



بررسی تأثیر تنش رطوبتی و تراکم بوته بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک و کارایی مصرف آب در دو اکوتیپ از گیاه زوفایی (*Thymbra spicata* L.)

فاطمه ملک ملکی^۱، نصرت اله عباسی^۲، محمد جواد زارع^۳، ابراهیم شریفی عاشورآبادی^۴

دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۳ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۴

چکیده

جهت بررسی تغییرات برخی از خصوصیات فیزیولوژیک و کارایی مصرف آب دو اکوتیپ از گیاه دارویی زوفایی (*Thymbra spicata* L.)، در پاسخ به تغییر تنش رطوبتی و تراکم بوته، آزمایشی در قالب طرح اسپلیت فاکتوریل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار و در دو سال زراعی (۹۵-۹۶ و ۹۶-۹۷) در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه ایلام اجرا گردید. در این آزمایش کرت‌های اصلی شامل سه سطح تنش رطوبتی (تیمار بدون تنش، تنش ملایم و تنش شدید) و کرت‌های فرعی شامل تیمارهای تراکم بوته (به ترتیب ۶، ۸ و ۱۲ بوته در مترمربع) و دو اکوتیپ بومی از گیاه زوفایی از ارتفاعات زاگرس ایلام (سومار و ملکشاهی) بودند. براساس نتایج حاصل از این آزمایش رنگیزه‌های فتوسنتزی (a، b و کل)، کارتنوئید، آنتوسیانین، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، پرولین و کارایی مصرف آب به صورت معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای تنش رطوبتی، تراکم و اکوتیپ قرار گرفتند. به طوری که بیشترین میزان محتوای کلروفیل a در تیمار بدون تنش و تنش ملایم در تراکم ۶ و ۸ بوته در مترمربع، کلروفیل b در تیمار تنش رطوبتی ملایم، تراکم ۸ بوته در مترمربع و کلروفیل کل در سطح بدون تنش و تنش ملایم و تراکم ۸ بوته در مترمربع طی سال اول اجرای آزمایش مشاهده شد. افزایش تراکم بوته و شدت تنش رطوبتی منجر به کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. بیشترین محتوای کارتنوئید در سطح تنش رطوبتی ملایم، تراکم ۸ و ۱۲ بوته در مترمربع طی سال اول اجرای آزمایش مشاهده شد. بیشترین محتوای آنتوسیانین در سطح تنش رطوبتی ملایم، تراکم ۸ بوته در مترمربع، فنول کل و فلاونوئید در سطح تنش رطوبتی شدید، تراکم ۱۲ بوته در مترمربع مشاهده شد. بیشترین میزان پرولین در گیاه در سال دوم آزمایش در سطح تنش رطوبتی شدید و تراکم ۱۲ بوته در مترمربع مشاهده شد. افزایش شدت تنش رطوبتی و تراکم بوته منجر به افزایش کارایی مصرف آب در گیاه زوفایی شد. اکوتیپ ملکشاهی از محتوای بیشتری از رنگیزه‌های فتوسنتزی، کارتنوئید و کارایی مصرف آب بیشتری در مقایسه با اکوتیپ سومار برخوردار بود.

واژه‌های کلیدی: محتوای کلروفیل، آنتوسیانین، فنول کل، فلاونوئید، پرولین

ملک ملکی، ف.، ن. عباسی، م.ج. زارع، ا. شریفی عاشورآبادی. ۱۴۰۱. بررسی تأثیر تنش رطوبتی و تراکم بوته بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک و کارایی مصرف آب در دو اکوتیپ از گیاه زوفایی (*Thymbra spicata* L.). ۱۴(۵۰): ۲۷-۵۷.

۱- دکتری اکولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، ایلام، ایران- مسئول مکاتبات:

malekmaleky_f@yahoo.com

۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۳- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۴- دانشیار بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

مقدمه

خانواده نعناع (*Lamiaceae*) یکی از بزرگ ترین تیره های گیاهی است که دارای پراکنش جهانی است. تاکنون بیش از ۲۰۰ جنس و ۴۰۰۰ گونه متعلق به خانواده نعناع شناخته شده است (سلماسی و همکاران، ۲۰۰۹). گیاه زوفایی (*Thymbra spicata* L.) از جنس تیمبرا (*Thymbra*) به خانواده نعناعیان (*Lamiaceae*) تعلق دارد. زوفایی از گیاهان دارویی و آروماتیک بومی استان ایلام و یکی از ۲۰ گونه گیاهی است که در لیست گونه های در حال انقراض قرار گرفته است. این گیاه به صورت بوته های چندساله در مناطق کوهستانی، تپه ها و مناطق آفتابی باز و در نواحی نیمه خشک و گرم و کوهستانی و در ارتفاعات ۴۲۰ تا ۱۱۶۰ متری استان رویش دارد (نادری و همکاران، ۱۳۹۵). از مهم ترین ترکیبات این گیاه دارویی کارواکرول (۳۴/۹ درصد)، گاماترپینن (۲۵/۶ درصد)، پاراسیمین (۹/۱ درصد)، آلفا ترپینن (۶/۹ درصد)، توجن (۵/۲ درصد)، ترنس کاریوفیلین (۵/۱ درصد) و بتا میرسن (۴/۸ درصد) گزارش شده است (کلپیک، ۲۰۰۶). اسانس گیاه خاصیت ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد باکتریایی دارد (کلپیک، ۲۰۰۶؛ دوگان و همکاران، ۲۰۰۷؛ برکت و همکاران ۲۰۱۳؛ یوسل و همکاران، ۲۰۱۵؛ تانسر و همکاران ۲۰۱۶). این گیاه به عنوان ادویه و در طب سنتی در درمان آسم، دل درد، برونشیت، سرماخوردگی، سرفه، اسهال، سردرد، دندان درد، رماتیسم و به عنوان ضد عفونی کننده زخم استفاده می شود (کیزل و همکاران، ۲۰۱۶؛ یوسل و همکاران، ۲۰۱۵؛ تانسر و همکاران، ۲۰۱۶).

خشکسالی، بارندگی نامنظم و کاهش دسترسی به آب آبیاری، عوامل اصلی محدود کننده تولید محصولات زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک جهان است (علی و همکاران، ۲۰۱۹). تنش خشکی یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده عملکرد محصولات زراعی، کیفیت مواد غذایی و امنیت جهانی غذا در سراسر جهان است (چنگ و همکاران، ۲۰۱۸). کمبود آب علاوه بر کاهش رشد و عملکرد گیاهان (ابراهیمیان و همکاران، ۲۰۱۹) باعث تغییرات چشم گیر در فعالیت های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی (فتوستتوز، تنفس، تعرق، متابولیسم هورمون و فعالیت آنزیم ها) در بیشتر گیاهان می گردد (اکونولا و همکاران، ۲۰۱۷). به طور کلی کمبود آب اثرهای نامطلوبی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه همانند فتوستتوز، جذب عناصر غذایی، توسعه سلول، تقسیم سلولی، تجمع و انتقال مواد غذایی دارد (دنوراین و همکاران، ۲۰۱۶). کمیت و کیفیت ترکیبات موثره در گیاهان دارویی که تعیین کننده عملکرد نهایی این محصولات است

توسط عوامل محیطی مانند دما، نور و آب در دسترس به شدت تحت تاثیر قرار می گیرد (کلاین و اچر و همکاران، ۲۰۱۴). تنش خشکی باعث تخریب و شکسته شدن کلروپلاست ها و کاهش میزان کلروفیل شده و فعالیت آنزیم ها در چرخه کالوین را کاهش می دهد که در نهایت منجر به کاهش رشد سبزینه و عملکرد گیاه می شود (موناکو و چرنیادف، ۲۰۰۲). در شرایط تنش خشکی، رادیکال های آزاد اکسیژن از طریق تجمع انرژی باعث اثرات فوتواکسیداتیو و آسیب به ساختار گیاه می گردد (بریتو و همکاران، ۲۰۱۹). کلروفیل رنگدانه عمده و برجسته گیاهی می باشد که ظرفیت و پتانسیل رشد گیاه و شاخص سطح تنش را تعیین می کند، تنش آب در هنگام خشکی می تواند مقدار کلروفیل a و کلروفیل b را در گیاهان تغییر می دهد و منجر به تغییر در ظرفیت فتوستتوزی گردد (میائو و همکاران، ۲۰۱۵). داشتن پتانسیل بالای فتوستتوزی در شرایط تنش باعث کمک به رشد گیاهان می گردد و اهمیت محتوای کلروفیل در گیاهان را بیان می کند (کانگ و همکاران، ۲۰۱۴). در بررسی تاثیر تنش خشکی بر ارقام مختلف یونجه گزارش شد که تنش خشکی ملایم (۰/۳-مگاپاسکال) محتوی کلروفیل را تغییر نداد اما در همه ارقام یونجه در تنش شدید (۱ مگاپاسکال) محتوی کلروفیل کاهش بسیار شدیدی نشان داد (مولر و همکاران، ۲۰۱۶). در بررسی تاثیر تنش خشکی بر گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*)، آویشن دنایی (*Thymus daenensis*)، گلرنگ (*Carthamus tinctorius*)، کلزا (*Brassica napus*) گزارش شد که تنش خشکی منجر به کاهش معنی دار محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید در برگ گیاه گردید در حالی که میزان پرولین را افزایش داد (امامی بیستگامی و همکاران، ۲۰۱۷؛ دامالاس، ۲۰۱۷؛ چاوشی و همکاران، ۲۰۲۰؛ خدایی و همکاران ۲۰۲۰). در تحقیقات دیگری نیز گزارش شد که در شرایط تنش خشکی میزان کارتنوئیدها در گیاه به دلیل نقش آنتی اکسیدانی آن در حفاظت از رنگدانه های فتوستتوزی افزایش یافت (نواب پور و همکاران، ۱۳۹۴؛ تران و همکاران، ۲۰۲۰؛ فرخ و عمر، ۲۰۲۰).

ترکیبات فنلی گروه بزرگی از متابولیت های ثانویه هستند که خاصیت آنتی اکسیدانی قوی دارند، این ترکیبات به پنج گروه تقسیم می گردند که شامل فلاونوئیدها، فنولیک اسید، کومارین، تانن و لیگنین هستند. فلاونوئیدها به عنوان آنتی اکسیدان های پاک کننده رادیکال های آزاد اکسیژن و گونه های نیتروژن واکنشی شناخته شده اند (دوتی و موریس، ۲۰۱۲). این ترکیبات از مهم ترین عناصر تشکیل دهنده دفاعی سلول هستند که در

سیستم ریشه ی زیر زمین برای آب و مواد غذایی می‌گردد (مدونی و اتاقی، ۲۰۰۶). تراکم گیاهی یکی از مهم ترین فاکتورهای زراعی در عملکرد دانه و کارایی مصرف آب است (جیانگ و همکاران، ۲۰۱۸) و معمولا افزایش تراکم باعث بهبود دریافت تشعشعات نوری (وست گیت و همکاران، ۱۹۹۷) و افزایش فتوسنتز کانونی و بیوماس بیشتر می گردد (کوتو و همکاران، ۲۰۱۳). تعیین تراکم مناسب به عوامل مختلفی مانند در دسترس بودن آب، حاصلخیزی خاک بستگی دارد (آرژانتا و همکاران، ۲۰۰۱). کارایی مصرف آب یکی از خصوصیات مهم فیزیولوژیکی می باشد و نشان دهنده توانایی گیاه در مقابله با کمبود آب است که معمولا توسط عوامل آب و هوایی، عوامل زراعی و عوامل گیاهی تحت تأثیر قرار می گیرد (نصیری و همکاران، ۲۰۰۳). در تمام ارقام ریحان (*Ocimum basilicum*) بیشترین کارایی مصرف آب در پایین ترین سطح تیمار آبیاری مورد استفاده (۴۰٪ مورد نیاز خالص) بدست آمد (کلامارتیس و همکاران، ۲۰۲۰). تراکم گیاهی بر عملکرد، کیفیت و کارایی مصرف آب تاثیر گذار است، در تحقیقی در اردن به منظور بررسی تاثیر تراکم بر کارایی مصرف آب در سیب زمینی (*Solanum tuberosum*) بالاترین کارایی مصرف آب (۱۱/۹ کیلوگرم در مترمربع) در بالاترین سطح تراکم بدست آمد (بنی هانی و همکاران، ۲۰۱۸).

باتوجه به اینکه بیشتر مناطق ایران دارای آب و هوای خشک و نیمه خشک هستند و همین طور اهمیت کاشت گیاهان دارویی در این مناطق به عنوان گیاهانی مقاوم به خشکی، شناخت سازوکار مقابله با تنش خشکی و تشخیص اثر تنش بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه برای افزایش متابولیت های ثانویه، از گام های نخست به شمار می آید. انتخاب تکنیک‌های مدیریتی مناسب تولید محصولات زراعی از جمله تراکم کاشت، به‌منظور بهره‌مندی از شرایط محیطی برای افزایش پتانسیل تولید در گیاهان بسیار مهم است. به طور کلی بررسی روند فتوسنتز و میزان پایداری گیاه در شرایط تنش خشکی می تواند دیدگاه های فیزیولوژیک مناسبی را برای محققان در توجیه رفتار گیاه در مواجهه با تنش خشکی فراهم سازد. در همین راستا این پژوهش به منظور بررسی اثر تنش رطوبتی و تراکم بوته بر خصوصیات فیزیولوژیک دو اکوتیپ بومی از گیاه دارویی زوفایی انجام گرفت.

