب کاهش میزان محتوای نسبی آب برگ نسبت به آبیاری نرمال گشت که کاربرد چهار درصد کود زیستی ورمی‌کمپوست در شرایط آبیاری ملایم و شدید باعث افزایش محتوای نسبی آب و عملکرد گیاه گردید (Mirzaee et al., 2013). بررسی نتایج این پژوهش نشان داد که با کاربرد اسیدهیومیک از اثرات تنش خشکی کاسته می‌شود که همبستگی مثبت بین میزان محتوای نسبی آب برگ و رطوبت خاک را می‌توان به مصرف کودهای زیستی ربط داد چرا که اسیدهیومیک از یک طرف با بهبود خواص فیزیکی خاک، ایجاد فضای بیشتر برای نفوذ آب با اصلاح و دانه‌بندی خاک و از طرف دیگر با برقراری پیوند با مولکول‌های آب برای ممانعت از تبخیر آب، سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ در شرایط تنش خشکی می‌گردد (Rahbarian et al., 2010). همچنین با افزایش بهبود ساختمان خاک، تحریک بیشتر رشد گیاه را به‌دنبال دارد و از آن‌جاکه مکانیسم اثر اسیدهیومیک در گسترش ریشه و در نتیجه قابلیت جذب آب و عناصر غذایی کاراست، می‌توان تأثیر مثبت آن را انتظار داشت (Nasouti Miandoab et al., 2010).

#### نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج به‌دست آمده از مطالعه پیش‌رو می‌توان اظهار داشت که در راستای کاهش مصرف کودهای شیمیایی و نیل به اهداف کشاورزی پایدار می‌توان بخش زیادی از اثرات تنش خشکی بر گیاه آویشن را با کاربرد اسید هیومیک تعدیل نمود. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش فاصله آبیاری، از میزان ارتفاع بوته، وزن تازه و خشک

دارویی زنیان (*Carum copticum* (L.)C.B. Clarke) گردید (Barghamadiand Najafi, 2015).

در نتایج این طرح مشخص شد که با افزایش تنش کم‌آبی، میزان محتوی نسبی آب برگ کاسته شد ولی کاربرد اسیدهیومیک توانست تاحدی این کاهش را جبران نموده و سبب افزایش آن و در نتیجه مقاومت گیاه به شرایط کم‌آبی گردد. محتوای آب برگ، یک شاخص مناسب برای تنش آبی گیاه است. تنش خشکی با کاهش RWC و پتانسیل کل آب سبب کاهش رشد گیاهان می‌شود. سازوکار تنظیم اسمزی در گیاهان متحمل به خشکی، سبب حفظ و بالا نگه داشتن RWC در گیاه می‌شود. در آزمایشی محققین روی گیاه بادرشبی (*Dracocephalum moldavica*) نشان دادند با افزایش شدت تنش آبی، میزان محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت (Rahbarian et al., 2010). همچنین نتایج تحقیقات روی گیاه ارزن دم‌روباهی (*Setaria italica*) نشان داد که با کاهش میزان آبیاری، میانگین صفت محتوای آب نسبی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (Chehelgerdi et al., 2015). در همین راستا گزارش شده که بالاترین RWC در گیاه تاج‌خروس (*Amaranthus retroflexus*) در گیاه شاهد (۹۴/۰۷ درصد) و کمترین آن تحت شرایط تنش کم‌آبی شدید (۶۴/۰۳ درصد) کاهش یافته است (Cunhua et al., 2011). تنش خشکی، سبب کاهش RWC، پتانسیل کل آب و کاهش رشد گیاهان می‌شود. سازوکار تنظیم اسمزی در گیاهان متحمل به خشکی، سبب حفظ و بالا نگه‌داشتن RWC در گیاه می‌شود. در یک بررسی، تنش خشکی موجب کاهش محتوای نسبی آب گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) شد (Abbaszadeh et al., 2008) که نتایج آزمایشات فوق با نتایج به‌دست آمده در طرح حاضر مطابقت دارد. بنابراین به‌نظر می‌رسد گیاه مقاوم خرفه با حفظ مقادیر زیاد RWC به‌نحوی از عوامل

حفاظتی و تعدیل‌کنندگی کاربرد اسیدهیومیک بر تنش خشکی را می‌توان، به تأثیر مثبت آن در بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاهان و تنظیم اسمزی تحت رژیم آبیاری نسبت داد و مهم‌تر آن‌که کاربرد آن به‌جای کودهای شیمیایی، می‌تواند نویدبخش کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی در آینده باشد.

گیاه و محتوای آب نسبی کاسته می‌شود و در مقابل، محتوای پرولین، ترکیبات فنلی، درصد اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد که نوعی سازگاری گیاه با شرایط تنش محسوب می‌شود، اما وابستگی گیاهان در این شرایط به ترکیباتی مانند پرولین نیز برای گیاه هزینه‌بر است. به‌طورکلی نقش

## References

- Abbaszadeh, B., Sharifi ashourabadi, E. Lebaschi, M.H, Naderi hajibagher Kandy, M. and Moghadami, F. (2008).** The effect of drought stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of balm (*Melissa officinalis* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 4 (23): 504-513. (In Persian)
- Abedi, T. and Pakniyat, H. (2010).** Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassic napus* L.). Czech Journal. Genetic Pl. Breed, 46: 27-34.
- Abedini, T., Moradi, P. and Hani, A. (2015).** Effect of organic fertilizer and foliar application of humic acid on some quantitative and qualitative yield of Pot marigold. Journal of Novel Applied Sciences, 4(10):1100-1103.
- Ahmadpoor Dehkordi, E. and Tadayon, M.R. (2015).** The effect of irrigation with urban wastewater and applied fertilizer type on quantitative and qualitative traits of sugar beet. Journal of Water and Soil Science, 8 (2): 97-116. (In Persian)
- Aminifard, M. H., Aroiee, H., Azizi, M., H. Nemat and H. Z. Jaafar. (2012).** Effect of humic acid on antioxidant activities and fruit quality of hot pepper (*Capsicum annuum* L.). Journal of herbs, spices & medicinal plants, 18(4): 360-369.
- Babaei, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S.A.M. and Jabari, R. (2010).** Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of thyme (*thymus vulgaris* l.) iranian journal of medicinal and aromatic plants, 2 (48): 239 - 251. (In Persian)
- Barghamadi, K. and Najafi, S. (2015).** Effect of different levels of nitroxin and humic acid on quantitative properties and essential oil of Ajowan (*Carum copticum* (L.) C. B. Clarke). Journal of Horticulture Science, 321-341. (In Persian)
- Bates, S., Waldern, R.P. and Teare, E.D. (1973).** Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soli, 39: 205-207.
- Brahmi, C., Kopp, C., Domart-Coulon, I., Stolarski, J. and Meibom, A. (2012).** Skeletal growth dynamics linked to trace-element composition in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis*. Geochimica et Cosmochimica Acta, 99: 146-158.
- Chang, W.C., Kim, S.C., Hwang, S.S., Choi, B.K. and Kim, S.K. (2002).** Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. Plant Science, 163: 1161-1168.
- Chehelgerdi, A., Saffari, M. and Abdolshahi, A. (2015).** Effect of super absorbent polymer, potassium sulphate and farmyard manure on physiological characteristics of millet (*Setaria italica*) under optimum irrigation and drought stress conditions. Electronic Journal of Crop Production, 7 (2): 43-60. (In Persian)
- Cunhua, S., Jian-jie, S., Dan, W., Bai-Wei, L. and Dong, S. (2011).** Effects on physiological and biochemical characteristics of medicinal plant pig weed by drought stresses. Journal of

- Medicinal plants Research, 5: 4041-4048.
- 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.
- Davis, P.H. (1982).** Flora of Turkey and the East Aegean Islands. University Press, Edinburgh 7: 320-354.
- Delfine, S., Tognetti, R., Desiderio, E. and Alvino, A. (2005).** Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. Agronomy for Sustainable Development, 25: 183-191.
- El-khateeb, M.A., El-lethy, A.S. and Alyemaa, B.A. (2011).** Effect of mycorrhizal fungi inoculation and humic acid on vegetative growth of acacia (*Saligna iabill*). Horticultural Science, 3(3): 283-289.
- Foyer, C. and Noctor, G. (2003).** Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. Physiologia Plantarum. 119: 355-364.
- Ghorbani, S., Khazaie, H.R., Kafi, M. and Bannayan Aval, M. (2010).** Effects of humic acid application with irrigation water on yield and yield components of corn (*Zea mays* L.) Journal of Agroecology, 2(1) 111-118. (In Persian)
- Gorgini Shabankareh, H., Asgharipour, M.R., and Fakheri B.A. (2015).** The effect of bio fertilizers on some growth parameters and essential oil of Moldavian dragonhead under drought condition. Journal of Plant Ecophysiology, 7(23): 185-194. (In Persian)
- Guo, Z., Tan, H., Zhu, Z., Lu, S. and Zhou, B. (2005).** Effects of intermediates on ascorbic acid and oxalate. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 1(3): 210-215.
- Heidari, M. and Miri Azad Minaei, H.R. (2014).** Antioxidant enzymes activity and biochemical components of borage (*Borago officinalis*) in response to water stress and humic acid treatment. Environmental Stresses in Crop Sciences, 6(2): 159-170. (In Persian)
- Hosseini Boldaji, S.A., Khavari-Nejad, R.A., Hassan Sajedi, R., Fahimi, H., and Saadatmand, S. (2012).** Water availability effects on antioxidant enzyme activities lipid peroxidation, and reducing sugar contents of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Acta Physiologia Plantarum, 34: 1177-1186.
- Kafi, M., Borzoei, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masoomi, A. and Nabati. J. (2009).** The physiology of environmental stress in plants. Jahad-e Daneshgahi Press, Mashad: Iran (In Persian).
- Khazaie, H.R. and Borzoei, A. (2006).** Effects of water stress on antioxidant activity and physiological characteristics of wheat. The first international conference on the theory and practices in Biological Water Saving (ICTPB) Beijing China.
- Latha, P., Sudhakar, P. and Sreenivasula, Y. (2007).** Relationship between total phenol and aflatoxin production of peanut genotypes under end-of-season drought conditions. Acta Physiology Plant, 29: 563-566.
- Mohammad Hosein Lebaschi, M. H., Sharifi Ashoorabadi, E., Makizadeh Tafti, M. and Asadi-Sanam, S. (2018).** Effect of plant density on quality and quantity yield of *Thymus vulgaris* in dry farming conditions in seven provinces of Iran. Crops Improvement (Journal of Agricultural Crops Production), 20 (1). (In Persian)
- Mirzaee, M., Moieni, A. and Ghanati, F. (2013).** Effect of drought stress on proline and soluble sugar content in canola (*Brassica napus* L.) seedlings. Iranian Journal of Biology, 26(1): 90-98. (In Persian)
- McDonald, R.P. and Ho, M.H.R. (2002).** Principles and practice in reporting structural equation analyses. Psychological methods, 7 (1), 64.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. and Van Beek, T.A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food chemistry, 85(2), 231-237.