تنش های زنده و غیرزنده در مراحل رشد و نمو و تولید مثلی گیاهان در برابر رادیکال های آزاد تولید می شوند (رحیمی و همکاران، ۲۰۱۸؛ چنگ و همکاران، ۲۰۱۸؛ رضایی و قاسمی پیربلوطی، ۲۰۱۹). در گیاه دارویی گل ماهور (*Verbascum songaricum Schrenk.*) با افزایش شدت تنش خشکی، میزان ترکیبات فنولی و پلی فنول کل افزایش یافت به نحوی که در سطح تنش شدید (۳۰fc) بیشترین میزان پلی فنول کل حاصل شد (قهرمانی و همکاران، ۲۰۲۰). با افزایش تنش خشکی محتوی فنول در گیاه دارویی زیره سبز (*Cuminum cyminum L.*) افزایش یافت (پیشاور و همکاران، ۲۰۲۰). با افزایش تنش خشکی در لاین‌های ذرت غلظت پلی فنل کل افزایش یافت (نصراله زاده اصل و همکاران، ۱۳۹۶). پاسخ‌های سلولی و فیزیولوژیکی برای کاهش آسیب‌های سلولی در طی تنش خشکی از طریق املاح آلی مانند پرولین که یک تنظیم کننده اسمزی است، صورت می‌گیرند (مرواد و همکاران، ۲۰۱۸) که به عنوان مکانیسم های تحمل در شرایط تنش کمبود آب می باشند (وو و همکاران، ۲۰۱۶). اسمولیت‌های سازگار شامل گلاسیسین بتائین، قندها و پرولین، که در قسمت‌های مختلف گیاه وجود دارند، در شرایط تنش‌زا از طریق حفظ pH سیتوزول، افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های مختلف، حفاظت از مولکول‌ها و کنترل پتانسیل ردوکس بین سلولی از گیاهان محافظت می‌کنند (کارسون و همکاران، ۲۰۲۰). میزان پرولین در گیاه نوروبوک (*Salvia leriifolia*) تحت تنش اسمولیت ها (پلی اتیلن گلایکول) افزایش یافت (حسینی و همکاران، ۲۰۲۰). در گونه گیاهی گل پریش (*Catharanthus roseus*) در تیمار تنش خشکی شدید میزان پرولین نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی داری نشان داد (الحیسول و همکاران، ۲۰۲۰). با افزایش شدت تنش رطوبتی میزان پرولین در گیاه سورگوم (*Sorghum bicolor L.*) افزایش یافت، به طوری که بیشترین میزان آن در بالاترین سطح تنش رطوبتی حاصل شد (الدرفارسی و همکاران، ۲۰۱۶).

تراکم کاشت و الگوی کاشت از مهم ترین ابزارهای مدیریتی جهت دستیابی به حداکثر عملکرد محصولات زراعی از طریق استفاده بهینه از منابع مانند نور، مواد مغذی، آب و کاهش تبخیر از سطح خاک می باشد (ماگولا و همکاران، ۲۰۱۹). تراکم های مختلف کاشت باعث تغییر در فعالیت جذب نور، دما، گرما و فعالیت آنزیم های متابولیسمی در قسمت های مختلف کانونی گردد (کاگوا-آسیمو و همکاران، ۲۰۱۳). افزایش تراکم گیاهی باعث ایجاد رقابت بین گیاهان برای نور و فضای رشد و یا

مواد و روش‌ها

مشخصات طرح آزمایشی و عملیات کاشت

به منظور بررسی برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو اکوتیپ از گیاه دارویی زوفایی (*Thymbra spicata* L. در پاسخ به تیمار تنش رطوبتی و تراکم کاشت، آزمایشی مزرعه ای در دو سال زراعی ۱۳۹۵-۱۳۹۶ و ۱۳۹۶-

۱۳۹۵ در مزرعه آموزشی- تحقیقاتی دانشگاه ایلام انجام گرفت. منطقه محل آزمایش دارای عرض جغرافیایی ۳۳ درجه و ۳۷ دقیقه و طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۲۸ دقیقه با ۱۱۷۴ متر ارتفاع از سطح دریا بود. آب و هوای منطقه نیمه مرطوب با تابستان گرم و زمستان نسبتاً سرد بود. داده‌های هواشناسی این منطقه در جدول (۱) آمده است.

جدول ۱- شرایط اقلیمی محل انجام آزمایش در طول دوره رشد گیاهان

ماه های سال	میانگین دما (درجه سانتی‌گراد)		رطوبت نسبی (درصد)		بارندگی (میلی‌متر)	
	۱۳۹۵	۱۳۹۶	۱۳۹۵	۱۳۹۶	۱۳۹۵	۱۳۹۶
فروردین	۱۲	۱۳/۲	۵۹	۶۳	۱۵۶/۱	۱۴۰
اردیبهشت	۲۰	۱۹/۹	۴۶	۳۸	۳۰/۶	۱۹/۹
خرداد	۲۳/۴	۲۴/۴	۲۶	۲۴	۰	۰
تیر	۲۹/۷	۳۰	۱۸	۱۹	۰	۰
مرداد	۳۰/۴	۳۱/۲	۱۵	۱۷	۰	۰
شهریور	۲۷/۴	۲۸/۶	۱۷	۱۷	۰	۰
مهر	۲۰/۶	۲۰/۲	۲۳	۲۷	۲/۵	۰
آبان	۱۶/۴	۱۶	۳۴	۴۱	۰/۲	۶۶/۷
آذر	۶/۶	۸	۴۵	۵۰	۱۸	۲۱
دی	۷	۸	۵۵	۵۳	۷۵	۳۴
بهمن	۳/۴	۸/۱	۶۶	۵۴	۱۳۱/۷	۱۹۴/۸
اسفند	۸/۸	۱۰/۸	۵۳	۵۷	۸۲/۵	۸۴/۹
میانگین	۱۷/۱۴	۱۸/۲	۳۸/۰۸	۳۸/۳۳	۴۱/۳۲	۴۶/۷۷

کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام مطابقت داده شد. بذر گیاه تا زمان کاشت در محیط سرد و تاریک نگهداری شد. کاشت گیاه در گلخانه در دی ماه ۱۳۹۴ انجام شد. در فروردین ماه ۱۳۹۵ و هنگامی که ارتفاع نشاهای تولیدی به ۱۵ سانتی‌متر رسید کار انتقال نشاها به مزرعه تحقیقاتی دانشگاه ایلام صورت گرفت. کشت گیاه به صورت دستی در کرت‌هایی به مساحت ۴ مترمربع، در فواصل ۲۰، ۳۰ و ۴۵ سانتی‌متر روی ردیف (به ترتیب تراکم ۱۲، ۸ و ۶ بوته در مترمربع) صورت گرفت. فاصله بین ردیف‌های کشت در تمام تیمارها ثابت و ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. پس از کاشت نشاها در مزرعه و به دلیل عدم بارندگی، آبیاری‌های اولیه به فاصله یک هفته انجام شد و بعد از استقرار کامل بوته‌ها، آبیاری بر اساس سطوح تعریف‌شده تبخیر از سطح تشتک تبخیر (۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر) انجام گرفت. آبیاری در سال دوم آزمایش (۱۳۹۶) نیز پس از فصل بارندگی‌ها بر اساس سطوح تعریف‌شده تنش

آزمایش به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل برپایه طرح بلوک‌های کامل تصافی با سه تکرار انجام شد. تیمار تنش رطوبتی در سه سطح (بدون تنش، تنش ملایم و تنش شدید به ترتیب براساس آبیاری براساس ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر جمعی از سطح تشتک تبخیر کلاس A) و فاکتورهای فرعی تیمار تراکم بوته در سه سطح (فاصله روی ردیف ۲۰، ۳۰ و ۴۵ سانتی‌متر به ترتیب ۶، ۸ و ۱۲ بوته در مترمربع) و دو اکوتیپ (ملکشاهی و سومار) بودند. قبل از انجام آزمایش نسبت به آزمون خاک محل انجام آزمایش اقدام گردید که برخی از خصوصیات اندازه‌گیری شده فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول (۲) آمده است. بذور گیاه با کمک کارشناسان اداره کل منابع طبیعی استان ایلام از رویشگاه‌های طبیعی جمع‌آوری و به آزمایشگاه گیاه شناسی دانشگاه ایلام منتقل گردید و به استناد کلیدهای گیاه شناسی و رده بندی فلور ایلام (مظفریان، ۱۳۸۷)، شناسایی شد. همچنین با نمونه هرباریومی مرکز تحقیقات

رطوبتی صورت گرفت. صفات مورد اندازه‌گیری در این آزمایش شامل؛ میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، کارتنوئید، آنتوسیانین، فنل‌ها، فلاونوئیدها، پرولین و کارایی مصرف آب گیاه بودند. تمام صفات (به استثنای فلاونوئید و پلی فنول کل) در دو سال زراعی پس از اعمال تنش رطوبتی و در مرحله‌ی گلدهی کامل اندازه‌گیری شد.

جدول ۲- ویژگی‌های خاک مزرعه

پافت خاک	شوری (ds.m-1)	pH	کربن آلی (%)	رس (%)	لای (%)	شن (%)	نیتروژن (%)	فسفر ppm	پتاسیم ppm
سیلتی-لومی	۰/۲۶	۷/۳۹	۱/۷۴	۲۷	۵۸	۱۵	۰/۱۸	۴/۹۴	۳۵۶/۲۶

رنگیزه‌های فتوسنتزی

رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کارتنوئید با استفاده از روش لیچنتالر (۱۹۸۷) اندازه‌گیری شد که بر اساس آن مقدار ۰/۲ گرم از برگ‌های تازه گیاه به همراه ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده و پس از صاف کردن، جذب آن‌ها با اسپکتروفتومتر (UV-Visible مدل Cary50) در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰ و ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. و در نهایت غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی براساس رابطه زیر برحسب میکروگرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

$$\begin{aligned} \text{Chl.a} &= (12.25A_{663.2} - 2.79A_{646.8}) \\ \text{Chl.b} &= (21.21A_{646.8} - 5.1 A_{663.2}) \\ \text{Chl.T} &= \text{Chl.a} + \text{Chl.b} \\ \text{Car} &= [(1000A_{470} - 1.8 \text{Chl.a} - 85.02 \text{Chl.b})/198] \end{aligned}$$

پلی فنول ها

برای اندازه‌گیری غلظت آنتوسیانین برگ از روش وانگر (۱۹۷۹) استفاده شد. میزان ترکیبات فنلی بر اساس روش رنگ سنجی فولین-سیوکاتو و برحسب منحنی استاندارد گالیک اسید در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای این کار ابتدا ۰/۱ گرم از پودر برگ را در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد ساییده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس به یک میلی‌لیتر محلول رویی یک میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه و با آب مقطر حجم محلول به پنج میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۱۰ درصد و یک میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد به آن اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت یک ساعت در تاریکی نگهداری گردید. این عصاره برای سنجش فنل کل با استفاده از اسپکتروفتومتر (UV-Visible مدل Cary50) برحسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک استفاده شد (اوردون، ۲۰۰۶). میزان فلاونوئید کل بر اساس روش رنگ سنجی آلومینوم کلراید و با استفاده از کوئرستین اندازه‌گیری شد (چنگ و همکاران؛ ۲۰۰۲).

پرولین

مقدار پرولین براساس روش بیتس (۱۹۷۳). در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۰/۵ گرم از بافت برگ را در ۱۰ میلی‌لیتر از سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ سائیده و بعد عصاره به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. سپس به ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۲ میلی‌لیتر اسید نین هیدرین و ۲ میلی‌گرم اسید استیک گلاسیال افزوده و به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شد. سپس به مخلوط واکنش ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر گزارش شد. محتوای پرولین برحسب میکرومول بر گرم نمونه تر محاسبه شد.

کارایی مصرف آب

کارایی مصرف آب، از محاسبه عملکرد خشک بوته‌ها (کیلوگرم) به میزان آب مصرفی (مترمکعب در هکتار) برحسب کیلوگرم بر مترمکعب آب مصرفی بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (OCED, 2001).

کارایی مصرف آب = عملکرد (کیلوگرم)/میران آب مصرف شده (مترمکعب)

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه واریانس ساده، آزمون همگنی بارتلت و تجزیه واریانس مرکب داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD با نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد و نمودارها در نرم افزار Excel 2010 رسم شد.

نتایج

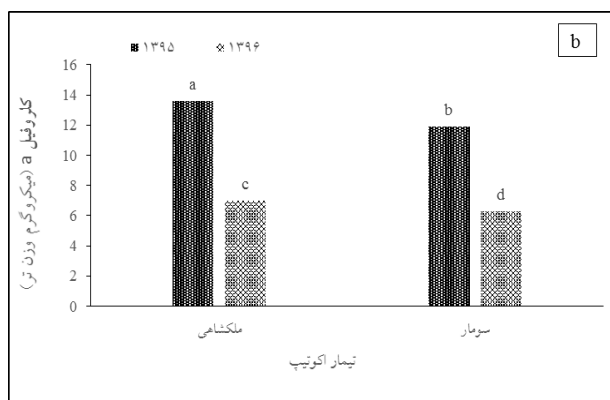
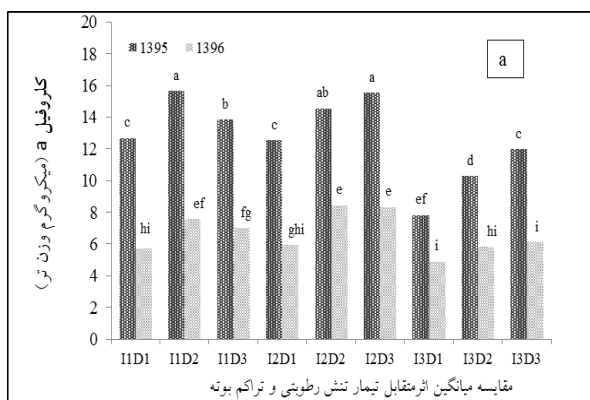
رنگیزه های فتوسنتزی

با توجه به نتایج، بیشترین محتوای کلروفیل a در تیمار بدون تنش، تراکم ۸ بوته در مترمربع طی سال اول اجرای آزمایش با میانگین ۱۵/۶۴ میکروگرم بر گرم وزن تر حاصل شد. هرچند این تیمار با تیمار تنش رطوبتی ملایم و تراکم ۶ بوته در مترمربع با

۱۲ بوته در مترمربع، اکوتیپ سومار و سال دوم آزمایش با میانگین ۱/۵ میکروگرم بر گرم وزن تر مشاهده شد. با افزایش شدت تنش از آبیاری نرمال نسبت به تنش شدید رطوبتی محتوای کلروفیل **b** به میزان ۶۷ درصد و با افزایش تراکم بوته از ۶ به ۱۲ بوته میزان این رنگیزه ۷ درصد کاهش نشان داد (جدول ۳).

مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها نشان داد بیشترین میزان کلروفیل کل در تیمار آبیاری نرمال و تنش رطوبتی ملایم، تراکم ۸ بوته در مترمربع، اکوتیپ ملکشاهی و در سال اول آزمایش با میانگین (۱۹/۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) حاصل شد. با افزایش شدت تنش رطوبتی و تراکم بوته محتوای کلروفیل کل به میزان ۷ و ۵/۸ درصدی کاهش یافت (جدول ۳).

میانگین ۱۵/۵۳ اختلاف آماری معنی داری نداشت. کمترین میزان کلروفیل **a** نیز طی سال دوم اجرای آزمایش در تیمار تنش شدید و تراکم ۱۲ بوته بر مترمربع با میانگین ۴/۸۹ میکروگرم بر گرم وزن تر مشاهده شد (شکل a). افزایش تنش رطوبتی منجر به کاهش میزان کلروفیل **a** به میزان ۱۰ درصد شد. بین اکوتیپ های مورد بررسی در دو سال آزمایش، بیشترین محتوای کلروفیل **a** در اکوتیپ ملکشاهی با میانگین ۱۳/۶۲ میکروگرم بر گرم وزن تر در سال اول آزمایش مشاهده شد (شکل b). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل چهار گانه سال، تنش خشکی، تراکم بوته، اکوتیپ نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل **b** با میانگین ۴/۰۶ میکروگرم بر گرم وزن تر در سطح تنش ملایم، تراکم ۸ بوته در مترمربع، اکوتیپ ملکشاهی و در سال اول آزمایش مشاهده شد. در مقابل آن کمترین میزان این صفت در سطح تنش شدید، تراکم



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر تیمار های تنش رطوبتی، تراکم بوته و اکوتیپ بر محتوای کلروفیل **a** (میکروگرم بر گرم وزن تر)

I1: تیمار بدون تنش، I2: تیمار تنش ملایم، I3: تیمار تنش شدید - D1: تراکم ۶ بوته در مترمربع، D2: تراکم ۸ بوته در مترمربع، D3: تراکم ۱۲ بوته در

مترمربع

که به شرایط تنش خشکی و سرعت از دست رفتن رطوبت بستگی دارد (تایز و زایگر؛ ۲۰۰۲). تغییر و کاهش مقدار رنگیزه های فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی عمدتاً به دلیل تخریب ساختار کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، اکسیداسیون نوری و در نتیجه کاهش سنتز کلروفیل، فعال شدن آنزیم های پروتولیتیک و تجزیه کننده کلروفیل از جمله کلروفیلاز و اختلالات هورمونی می باشد (رادی و همکاران، ۲۰۱۳). کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش خشکی می تواند به دلیل تولید رادیکال های اکسیژن باشد که باعث پراکسیداسیون این رنگیزه ها و تجزیه شیمیایی ژن های از طریق اثر بر فعالیت بیان ژن های سنتز آنزیمی و عوامل رونویسی می شود (سناتوس و همکاران، ۲۰۰۱). در بررسی سطوح تنش رطوبتی بر گیاه آویشن

میزان فتوسنتز عامل اصلی تعیین کننده ی رشد و عملکرد گیاهان است و توانایی حفظ آن در صورت وجود تنش های محیطی برای حفظ ثبات عملکرد مهم است (کائور و همکاران، ۲۰۱۲). دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش خشکی از جمله شاخص های فیزیولوژیک مناسب جهت مقاومت به تنش خشکی هستند (تاترای و همکاران، ۲۰۱۶). در این پژوهش مشاهده شد که در شرایط تنش خشکی شدید محتوای رنگیزه های فتوسنتزی نسبت به تنش ملایم و آبیاری نرمال به صورت معنی داری کاهش نشان دارد. به طور کلی تاثیر تنش خشکی بر کلروفیل بسیار متغیر است و به شرایط محیطی و ژنوتیپی گیاه بستگی دارد. در بعضی از گونه ها تنش خشکی سبب کاهش و در برخی باعث افزایش محتوای کلروفیل می شود

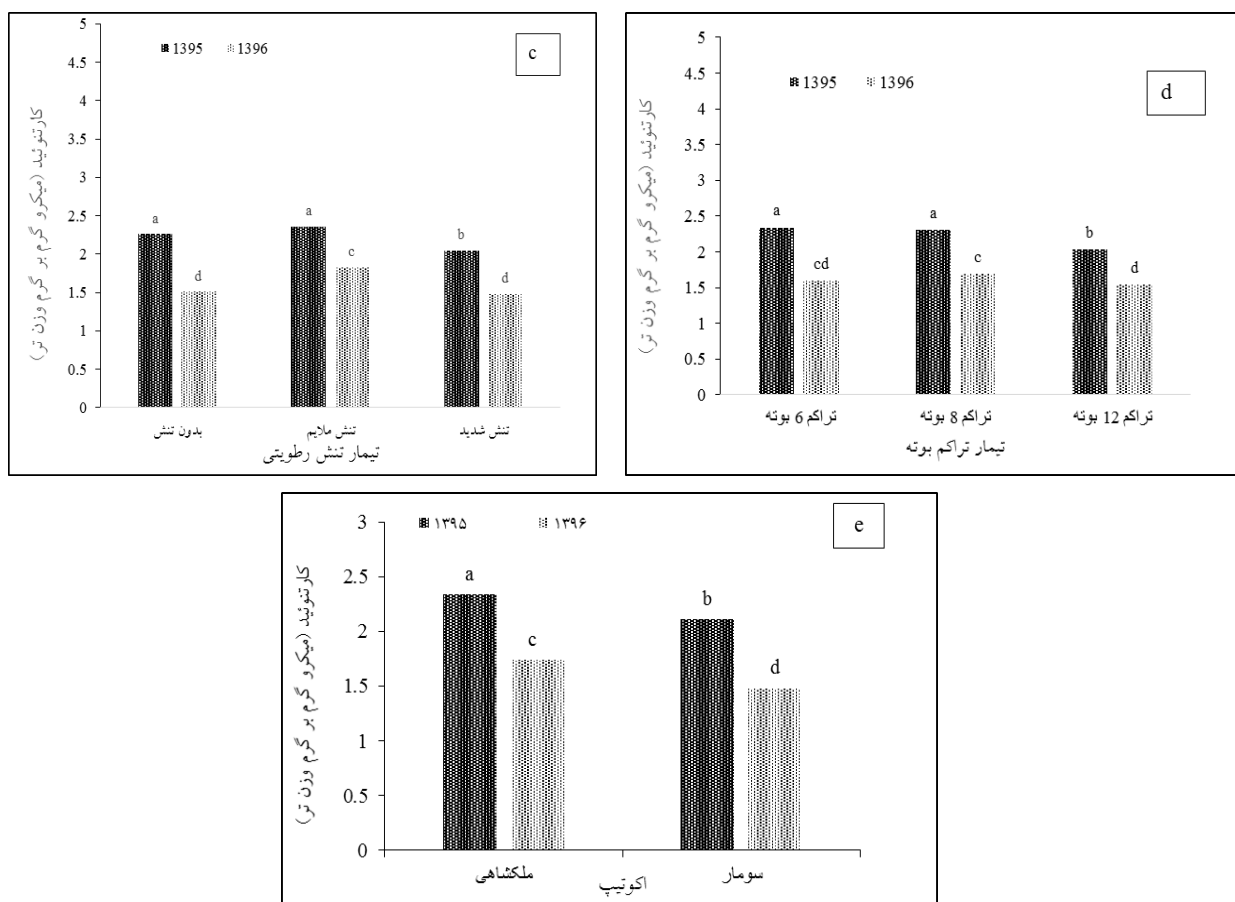
که می‌تواند تأثیر شدیدی بر آنزیم‌های کنترل کننده رنگیزه‌های فتوسنتزی داشته باشد (امام و نیک نژاد، ۱۳۹۰). افزایش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در تراکم ۶ بوته در مترمربع می‌تواند به این سبب باشد همین طور با افزایش تراکم تا سطح ۱۲ بوته غلظت کلروفیل در برگ کاهش یافت که با نتایج تحقیقات ارائه شده همسو می‌باشد. با افزایش تراکم گیاهی در ذرت، تعداد کلروپلاست و گرانا کاهش و در مقابل تعداد لامای گرانی سلول‌های مزوفیلی افزایش یافت که این شرایط باعث تخریب تیلاکوئید و کاهش فتوسنتز رنگیزه‌ها و در نهایت کاهش سرعت فتوسنتز خالص در گیاه گردید (رن و همکاران، ۲۰۱۷). کاهش محتوای کلروفیل با افزایش تراکم در تحقیقات دیگری نیز گزارش شده است (عمادی و همکاران، ۱۳۹۲؛ رن و همکاران، ۲۰۱۳؛ گومز و همکاران، ۲۰۱۸؛ چاندر و همکاران، ۲۰۲۰، قهرمانی و همکاران، ۲۰۲۰). در بین دو اکوتیپ بررسی شده در این آزمایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در اکوتیپ ملکشاهی نسبت به اکوتیپ سومار بالاتر بود.

کاروتنوئید

نتایج شکل C نشان داد که در تیمارهای بدون تنش و تنش رطوبتی ملایم در سال اول آزمایش، محتوای کاروتنوئیدها افزایش یافت بطوری که بیشترین محتوای کاروتنوئیدها (با میانگین ۲/۳ میکروگرم بر گرم وزن تر) در این تیمارها مشاهده شد و با افزایش میزان تنش رطوبتی از تیمار تنش ملایم به شدید محتوای کاروتنوئیدها ۷ درصد کاهش نشان داد. محتوای کاروتنوئیدها در سال دوم در سطوح بدون تنش، تنش رطوبتی ملایم و شدید به ترتیب ۱/۵، ۱/۸ و ۱/۴ میکروگرم بر میلی لیتر بود. بین تیمار تراکم نیز بیشترین محتوای کاروتنوئیدها در تراکم ۸ و ۱۲ بوته (به میزان ۲/۳ میکروگرم بر گرم وزن تر) در سال زراعی اول مشاهده شد و با کاهش تراکم بوته در دو سال زراعی میزان کاروتنوئید با نسبت ۵ درصد کاهش یافت (شکل d). همچنین نتایج مقایسه میانگین اکوتیپ‌ها نشان داد که اکوتیپ ملکشاهی با میانگین تولید ۲/۳ و ۱/۷ میکروگرم بر گرم وزن تر به ترتیب، طی سال زراعی اول و دوم نسبت به اکوتیپ سومار برتری داشت (شکل e).