- Mirhajian, A. (2011).** What is humic acid? Monthly News Analysis. Agricultural Engineering, 33:7-16.
- Mohammadpour Vashvaei, R., Galavi, M., Ramroudi, M. and Fakheri, B.A. (2015).** Effects of drought stress and biofertilizers inoculation on growth, essential oil yield and constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.). Journal of Agroecology, 7 (2):237-253. (In Persian)
- Najaf Zadeh Asl, S. and Ehsanpour, A. (2012).** Effect of drought stress on some physiological parameters of two potato cultivars (Kenebec and Concord) under in vitro culture condition. Arid Biome Scientific and Research Journal (2)1: 70-82. (In Persian)
- Nakheinejad, B. and Mosavi, G.R. (2017).** Effect of irrigation interval, humic acid and sulfur fertilizer on morphological and yield traits of fenugreek (*Trigonella foenum-gracum* L.). Journal of Plant Ecophysiology 8(30):40-51.
- Nasouti Miandoab, R., Samavat, S. and Tehrani, M.M. (2010).** Humic acid properties on plant and soil. Agriculture and Food, 101: 53-55. (In Persian)
- Nasr Esfahani, M. (2013).** Effect of dry stress on growth and antioxidant system in three chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. Journal of Plant Biology, 5(15): 111-124. (In Persian)
- Niknam, V., Razavi, N., Ebrahimzadeh, H. and Sharifizadeh, B. (2006).** Effect of NaCl on biomass, protein and proline contents and antioxidant enzymes in seedlings and calli of two *Trigonella* Species. Biologia Plantarum, 50 (4): 591-5
- Omokolo, N.D., Nankeu, D.J., Niemenak, N. and Djocgoue, P.F. (2002).** Analysis of amino acids and carbohydrates in the cortex of nine clones of *Theobroma cacao* L. in relation to their susceptibility to *Phytophthora megakarya* Bra. and Grif. Crop Protection, 21(5): 395-402.
- Rahbarian, P., G. Afsharmanesh and M.H. Shirzadi. (2010).** Effects of drought stress and manure on relative water content and cell membrane stability in dragonhead (*Dracocephalum moldavica*). Scientific Journal of Plant Ecophysiology, 2(1): 13-19.
- Rimmer, D.L. (2006).** Free radicals, antioxidants, and soil organic matter recalcitrance. Eur. J. Soil Sci., 57:91-94.
- Sabzevari, S., Khazaie, H.R. and Kafi, M. (2009).** Effect of humic acid on root and shoot growth of two wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) Journal of Water and Soil, 23(2): 87-94. (In Persian)
- Sanjary-Mijani, M., Syrosmehr, A. and Fakhery, B. (2015).** Effect of drought stress and humic acid on some physiological characteristics of hibiscus (*Hibiscus sabdarifa*). Crops Improvement, 2: 403-414.
- Soltaninejad, F., Fallah, S. and Heidari, M. (2013).** Effect of different sources and rates of nitrogen fertilizer on the growth and biomass production of purslane (*Portulaca oleracea*). Electronic Journal of Crop Production, 6 (3): 125-143. (In Persian)
- Thi Lua, H. and Bome, M. (2001).** The influence of humic acid on tomato in hydroponic system. Acta Horticulturae, 548,451-458.
- Tian, X and Lei, Y. (2006).** Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. Biologia Plantarum, 50(4):775-778.
- Yamasaki, S. and Dillenburg, L.R. (1999).** Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal. 11(2): 69-75.