(*Thymus eriocalyx*) مشاهده شد که بیشترین میزان کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح آبیاری نرمال به دست آمد و با افزایش تنش محتوای این رنگیزه‌ها کاهش یافت (امیری و همکاران، ۲۰۱۸). در تحقیقی بر روی گیاه پروانش (*Catharanthus roseus*) گزارش شد که در شرایط تنش رطوبتی ملایم میزان کلروفیل a و در شرایط تنش رطوبتی شدید میزان کلروفیل b کاهش یافت (Abdul-Jaleel et al., 2007). در بررسی تاثیر تنش خشکی بر روی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*) گزارش شد که تنش خشکی شدید میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل را به صورت معنی داری کاهش داد (امیدی و همکاران، ۲۰۱۸). در بررسی دیگری بر روی گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) نیز گزارش شد که تنش خشکی شدید باعث کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی شد در حالی که در تنش خشکی ملایم میزان این رنگیزه‌ها افزایش یافت (نقی زاده و همکاران، ۲۰۱۹).

از سوی دیگر بین تیمارهای تراکم نیز مشاهده شد که با افزایش سطح تراکم محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهش یافت. با کاهش تراکم در واحد سطح زمین هر بوته گیاه زوفایی فضای بیشتری برای گسترش شاخ و برگ خود در اختیار داشته است که باعث شده کلروفیل سازی را افزایش دهد، از طرفی با کاهش تراکم بوته و کاهش رقابت بین بوته‌ها در شرایط تنش خشکی ملایم و شدید میزان کلروفیل a نسبت به تراکم‌های بالاتر به افزایش یافت. افزایش سطح تراکم بوته، باعث افزایش رقابت بر سر جذب آب و عناصر غذایی بین بوته‌ها می‌شود که به دنبال آن غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی به دلیل ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و تخریب ساختمان کلروپلاست کاهش می‌یابد (مفاخری و همکاران، ۲۰۱۰؛ کومار و همکاران، ۲۰۱۳). همچنین گزارش شده است با افزایش تراکم بوته تعداد کلروپلاست و گرانا در برگ به صورت معنی داری کاهش می‌یابد که باعث کاهش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در تراکم بالای کاشت می‌شود (آنتونینا و همکاران، ۲۰۱۴). از سوی دیگر افزایش تراکم جمعیت گیاهی باعث قرار گرفتن بافت‌های گیاهی در سایه و تغییر در کمیت و کیفی نور دریافتی در برگ‌ها می‌شود



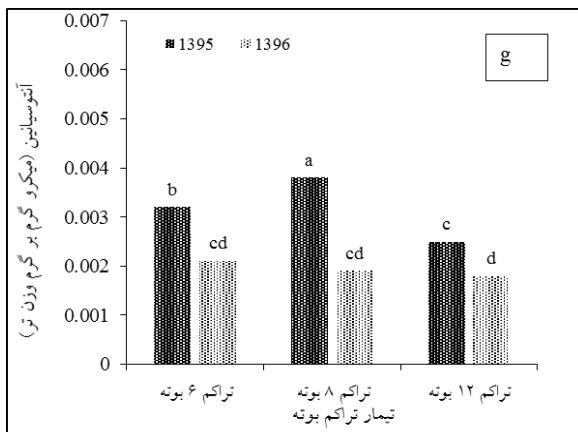
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر تیمار های تنش رطوبتی، تراکم بوته و اکوتیپ بر محتوای کارتنوئید (میکروگرم بر گرم وزن تر)

شرایط تنش خشکی گزارش شده است (جیارامراجا و همکاران، ۲۰۰۵؛ سیلوا و همکاران، ۲۰۰۷). در تحقیقات دیگری نیز گزارش شد که در تنش رطوبتی شدید در ذرت و گندم محتوای کارتنوئید به عنوان یک رنگیزه محافظت کننده کلروفیل افزایش یافت (عبداله الخوشیانی، ۲۰۰۷؛ محمدخانی و حیدری، ۲۰۰۷). همان طور که توضیح داده شد افزایش تراکم بوته در کمیت و کیفیت نور دریافتی توسط برگ تغییراتی ایجاد می کند. کیفیت نور با رشد و توسعه گیاه ارتباط داشته و به نسبت نور قرمز به مادون قرمز اشاره دارد که حدود ۱/۱۵ می باشد (راعی دهقی و همکاران، ۱۳۹۴). در شرایط سایه نسبت نور قرمز به قرمز دور افزایش می یابد در نتایج تحقیقات آمده است نور قرمز، بیوسنتز کارتنوئید را تحریک و نور مادون قرمز آن را مهار می کند همچنین در شرایط آفتاب کامل مقدار کارتنوئید به دلیل حفاظت نوری از کلروفیل کاهش می یابد (فهلن و همکاران، ۱۹۹۹). سایه دهی تاج پوشش گیاهی در شرایط تراکم بهینه، باعث افزایش بیوسنتز کارتنوئیدها می شود. در تحقیقات دیگری نیز گزارش شده است که با افزایش تراکم بوته و ایجاد رقابت بر

کارتنوئیدها رنگیزه های محافظتی هستند که علاوه بر دریافت نور، نقش مهمی در محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی و جلوگیری از فتواکسیداسیون رنگیزه های فتوسنتزی بر عهده دارند (باجی و همکاران، ۲۰۰۱؛ سانتاباربارا و همکاران، ۲۰۱۳). کارتنوئیدها نقش حفاظتی در مقابل تنش اکسیداتیو القاء شده داشته و در سمیت زایی از کلروفیل نیز نقش دارد و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال های آزاد می شوند (قیصری و همکاران، ۱۳۹۴). در هر دو سال زراعی بیشترین میزان کارتنوئید در شرایط تنش ملایم و عدم تنش رطوبتی نسبت به تنش شدید مشاهده شد. در هر دو سال آزمایش نیز بین تیمارهای تراکم بیشترین محتوای کارتنوئیدها در تراکم ۸ و ۱۲ بوته در مترمربع بدست آمد. اکوتیپ ملکشاهی نسبت به اکوتیپ سومار در هر دو سال زراعی میزان کارتنوئید بیشتری داشت. در تحقیقات انجام شده کاهش میزان کلروفیل ها و کارتنوئیدها در شرایط تنش خشکی به دلیل کاهش کارایی استفاده از کربن و افزایش تولید اتانول و لاکتات گزارش شده است (الیورا نتو و همکاران، ۲۰۰۹). در تحقیقات دیگری نیز کاهش محتوای کارتنوئید در

معنی‌داری نشان داد و بیشترین مقدار آن (با میانگین $0/0021$ میکرومول بر گرم وزن تر) در تیمار تنش شدید و تنش ملایم حاصل شد.

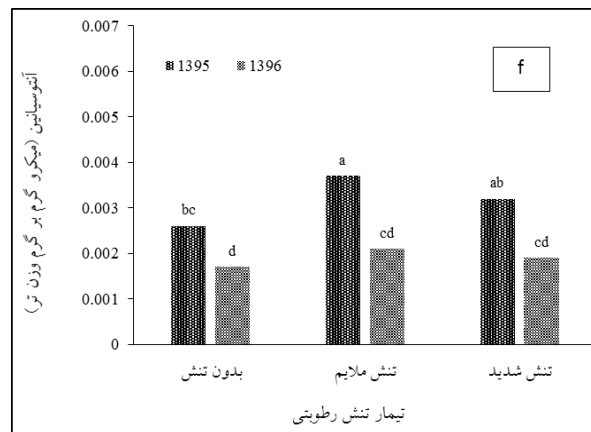
هم‌چنین مشاهده گردید، با افزایش تراکم بوته محتوای آنتوسیانین در برگ گیاه افزایش یافت. به طوری که محتوای آنتوسیانین در برگ گیاهانی که در تراکم ۸ بوته در مترمربع کاشته شده بودند $1/5$ برابر بیشتر از تراکم ۶ بوته در مترمربع بود. بیشترین محتوای آنتوسیانین در سال دوم آزمایش در تراکم ۱۲ و ۸ بوته در مترمربع به ترتیب به میزان 40 و $33/6$ درصد بدست آمد. با کاهش تراکم تا ۶ بوته در مترمربع، محتوای آنتوسیانین به میزان $13/6$ درصد کاهش یافت (شکل g).



سر منابع محیطی، محتوای کاروتنوئیدها در برگ جهت حفاظت از بافت‌های فتوسنتزی به خصوص کلروفیل‌ها افزایش می‌یابد (کندن و ترهان، ۲۰۰۳؛ زانگ و لو، ۲۰۰۳؛ روستائی و فلاح، ۲۰۱۶) که نتیجه حاصل شده همسو با نتایج تحقیقات ارائه شده می‌باشد.

آنتوسیانین

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سال در تنش خشکی در شکل (f) نشان داد که بیشترین مقدار آنتوسیانین بین سطوح مختلف تنش رطوبتی ($0/0037$ میکرومول بر گرم وزن تر)، در سال زراعی اول در تیمار تنش رطوبتی ملایم مشاهده شد که از این نظر با تیمار تنش شدید در یک گروه آماری قرار داشت. در سال زراعی دوم نیز در تیمار بدون تنش مقدار آنتوسیانین کاهش

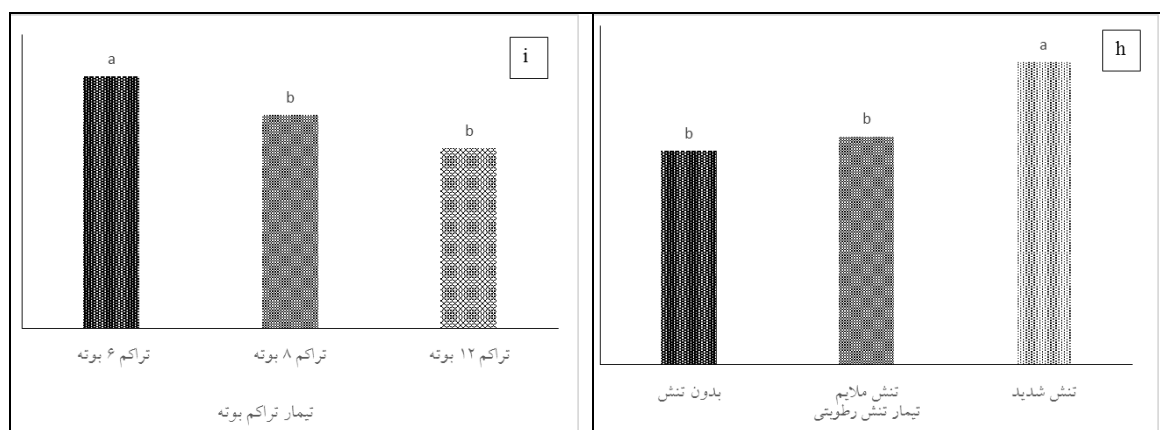


شکل ۳- مقایسه میانگین اثر تیمارهای تنش رطوبتی و تراکم بوته و اکتیپ بر میزان آنتوسیانین (میکروگرم بر گرم وزن تر)

تأثیر تراکم بوته قرار گرفت به طوری که بیشترین میزان آن ($102/81$ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک) در تراکم ۱۲ بوته در مترمربع و کمترین میزان آن نیز در تراکم ۶ بوته در مترمربع ($73/49$ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک) مشاهده شد. با کاهش تراکم از ۱۲ به ۶ بوته در مترمربع، از میزان آن $7/2$ درصد کاسته شد (شکل i).

پلی فنول کل

با توجه به نتایج جدول مقایسه میانگین، بین تیمارهای تنش رطوبتی، بیشترین میزان پلی فنول کل ($107/09$ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک) در تیمار تنش شدید رطوبتی مشاهده شد با کاهش سطح تنش رطوبتی از میزان آن به مقدار معنی‌داری کاسته شد به طوری که کمترین میزان پلی فنول کل در تیمار عدم تنش ($75/55$ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک) مشاهده شد (شکل h). همچنین میزان فنل کل تحت

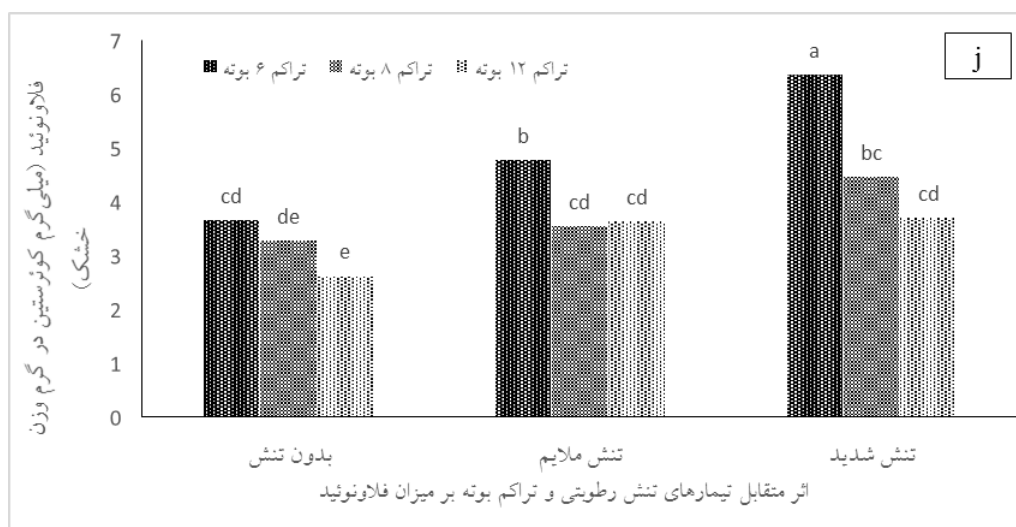


شکل ۴- مقایسه میانگین اثر تیمار های تنش رطوبتی و تراکم بوته و اکوتیپ بر میزان پلی فنول (میلی گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک)

فلاونوئید

(میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک برگ) مشاهده شد. همان طور که ملاحظه می گردد میزان فلاونوئید در تیمار تنش ملایم و شدید رطوبتی بیشتر از عدم تیمار آبیاری نرمال و هم چنین در هر سه سطح تیمار رطوبتی با افزایش تراکم بوته میزان فلاونوئید افزایش یافت (شکل j).

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش رطوبتی و تراکم نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئید در تیمار تنش شدید، تراکم ۱۲ بوته در مربع با میانگین ۶/۳۷ (میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک برگ) حاصل شد. در مقابل کمترین میزان آن نیز در تیمار آبیاری نرمال و تراکم ۶ بوته در مترمربع با میانگین ۲/۶۲



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر تیمار های تنش رطوبتی و تراکم بوته بر میزان فلاونوئید (میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک)

فیزیولوژیک جهت سازگاری و بقا در شرایط تنش خشکی است (اوکونلولا و همکاران، ۲۰۱۷). آنتوسیانین همانند کارتنوئید رنگیزه ای محافظ بوده که تحت تأثیر فاکتورهای محدودکننده محیطی از قبیل دسترسی به آب، نور، مواد غذایی و دما در برگ گیاه تجمع می یابد و از گیاه در برابر اکسیداسیون نوری محافظت می کند (ولف و همکاران، ۱۹۶۳؛ قناتی و همکاران، ۲۰۱۰). تجمع این ترکیب به گیاه اجازه می دهد تا نسبت به تنش های

سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی شامل توکوفرول، آنتوسیانین، فلاونوئید می باشد که در تنش های زنده و غیرزنده در مراحل رشد و نمو و تولید مثلی گیاهان در برابر رادیکال های آزاد تولید می شوند، گیاهان این ترکیبات را در پاسخ به ترکیبات پیام رسان که نقش دفاعی مهمی دارند تولید می کنند (خان پور و همکاران، ۱۳۹۳). افزایش غلظت پلی فنول ها در گیاهان تحت تنش خشکی نشان دهنده توسعه مکانیسم های بیوشیمیایی و

۲۰۰۶). در بررسی تأثیر تراکم بوته (۲، ۴ و ۶ بوته در مترمربع) بر محتوای آنتوسیانین در گیاه چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*) بیشترین میزان آن در تراکم ۴ بوته در مترمربع گزارش شد (برجی زاد، ۱۳۹۳).

پرولین

بیشترین میزان تولید و تجمع پرولین به ترتیب با میانگین ۸/۲۱ میکرومول بر گرم وزن تر در ترکیب تیماری تنش رطوبتی شدید، تراکم ۱۲ بوته در مترمربع، اکوتیپ سومار و در سال دوم آزمایش و کمترین میزان آن نیز با میانگین ۰/۲۴۶ میکرومول بر گرم وزن تر در ترکیب تیماری آبیاری نرمال، تراکم ۸ بوته در مترمربع، اکوتیپ ملکشاهی و در سال دوم آزمایش مشاهده شد (جدول ۳).

ستز و تجمع اسمولیت‌ها بین گونه‌های گیاهی و بین ارقام مختلف یک گونه متفاوت است (پینهر و همکاران، ۱۹۹۷). گیاهان در تنش های محیطی از قبیل خشکی با ذخیره مواد تنظیم کننده اسمزی همچون پروتئین ها، قندها، اسیدهای آمینه و هورمون ها با تنش ها مقابله می کنند. پرولین یکی از اسیدآمینه های مهم برای تنظیم فشار اسمزی در گیاهان است که حفظ آماس سلولی و کاهش روند از دست دادن آب سلول در شرایط تنش به پرولین نسبت داده شده است (ردی و همکاران، ۲۰۰۴). مقدار پرولین در شرایط نرمال در گیاهان بسیار کم بین ۰/۲ تا ۰/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک است، که در شرایط تنش ممکن است به ۵۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برسد. پرولین در همه ی بافت‌ها وجود دارد اما محل اصلی تجمع پرولین برگ گیاه می‌باشد (لاللو و همکاران، ۲۰۱۴). در این آزمایش، مشاهده شد که در سطح تنش رطوبتی شدید میزان پرولین نسبت به تیمار بدون تنش و تنش رطوبتی ملایم به میزان ۳۹/۲ و ۳۱/۵ درصد در برگ گیاه زوفایی افزایش یافت. افزایش تراکم بوته نیز تولید پرولین را تحت شرایط تنش رطوبتی و بدون تنش افزایش داد. بطوری که بیشترین مقدار این پروتئین در تراکم های، ۱۲، ۸ و ۶ بوته در مترمربع برابر با ۴۵/۳، ۳۲/۳ و ۲۲/۴ درصد بود. تفاوت های ژنتیکی بین اکوتیپ ها نیز بر میزان پرولین تولید شده تأثیر گذار بود، پرولین تولید شده در برگ اکوتیپ سومار از اکوتیپ ملکشاهی بیشتر بود. مقایسه پرولین تولید شده در دو سال نیز نشان داد که مقدار پرولین در سال دوم ۱/۸ برابر سال اول بود. در تحقیقات دیگری نیز افزایش محتوای پرولین تحت شرایط تنش خشکی و افزایش تراکم بوده گزارش شده است از جمله در گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare Mill.*)، تیمار تنش خشکی نسبت به عدم تنش باعث افزایش پرولین و کربوهیدرات

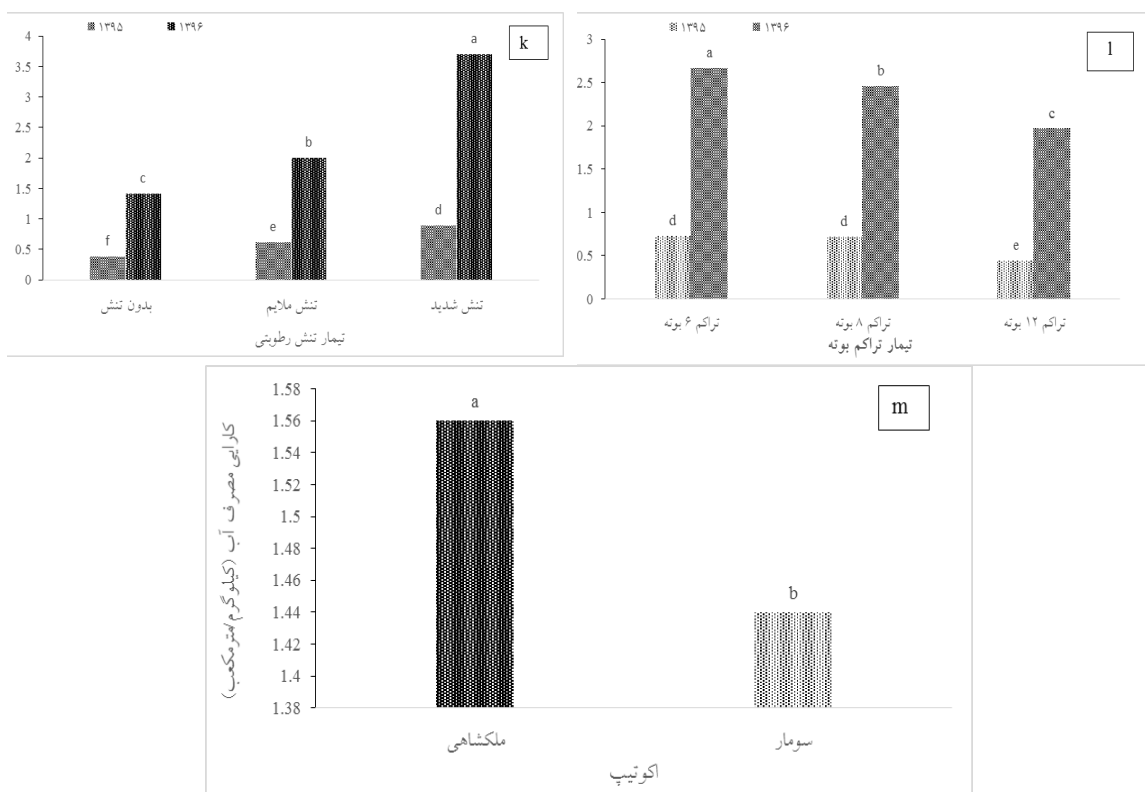
محیطی در مقایسه با تغییرات مرفولوژیک و فیزیولوژیک به سرعت و بلافاصله پاسخ دهد (واتکینسون و همکاران، ۲۰۰۶). در این پژوهش مشاهده شد که بیشترین میزان پلی فنول و فلاونوئید در سطح تنش رطوبتی شدید و تراکم ۱۲ بوته در مترمربع حاصل گردید. همچنین میزان آنتوسیانین در سطح تنش رطوبتی ملایم و شدید نسبت به تیمار بدون تنش افزایش نشان داد و با افزایش تراکم بوته در واحد سطح نیز روند صعودی داشت. در تحقیقی گزارش شد که افزایش تراکم بوته در واحد سطح بدلیل ایجاد رقابت بین بوته‌ها، به عنوان یک عامل تنش زا، باعث فعال شدن سیستم دفاعی گیاه می‌گردد که در نتیجه آن متابولیت‌های ثانویه نظیر فنل، فلاونوئید و اسانس در گیاه تولید می‌شود (حبیب زاده و اصغری، ۱۳۹۷). میزان فلاونوئید در گیاه سیب‌زمینی تحت تنش خشکی افزایش یافت (واتکینسون و همکاران، ۲۰۰۶). تنش خشکی باعث کاهش میزان فلاونوئید برگ‌های گندم و گیاهچه‌های ذرت گردید (زایمنکو و همکاران، ۲۰۱۴). ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها در گیاه فستوکا، چچم و فستولیوم تحت شرایط تنش ملایم افزایش یافت (فاریاشوسکا و همکاران، ۲۰۱۷). در تحقیقی به منظور بررسی اثر تراکم بوته (۷، ۱۰ و ۱۶ بوته در مترمربع) بر محتوای فنل کل در گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea L.*) گزارش شد که بیشترین مقدار آن (۵۱/۱ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک) در تراکم ۱۰ بوته در مترمربع حاصل شد (اسدی صنم و همکاران، ۱۳۹۵). در تحقیقی که به منظور بررسی محتوای فلاونوئیدهای مرزه (*Satureja hortensis L.*) تحت تأثیر سه فاصله روی ردیف (۱۵، ۳۰ و ۴۵ سانتی‌متر) انجام شده بود، بیشترین میزان فلاونوئید در فاصله روی ردیف ۱۵ سانتی‌متر مشاهده شد (ال-لیتی و همکاران، ۲۰۱۷). در بررسی تأثیر تراکم بوته (۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ بوته در مترمربع) در گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum L.*)، کمترین میزان فنول در تراکم ۱۵۰ بوته مشاهده شد و با افزایش تراکم بوته میزان آن افزایش یافت (بدخشان و همکاران، ۲۰۱۸). همچنین در بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی گل گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum Fisch and Mey.*) تحت تأثیر تراکم بوته (۳، ۵ و ۱۰ بوته در مترمربع) بیشترین میزان فلاونوئید در تراکم ۵ بوته در مترمربع مشاهده شد (امیری و همکاران، ۲۰۱۸). در بررسی سطوح تنش رطوبتی (۱۰۰، ۹۰، ۸۰، ۷۰، ۶۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) بر روی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L.*) گزارش شد که میزان آنتوسیانین تا سطح رطوبتی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش یافت (معینی علیشاهی و همکاران،

مترمکعب در هکتار) حاصل شد (شکل k). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل سال در تراکم بوته نشان داد با کاهش تراکم و کاهش میزان ماده خشک تولیدی در واحد سطح، میزان کارایی آب مصرفی کاهش یافت. بطوری که بالاترین میزان کارایی آب مصرفی (۲/۷) کیلوگرم بر مترمکعب در هکتار) در تراکم ۱۲ بوته در مترمربع در سال دوم آزمایش بدست آمد. این نتایج نشان دهنده بهره برداری مناسب از هر واحد آب مصرفی و تولید عملکرد خشک بالاتر توسط بوته ها در تراکم بالاتر بوته بود. راندمان مصرف آب در سال زراعی دوم ۳/۶ برابر سال زراعی اول بود (شکل l). نتایج مقایسه میانگین بین اکوتیپ ها نشان داد که اکوتیپ ملکشاهی راندمان مصرف آب بالاتری را نسبت به اکوتیپ سومار دارا بود (شکل m).

کل محلول در گیاه شد (اکبری خرجی و همکاران، ۲۰۲۰). با افزایش تراکم گیاهی از ۴۰ تا ۸۰ بوته در مترمربع در گیاه کلزا میزان پرولین افزایش یافت که ممکن است به علت رقابت شدید گیاهان برای آب، نور و مواد غذایی تحت تراکم زیاد گیاه باشد که سبب افزایش مقدار پرولین گردید (نصیری و همکاران، ۲۰۱۷).

کارایی مصرف آب

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و سال نشان داد که راندمان مصرف آب در هر دو سال زراعی با کاهش میزان رطوبت خاک افزایش یافت. در بین تیمارهای تنش رطوبتی بیشترین میزان راندمان مصرف آب (۳/۷) کیلوگرم بر مترمکعب در هکتار) در تیمار تنش رطوبتی شدید و در سال دوم زراعی به دست آمد، در مقابل کمترین میزان راندمان مصرف آب در تیمار آبیاری نرمال در سال اول زراعی (۰/۳۸۳) کیلوگرم بر



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر تیمار های تنش رطوبتی، تراکم بوته و اکوتیپ بر کارایی مصرف آب (کیلوگرم بر مترمکعب)

است. با کاهش تراکم و کاهش میزان ماده خشک تولیدی در واحد سطح، میزان کارایی مصرف آب کاهش یافت. بنابراین بالاترین میزان کارایی مصرف آب در تراکم ۱۲ بوته در مترمربع بدست آمد. راندمان مصرف آب در سال زراعی دوم ۳/۶ برابر

در بین تیمارهای تنش رطوبتی بیشترین میزان کارایی مصرف آب در تیمار تنش رطوبتی شدید و در سال دوم زراعی به دست آمد، که احتمالاً به دلیل کمتر بودن میزان آب مصرف شده برای تولید هر واحد از ماده خشک تولید شده در این تیمار بوده

آب در گیاه ذرت، بیشترین میزان کارایی مصرف آب در تراکم ۱۱/۲۵ حاصل شد (جانگ و همکاران، ۲۰۱۸).

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که کشت اکوتیپ های گیاه زوفایی در شرایط زراعی موفقیت آمیز بود. تنش خشکی با توجه به کاهش رنگیزه های فتوسنتزی باعث ایجاد خسارت در گیاه شد که افزایش تراکم بوته در واحد سطح توانست کاهش عملکرد ناشی از افزایش تنش رطوبتی را جبران و به بهبود عملکرد گیاه کمک کند به طوری که بهره وری مصرف آب در این سطح از تنش افزایش نشان داد. لازمه استفاده مطلوب گیاه از عوامل محیطی همچون نور، آب، مواد غذایی و نیز جلوگیری از بروز رقابت شدید بر سر این منابع، بهینه بودن تعداد بوته در واحد سطح است. نتایج پژوهش نشان داد که برگ گیاه در تراکم مناسب کاشت دارای مقادیر مناسبی رنگیزه های فتوسنتزی، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی است. همچنین بررسی خصوصیات فیزیولوژیک گیاه نیز نشان داد در شرایط تنش رطوبتی گیاه توانایی تنظیم اسمزی و مقاومت به خشکی را دارا می باشد و می تواند عملکرد رویشی قابل توجهی تولید نماید. بین اکوتیپ ها از نظر صفات مورد بررسی اختلاف معنی داری مشاهده شد که در مجموع اکوتیپ ملکشاهی نسبت به سومار عملکرد بهتری را نشان داد. با توجه کارایی مصرف آب گیاه می توان بیان کرد که زوفایی گیاهی مناسب و با ارزش اقتصادی بالا جهت کشت در مناطق خشک و نیمه خشک است. از آنجایی که میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین تولیدی و کارایی مصرف آب در تیمار تنش رطوبتی ملایم، تراکم ۸ بوته در مترمربع و اکوتیپ ملکشاهی نسبت به تیمارهای دیگر مناسب تر بود، این سطح از آبیاری، تراکم بوته و اکوتیپ ملکشاهی جهت تولید و بررسی در برنامه های اصلاحی معرفی می گردند.

سال زراعی اول بود که این موضوع می تواند به دلیل استقرار بهتر بوته ها در خاک، توسعه سیستم ریشه ای و افزایش جذب نور، آب و منابع محیطی افزایش عملکرد ماده خشک باشد. همچنین در سال دوم زراعی بدلیل استقرار کامل گیاه و توسعه سیستم ریشه ای تعداد دفعات آبیاری کاهش یافت. در بین اکوتیپ های مورد بررسی اکوتیپ ملکشاهی راندمان مصرف آب بالاتری را نسبت به اکوتیپ سومار دارا بود. با توجه به کاهش میزان رنگیزه های فتوسنتزی و عملکرد بوته در اکوتیپ سومار نسبت به ملکشاهی کمتر و در نتیجه کارایی مصرف آب در آن کاهش یافت. در بررسی تنش رطوبتی بر گیاه اسفرزه (*Plantago ovate*) با افزایش تنش رطوبتی کارایی مصرف آب افزایش یافت (رحیمی و همکاران، ۲۰۱۱). در بررسی سه سطح تراکم (۱۵۰۰۰۰، ۱۸۵۰۰۰ و ۲۷۰۰۰۰ بوته در هکتار) در گیاه کینوا (*Quinoa*) بیشترین کارایی مصرف آب (۰/۳۹۳ کیلوگرم بر مترمربع) در سطح دوم تراکم (۱۸۵۰۰۰ بوته در هکتار) بدست آمد (احمدی و همکاران، ۲۰۱۹). در دو وارته *Huayouza9* و *Zhongshuang11* از گیاه کلزا با افزایش تراکم نسبت به حالت نرمال کارایی مصرف آب افزایش یافت (ما و همکاران، ۲۰۱۴). در بررسی کارایی مصرف آب در ذرت گزارش شد که ماکزیمم کارایی مصرف آب در سال خشک نسبت به سال مرطوب بدست آمد (وانگ و همکاران، ۲۰۱۸). در بررسی تاثیر تراکم بوته بر کارایی مصرف آب در سیب زمینی، گزارش شد که کارایی مصرف آب در سطح تراکم متوسط (۴/۵۰×۱۰۴ بوته در هکتار) و تراکم بالا (۶/۰×۱۰۴ بوته در هکتار) نسبت به تراکم پایین (۳/۷۵×۱۰۴ بوته در هکتار) بیشتر بود (هو و همکاران، ۲۰۲۰). در بررسی تراکم گیاهی (۱۲/۷۵، ۱۱/۲۵، ۹/۷۵ و ۸/۲۵ بوته در مترمربع) بر کارایی مصرف

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات تنش رطوبتی و تراکم بوته بر برخی صفات فیزیولوژیکی دو اکوتیپ از گیاه زوفایی (*Thymbra spicata*) در دو سال.

تیمارها	کلروفیل b		کلروفیل کل		پرولین	
	(میکروگرم بر گرم وزن تر)		(میکروگرم بر گرم وزن تر)		(میکرومول بر گرم وزن تر)	
	۱۳۹۵	۱۳۹۶	۱۳۹۵	۱۳۹۶	۱۳۹۵	۱۳۹۶
I ₁ *D ₁ *E ₁	۲/۹ fghi	۱/۸ lmn	۱۵/۷ def	۸/۴ klm	۱/۴۰ jklm	۱/۲۸ klmn
I ₁ *D ₁ *E ₂	۲/۶ ghij	۱/۵ n	۱۴/۶ efg	۶/۳ m	۱/۶۳ hijk	۲/۰۲ h
I ₁ *D ₂ *E ₁	۳/۸ ab	۲/۰۲ lmn	۱۹/۴ a	۹/۸ ijk	۰/۸۴۱ opq	۰/۲۴۶ s
I ₁ *D ₂ *E ₂	۳/۷ abcd	۲/۱ jkl	۱۸/۵ abc	۸/۰۶ klm	۱/۳۲ jklm	۰/۳۵۰ rs
I ₁ *D ₃ *E ₁	۳/۵ bcde	۲/۲ jkl	۱۷/۱ abcd	۷/۰۲ lm	۰/۷۹۷ pqr	۰/۶۲۲ qrs
I ₁ *D ₃ *E ₂	۳/۸ defg	۲/۱ jkl	۱۶/۸ abcd	۶/۳ m	۰/۸۱۰ pq	۱/۱ mnop
I ₂ *D ₁ *E ₁	۳/۲ cdef	۲/۳ jkl	۱۶/۴ bcd	۹ jkl	۱/۸۷ hij	۲/۶۳ f
I ₂ *D ₁ *E ₂	۲/۹ efgh	۲/۱ jkl	۱۵/۲ def	۸/۴ klm	۱/۸۵ hi	۴/۶۱ d
I ₂ *D ₂ *E ₁	۴/۰۶ a	۳/۳ bcde	۱۹/۳۲ a	۱۳/۲ fgh	۰/۸۰۹ oqr	۱/۱۵ lmno
I ₂ *D ₂ *E ₂	۳/۳ bcde	۲/۱ jkl	۱۶/۷ abcd	۷/۹ klm	۱/۹۲ h	۱/۱۰ mnop
I ₂ *D ₃ *E ₁	۳/۷ abc	۲/۶ hij	۱۸/۹ a	۱۰/۷ hij	۰/۸۹۱ pq	۰/۹۲۰ nopq
I ₂ *D ₃ *E ₂	۳/۸ efg	۲/۵ ijk	۱۷/۶ abc	۱۱/۳ hi	۰/۹۲۷ nopq	۱/۲۷ klmn
I ₃ *D ₁ *E ₁	۲/۵ ijk	۱/۸ mn	۱۴/۵ efg	۶/۴ m	۲/۸۴ ef	۵/۶۸ c
I ₃ *D ₁ *E ₂	۲/۳ jkl	۱/۵ n	۱۲/۰۹ ghi	۶/۷ m	۲/۵۰ fg	۸/۲۱ a
I ₃ *D ₂ *E ₁	۳/۳ bcd	۲/۰۶ klm	۱۵/۳ def	۷/۱ klm	۲/۰۵ gh	۴/۴۶ d
I ₃ *D ₂ *E ₂	۳/۸ efg	۱/۸ lmm	۱۵/۶ cde	۷/۴ ml	۱/۹۴ h	۶/۲۵ b
I ₃ *D ₃ *E ₁	۳/۲ cde	۱/۹ lmn	۱۶/۶ abcd	۷/۲ ml	۱/۶ hijk	۳/۲۰ c
I ₃ *D ₃ *E ₂	۳ efg	۱/۶۵ n	۱۵/۴ def	۸/۰۴ klm	۱/۴۴ ijkl	۴/۱۹ d

میانگین هایی که دارای حروف مشابه می باشند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی داری ندارند.

I₁: تیمار بدون تنش، I₂: تیمار تنش ملایم، I₃: تیمار تنش شدید - D₁: تراکم ۶ بوته در مترمربع، D₂: تراکم ۸ بوته در مترمربع، D₃: تراکم ۱۲ بوته در مترمربع - E₁: اکوتیپ ملکشاهی، E₂: اکوتیپ سومار

منابع

- اسدی صنم، س.، م. زواره، ه. پیردشتی، ف. سفیدکن و ن. قربانعلی. ۱۳۹۵. تاثیر تاریخ و تراکم کاشت بر ماده خشک و ظرفیت آنتی اکسیدانی ریشه گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* (L.) Moench). مجله فرآیند و کاربرد گیاهی. ۵(۱۵): ۷۴-۵۷.
- امام، ی.، و. نیک نژاد. ۱۳۹۰. مقدمه ای بر فیزیولوژی عملکرد گیاهان زراعی. انتشارات دانشگاه شیراز. ۵۹۴ صفحه.
- امیری، م. ب. پ. رضوانی مقدم، م. جهان، م. صالح آبادی و ن. ناصری. ۱۳۹۶. بررسی برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch. & Mey.) تحت تاثیر تراکم گیاهی و کودهای آلی و شیمیایی مختلف. مجله گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۳(۴): ۶۴۹-۶۶۲.
- برجی زاد، ا. ۱۳۹۳. اثرات تراکم بوته و کاربرد آهن و روی بر عملکرد کمی و کیفی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه زابل.
- حبیب زاده، ف و ب. اصغری. ۱۳۹۷. بررسی اثر کشت مخلوط و کودهای شیمیایی بر میزان اسانس، محتوای فنل و فلاونوئید و برخی خواص زیستی گیاه دارویی (*Hyssopus officinalis* L.). مجله اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی. ۶(۳): ۹۶-۱۰۹.
- خانپور اردستانی، ن.، م. شریفی و م. بهمنش. ۱۳۹۳. اثر متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در کشت سلول *Scrophularia straita* Boiss. مجله پژوهش های گیاهی. ۲۷(۵): ۸۴۰-۸۵۳.

- راعی دهقی، ه.، ج. رزمجو، م. ر. سبزیلیان و ا. ارزانی. ۱۳۹۴. تاثیر سایه بر خصوصیات مورفو-فیزیولوژیک و محتوای اسانس ژنوتیپ های مختلف از سه گونه نعناع. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی. ۴(۱۳): ۵۷-۶۹.
- عمادی، ن.؛ ج. شاهرخ و ح. بلوچی. ۱۳۹۲. اثر تنش خشکی و تراکم بوته بر عملکرد و برخی خصوصیات فیزیولوژیک لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris L.*) در منطقه یاسوج. مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی. ۳(۸): ۲۵-۳۵.
- قیصری، س.، ف. سعید نعمت پور و ا. صفی پور افشار. ۱۳۹۴. اثر سالیسیلیک اسید و آسکوربیک اسید بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی و فعالیت برخی آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L.*) تحت تنش سرب. مجله پژوهش های گیاهی. ۲۸(۴): ۸۲۵-۸۱۴.
- مظفریان، و. ۱۳۸۷. فلور گیاهی ایلام، انتشارات تهران؛ فرهنگ معاصر، ۹۳۶ صفحه.
- نادری؛ م. ا. مصلح آرائی، ر. احمدی، ع. ا. جعفرزاده و ع. طهماسبی پور. ۱۳۹۵. بررسی برخی از خصوصیات اکولوژیک گونه دارویی و در حال انقراض زوفایی (*Thymbra spicata L.*) در استان ایلام. مجله نشریه حفاظت زیست بوم گیاهان. ۴(۹): ۱۷-۳۴.
- نصراله زاده اصل، و.، س. محرم نژاد و م. یوسفی. ۱۳۹۶. بررسی عملکرد دانه، میزان کلروفیل، مواد اسمولیتی، فنول کل و فعالیت آنزیم کاتالاز ذرت (*Zea mays L.*) در پاسخ به تنش خشکی. مجله فیزیولوژی محیطی گیاهی. ۱۲(۴۶): ۱-۱۴.
- نواب پور، س.، س. رمضان پور و ا. مازندرانی. ۱۳۹۴. ارزیابی تغییرات سیستم دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی ارقام سویا در واکنش به تنش خشکی طی مراحل رشد زایشی. مجله فن آوری تولیدات گیاهی. ۱۵(۲): ۳۹-۵۴.
- Abdalla, M. 2007. The Influence of Water Stress on Growth, Relative Water Content, Photosynthetic Pigments, Some Metabolic and Hormonal Contents of two *Triticium aestivum* cultivars. Journal of Applied Sciences Research. 3(12): 2062-2074.
- Ahmadi, S. H, S. Solgi. & A. R. Sepaskhah. 2019. Quinoa: A super or pseudo-super crop? Evidences from evapotranspiration, root growth, crop coefficients, and water productivity in a hot and semi-arid area under three planting densities. Agricultural Water Management. 225(July): 105784.
- Akbari-Kharaji, M., P. Ehsanzadeh, A.G. Zali, E. Askari & A. Rajabi-Dehnavi. 2020. Ratooned fennel relies on osmoregulation and antioxidants to damp seed yield decline with water limitation. Agronomy for Sustainable Development. 40(1): 2-12.
- Alderfasi, A. A, M. M. Selim, & B. A. Alhammad. 2016. Evaluation of Plant Densities and Various Irrigation Regimes of Sorghum (*Sorghum bicolor L.*) under Low Water Supply. Journal of Water Resource and Protection. 08(01): 1-11.
- Alhaithloul, H. A, M. H. Soliman, K. L. Ameta, M. A. El-Esawi, & A. Elkelish. 2019. Changes in Ecophysiology, Osmolytes, and Secondary Metabolites of the Medicinal Plants of *Mentha piperita* and *Catharanthus roseus* Subjected to Drought and Heat Stress. Biomolecules. 10(1): 43.
- Ali, S, Y. Xu, X. Ma, I. Ahmad, Manzoor, Q. Jia, M. Akmal, Z. Hussain, M. Arif, T.Cai, J. Zhang & Z. Jia. 2019. Deficit irrigation strategies to improve winter wheat productivity and regulating root growth under different planting patterns. Agricultural Water Management. 219: 1-11.
- Aliabadi Farahani, H, S. A.Valadabadi, J. Daneshian, A. H. Shiranirad & M. A. Khalvati. 2009. Medicinal and aromatic plants farming under drought conditions. Journal of Horticulture and Forestry. 1(6): 086-092.
- Amiri, H., D. Behrooz & S.R. Hosseinzadeh. 2018. Water Stress-induced Changes of Morphological, Physiological and Essential Oil Compounds in *Thymus eriocalyx* from Iran. Article in Journal of Essential Oil-Bearing Plants JEOP. 21(5): 1210-1223.
- Antonietta, M, D. D. Fanello, H. A. Acciaresi & J. J. Guiamet. 2014. Senescence and yield responses to plant density in stay green and earlier-senescing maize hybrids from Argentina. Field Crops Research. 155: 111-119.
- Argenta, G., P. R. F. da Silva & L. Sangoi. 2001. Arranjo de plantas em milho: análise do estado-da-arte. Ciência Rural. 31(6): 1075-1084.
- Badakhshan, F., F. Sedighi dehkordi & M. H. Mortazavi. 2018. The Effect of Plant Density and Cultivar on Morphological Characteristics, Yield and Quality Traits of Basil (*Ocimum basilicum L.*) in Hydroponic System. Journal of Horticulture Science. 32(2): 263-272.
- Bajji, M., S. Lutts & J. M. Kinet. 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment

- as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*. 160(4): 669–681.
- Bani-Hani, N. M., J. Al-Tabbal, S. Ahmed, M. A. Haddad, H. K. Aldalin, A. H. Al-Fraihat, H. H. Alhrouf, H. S. Hasan & F. M. Aldabbas. 2018. Effect of Plant Density on the Water Use Efficiency and Quality of Potato (*Solanum tuberosum* L. Cv. Spunta) in the Jordan Valley. *Journal of Agricultural Science*. 10(12): 203.
- Barakat, A., L. H. Wakim, N. A. Apostolides, G. Srour & M. El Beyrouthy. 2013. Variation in the essential oils of *Thymbra spicata* L. growing wild in Lebanon according to the date of harvest. *Journal of Essential Oil Research*. 25(6): 506–511.
- Bates, L. S., R. P. Waldren & I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205–207.
- Pishva, Z., M. Amini Dehaghi, A. Bostani, A. Najj. 2020. Biological and chemical nitrogen fertilizer impact on cumin (*Cuminum cyminum* L) under different irrigation regimens. *Journal of Herbed Pharmacology*. 9(1): 1–13.
- Brito, C., L. T. Dinis, H. Ferreira, J. Coutinho, J. Moutinho-Pereira & C. M. Correia. 2019. Salicylic acid increases drought adaptability of young olive trees by changes on redox status and ionome. *Plant Physiology and Biochemistry*. 141: 315–324.
- Candan, N. & L. Tarhan. 2003. Changes in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn-stressed *Mentha pulegium*. *Turkish Journal of Chemistry*. 27: 21–30.
- Carlson, R., F. Tugizimana, P. A. Steenkamp, I. A. Dubery, A. I. Hassen & N. Labuschagne. 2020. Rhizobacteria-induced systemic tolerance against drought stress in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Microbiological Research*. 232: 126–388.
- Ceotto, E., M. Di Candilo, F. Castelli, F. W. Badeck, F. Rizza, C. Soave, A. Volta, G. Villani & V. Marletto. 2013. Comparing solar radiation interception and use efficiency for the energy crops giant reed (*Arundo donax* L.) and sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Field Crops Research*. 149: 159–166.
- Chandra, D., R. Srivastava, B. R. Glick & A. K. Sharma. 2020. Rhizobacteria producing ACC deaminase mitigate water-stress response in finger millet (*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.). *3 Biotech*. 10(2).1–15
- Chavoushi, M., F. Najafi, A. Salimi & S. A. Angaji. 2020. Effect of salicylic acid and sodium nitroprusside on growth parameters, photosynthetic pigments and secondary metabolites of safflower under drought stress. *Scientia Horticulturae*. 259 (August 2019).
- Cheng, L., M. Han, L. Yang, Y. Li, Z. Sun & T. Zhang. 2018. Changes in the physiological characteristics and baicalin biosynthesis metabolism of *Scutellaria baicalensis* Georgi under drought stress. *Industrial Crops and Products*. 122: 473–482.
- Devnarain, N., B. G. Crampton, R. Chikwamba, J. V. W. Becker & M. M. O’Kennedy. 2016. Physiological responses of selected African sorghum landraces to progressive water stress and re-watering. *South African Journal of Botany*. 103: 61–69.
- Dogan, S., P. Turan, M. Dogan, O. Arslan & M. Alkan. 2007. Partial characterization of peroxidase from the leaves of thymbra plant (*Thymbra spicata* L. var. spicata). *European Food Research and Technology*. 225(5–6): 865–871.
- Duthie, G. & P. Morrice. 2012. Antioxidant capacity of flavonoids in hepatic microsomes is not reflected by antioxidant effects in vivo. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2012.
- Ebrahimian, E., S. M. Seyyedi, A. Bybordi & C. A. Damalas. 2019. Seed yield and oil quality of sunflower, safflower, and sesame under different levels of irrigation water availability. *Agricultural Water Management*. 218(April): 149–157.
- EL.Leithy, A., S. EL.Hanafy, M. Khattab, S. Ahmad & A. EL.Ghafour. 2017. Effect of nitrogen fertilization rates, plant spacing and their interaction on essential oil percentage and total flavonoid content of summer savory (*Satureja hortensis* L.) plant. *Egyptian Journal of Chemistry*. 60(5): 805–816.
- Emami Bistgani, Z., S. A. Siadat, A. Bakhshandeh, A. Ghasemi Pirbalouti & M. Hashemi. 2017. Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *The Crop Journal*. 5(5): 407–415.

- Fahlen, A., M. Welander & R. Wennersten. 1999. Effects of Light-Temperature Regimes on Plant Growth and Essential Oil Yield of Selected Aromatic Plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 73(1): 111–119.
- Fariaszewska, A., J. Aper, J. Van Huylenbroeck, J. Baert, J. De Riek, M. Staniak & L. Pecio. 2017. Mild Drought Stress-Induced Changes in Yield, Physiological Processes and Chemical Composition in *Festuca*, *Lolium* and *Festulolium*. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 203(2): 103–116.
- Farouk, S., & M. M. Omar. 2020. Sweet Basil Growth, Physiological and Ultrastructural Modification, and Oxidative Defense System Under Water Deficit and Silicon Forms Treatment. *Journal of Plant Growth Regulation*. 36:1306-1337.
- Ghahremani, A., A. Ghasemi Pirbalouti, H. Mozafari, D. Habibi & B. Sani. 2020. Phytochemical and morpho-physiological traits of mullein as a new medicinal crop under different planting pattern and soil moisture conditions. *Industrial Crops and Products*. 145: 111976
- Ghanati, F. & S. Bakhtiarian. 2014. Effect of methyl jasmonate and silver nanoparticles on production of secondary metabolites by *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 13(11):1783.
- Gomes, E. N., D. Moterle, L. A. Biasi, H. S. Koehler, L. A. Kanis & C. Deschamps. 2018. Plant densities and harvesting times on productive and physiological aspects of *Stevia Rebaudiana* Bertoni grown in southern Brazil. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*. 90(4): 3249–3264.
- Hay, R., & A. Walker. Harlow. 1989. *An Introduction to the Physiology of Crop Yield*. England: Longman Scientific and Technical. Pp: 292.
- Hosseini, N. S., Z. Ghasimi Hagh & H. Khoshghalb. 2020. Morphological, antioxidant enzyme activity and secondary metabolites accumulation in response of polyethylene glycol-induced osmotic stress in embryo-derived plantlets and callus cultures of *Salvia leriifolia*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 140(1): 143–155.
- Hou, X., R. Li, W. He & K. Ma. 2020. Effects of planting density on potato growth, yield, and water use efficiency during years with variable rainfall on the Loess Plateau, China. *Agricultural Water Management*. 230(10598): 105-121.
- Jaleel, C. A., Manivannan, P., B. Sankar, A. Kishorekumar, R. Gopi, R. Somasundaram & R. Panneerselvam. 2007. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 60(1): 7–11.
- Jamal Omid, F., H. Mohajjel Shoja & R. Sariri. 2018. Effect of water-deficit stress on secondary metabolites of *Melissa officinalis* L.: role of exogenous salicylic acid. *Caspian Journal of Environmental Sciences*. 16(2): 121–134.
- Jeyaramraja, P. R., S. Nithya Meenakshi, R. Sasi Kumar, S. D. Joshi & B. Ramasubramanian. 2005. Water deficit induced oxidative damage in tea (*Camellia sinensis*) plants. *Journal of Plant Physiology*. 162(4): 413–419.
- Jiang, X., L. Tong, S. Kang, F. Li, D. Li, Y. Qin, R. Shi & J. Li. 2018. Planting density affected biomass and grain yield of maize for seed production in an arid region of Northwest China. *Journal of Arid Land*. 10(2): 292–303.
- Kaggwa-Asiimwe, R., P. Andrade-Sanchez & G. Wang. 2013. Plant architecture influences growth and yield response of upland cotton to population density. *Field Crops Research*. 145: 52–59.
- Kalamartzis, I., C. Dordas, P. Georgiou & G. Menexes. 2020. The Use of Appropriate Cultivar of Basil (*Ocimum basilicum*) Can Increase Water Use Efficiency under Water Stress. *Agronomy*. 10(1). 1-16.
- Kang, S. M., R. Radhakrishnan, A. L. Khan, M. J. Kim, J. M. Park, B. R. Kim, D. H. Shin & I. J. Lee. 2014. Gibberellin secreting rhizobacterium, *Pseudomonas putida* H-2-3 modulates the hormonal and stress physiology of soybean to improve the plant growth under saline and drought conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*. 84: 115–124.
- Kaur, G., H. P. Singh & D. R. Batish. 2012. Growth, photosynthetic activity and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum*) after exposure of lead to soil. *Researchgate Net*. 33(2): 265–269.
- Khodabin, G., Z. Tahmasebi-Sarvestani, A. H. S. Rad & S. A. M. Modarres-Sanavy. 2020. Effect of Drought Stress on Certain Morphological and Physiological Characteristics of a Resistant and a Sensitive Canola Cultivar. *Chemistry and Biodiversity*. 17(2). 1-13.
- Kilic, T. 2006. Analysis of Essential Oil Composition of *Thymbra spicata* var. *spicata*: Antifungal,

- Antibacterial and Antimycobacterial Activities. *Zeitschrift Für Naturforschung C*. 61(5–6): 324–328.
- Kim, D. O., K. W. Lee, H. J. Lee & C. Y. Lee. 2002. Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(13): 3713–3717.
- Kizil, S., O. Toner, E. Diraz & S. Karaman. 2015. Variation of agronomical characteristics and essential oil components of Zahter (*Thymbra Spicata* L. var. *Spicata*) populations in semi-arid climatic conditions. *Turkish Journal of Field Crops*. 20(2): 242–251.
- Kleinwachter, M., J. Paulsen, E. Bloem, E. Schnug & D. Selmar. 2015. Moderate drought and signal transducer induced biosynthesis of relevant secondary metabolites in thyme (*Thymus vulgaris*), greater celandine (*Chelidonium majus*) and parsley (*Petroselinum crispum*). *Industrial Crops and Products*. 64: 158–166.
- Kumar, R., S. Sharma & V. Pathania. 2013. Effect of shading and plant density on growth, yield and oil composition of clary sage (*Salvia sclarea* L.) in north western Himalaya. *Journal of Essential Oil Research*. 25(1): 23–32.
- Lalelou, F. & M. Fateh. 2014. Effects of water deficit stress and nitrogen fertilizer on wheat varieties. *International Journal of Bioscience*. 4(9): 183–189.
- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in Enzymology*. 148(C): 350–382.
- Ma, N., J. Yuan, M. Li, J. Li, L. Zhang, L. Liu, M. S. Naeem & C. Zhang. 2014. Ideotype Population Exploration: Growth, Photosynthesis, and Yield Components at Different Planting Densities in Winter Oilseed Rape (*Brassica napus* L.). *PLOS ONE*. 9(12): 1-15.
- Maddonni, G. A. & M. E. Otegui. 2006. Intra-specific competition in maize: Contribution of extreme plant hierarchies to grain yield, grain yield components and kernel composition. *Field Crops Research*. 97(2–3): 155–166.
- Mafakheri, A., A. Siosemardeh, B. B. E. Pavel & Y. Sohrabi. 2010. No Title Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian Journal of Crop Science*. 4(8): 580–585.
- Magagula, N., M. P. Mabuza & N. Zubuko. 2020. Effects of Plant Density and Planting Pattern on Growth and Seed Yield of Groundnuts (*Arachis hypogaea*) in the Wet Middleveld of Eswatini. *Asian Plant Research Journal*. 3(2):1–12.
- Majd Nasiri, B., M. Karimi & G. Nourmohammadi. 2003. Effects of growing season and plant densities on water use efficiency in safflower (*Carthamus tinctorious* L.) cultivars and lines. *Agrobreed*. 4(4): 235–244.
- Merwad, A. R., E. S. Desoky & M. Rady. 2018. Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. *Scientia Horticulturae*. 228: 132–144.
- Miao, Y., Z. Zhu, Q. Guo, H. Ma & L. Zhu. 2015. Alternate wetting and drying irrigation-mediated changes in the growth, photosynthesis and yield of the medicinal plant *Tulipa edulis*. *Indust. Crops and Products*. 66: 81–88.
- Moeini Alishah, H., R. Heidari, A. Hassani & A. A. Dizaji. 2006. Effect of Water Stress on Some Morphological and Biochemical Characteristics of Purple Basil (*Ocimum basilicum*). *J. Biol.Sci*. 6(4): 763–767.
- Mohammadkhani, N. & R. Heidari. 2007. Effects of Water Stress on Respiration, Photosynthetic Pigments and Water Content in Two Maize Cultivars. *Pakistan.J. Biol. Sci*. 10(22): 4022–4028.
- Molor, A., A. Khajidsuren & U. Myagmarjav. 2016. Comparative analysis of drought tolerance of *Medicago* L. plants under stressed conditions. *Mong. J. Agri. Sci*. 19(3): 32–40.
- Monakhova, O. F. & I. I. Chernyad'ev. 2002. Protective Role of Kartolin-4 in Wheat Plants Exposed to Soil Draught. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 38(4): 373–380.
- Naghizadeh, M., R. Kabiri, A. Hatami, H. Oloumi, F. Nasibi & Z. Tahmasei. 2019. Exogenous application of melatonin mitigates the adverse effects of drought stress on morpho-physiological traits and secondary metabolites in Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica*). *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 25(4): 881–894.
- Nasiri, A., M. Samdaliri, A. Shirani Rad, N. Shahsavari, A. Mosavi Kale & H. Jabbari. 2017. Effect of

- plant density on yield and physiological characteristics of six canola cultivars. J.Sci. Agri. 1: 249-253.
- Olarewaju Okunlola, G., O.Abiodun Olatunji, R. Olutayo Akinwale, A. Tariq & A. Ajayi Adelus. 2017. Physiological response of the three most cultivated pepper species (*Capsicum* spp.) in Africa to drought stress imposed at three stages of growth and development. *Scientia Horticulturae*. 224: 198–205.
- Oliveira Neto, C. F., A. K. Silva Lobato, M. C. Goncalves-Vidigal, R. C. L. Costa, B. G. Santos Filho, G. A. Ruffeil Alves, W. J. Melloe Silva Maia, F. J. Rodrigues Cruz, H. K. Borges Neves & M. J. Santos Lopes. 2009. Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. *Journal of Food, Agriculture and Environmen*. 9(3–4): 588–593.
- Ordonez, A., J. Gomez, M. Vattuone & M. Lsla. 2006. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chemistry*. 97(3): 452–458.
- Pinhero, R. G., M. V. Rao, G. Paliyath, D. P. Murr & R. A. Fletcher. 1997. Changes in Activities of Antioxidant Enzymes and Their Relationship to Genetic and Paclobutrazol-Induced Chilling Tolerance of Maize Seedlings. *Plant Physiology*. 114(2): 695–704.
- Radi, A. A., F. A. Farghaly & A. Hamdeh. 2013. Physiological and biochemical responses of salt-tolerant and salt-sensitive wheat and bean cultivars to salinity. *Journal of Biology and Earth Sciences*. 3(1): B72–B88.
- Rahimi, A., S. Maddah Hoseini, A. Sajjadinia & H. Roosta. 2011. Water use and water-use efficiency of Isabgol (*Plantago ovata*) and French psyllium (*Plantago psyllium*) in different irrigation regimes. *Australian Journal of Crop Science*. 5: 71–77.
- Rahimi, Y., A. Taleei & M. Ranjbar. 2018. Long-term water deficit modulates antioxidant capacity of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Scientia Horticulturae*. 237: 36–43.
- Reddy, A. R., K. V. Chaitanya & M. Vivekanandan. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*. 161(11): 1189–1202.
- Ren, B., W. Liu, J. Zhang, S. Dong, P. Liu & B. Zhao. 2017. Effects of plant density on the photosynthetic and chloroplast characteristics of maize under high-yielding conditions. *Science of Nature*. 104(3–4): 1-12.
- Rezaei, M., & A. Ghasemi Pirbalouti, 2019. Phytochemical, antioxidant and antibacterial properties of extracts from two spice herbs under different extraction solvents. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 13(3): 2470–2480.
- Rostaei, M. & S. Fallah. 2016. Assessment of Canopy Characteristics and Essential Oil Yeild of Fenugreek and Black cumin in Intercropping under Application of Organic and Chemical Fertilizer. *Journal of Agricultural Science*. 25(4): 1–23.
- Salmaki, Y., S. Zarre, Z. Jamzad & C. Bräuchler. 2009. Trichome micromorphology of Iranian Stachys (Lamiaceae) with emphasis on its systematic implication. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 204(5): 371–381.
- Santabarbara, S., T. W. Brocklehurst & K. Redding. 2013. The Requirement for Carotenoids in the Assembly and Function of the Photosynthetic Complexes in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology*. 161(1): 535–546.
- Santos, C. L. V., A. Campos, H. Azevedo & G. Caldeira. 2001. In situ and in vitro senescence induced by KCl stress: nutritional imbalance, lipid peroxidation and antioxidant metabolism. *Journal of Experimental Botany*. 52(355): 351–360.
- Silva, M. A., J. L. Jifon, J. A. G. Silva & V. Sharma. 2007. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 19(3): 193–201.
- Taiz, L., & E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology*. 3rd edn. In Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, MA, USA: (Vol. 3).
- Tátrai, Z. A., R. S anoubar, Z. Pluhár, S. Mancarella, F. Orsini & G. Gianquinto. 2016. Morphological and Physiological Plant Responses to Drought Stress in *Thymus citriodorus*. *International Journal of Agronomy*. 10: 1–8.
- Toncer, O., E. Diraz & T. Sogut. 2016. Diurnal Variation Effects in Essential Oils of Wild Thyme (*Thymbra spicata* var. *spicata* L.) Under Cultivation Conditions. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 19(8): 2037–2048.
- Tran, T. T., V. T. Bui & H. T. Tran. 2020. Effect of drought stress and thermal pre-treatment on the in

- in vitro shoot development of *solanum lycopersicum* L. *Chemical Engineering Transactions*. 78(February): 229–234.
- Uysal, B., A. Gencer & B. S. Oksal. 2015. Comparative Antibacterial, Chemical and Morphological Study of Essential Oils of *Thymbra spicata* var. *spicata* Leaves by Solvent-Free Microwave Extraction and Hydro-Distillation. *International Journal of Food Properties*. 18(11): 2349–2359.
- Wagner, G. J. 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology*. 64(1): 88–93.
- Wang, S., H. Wang, Y. Zhang, R. Wang, Y. Zhang, Z. Xu, G. Jia, X. Wang & J. Li. 2018. The influence of rotational tillage on soil water storage, water use efficiency and maize yield in semi-arid areas under varied rainfall conditions. *Agricultural Water Management*. 203: 376–384.
- Watkinson, J. I., L. Hendricks, A. A. Sioson, C. Vasquez-Robinet, V. Stromberg, L. Heath, S. Schuler, M. Bohnert, H. J. Bonierbale & R. Grene. 2006. Accessions of *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* show differences in photosynthetic recovery after drought stress as reflected in gene expression profiles. *Plant Science*. 171(6): 745–758.
- Westgate, M. E., F. Forcella, D. C. Reicosky & J. Somsen. 1997. Rapid canopy closure for maize production in the northern US corn belt: Radiation-use efficiency and grain yield. *Field Crops Research*. 49(2–3): 249–258.
- Wolf, F. T. 1963. Effects of Light and Darkness on Biosynthesis of Carotenoid Pigments in Wheat Seedlings. *Plant Physiology*. 38(6): 649–652.
- Wu, X., J. Yuan, A. Luo, Y. Chen & Y. Fan. 2016. Drought stress and re-watering increase secondary metabolites and enzyme activity in *dendrobium moniliforme*. *Industrial Crops and Products*. 94: 385–393.
- Zaimenko, N. V., N. P. Didyk, O. I. Dzyuba, O. V. Zakrasov, N. V. Rositska & A. V. Viter. 2014. Enhancement of drought resistance in wheat and corn by nanoparticles of natural mineral analcite. *Ecologia Balkanica*. 6(1): 1–10.
- Zhang, F. & L. Li. 2003. Using competitive and facilitative interactions in intercropping systems enhances crop productivity and nutrient-use efficiency. *Plant and Soil*. 248(1/2): 305–312.

Investigating the effect of water stress and plant density on some physiological characteristics and water use efficiency in two ecotypes of *Thymbra spicata* L.

F. MalekMaleki^۱, N. Abbasi^۲, M.J. Zare^۳, E. Sharifi Ashoorabadi^۴

Received: 2023-02-12 Accepted: 2023-10-16

Abstract

The present study aims to investigate the changes in some physiological characteristics and water use efficiency of two ecotypes of *Thymbra spicata* L. in response to changes in water stress and plant density. For this purpose, an experiment was carried out as a split factorial based on the randomized complete block design with three replications and in two growing seasons (2016 and 2017) on the research farm of Ilam University. In this experiment, the main plots include three levels of water stress (non-stress, mild stress, and severe stress) and sub-plots include plant density treatments (6, 8, and 12 plants per m², respectively) and two native ecotypes of *Thymbra spicata* L. from the Zagros highlands (Sumar and Malekshahi). Based on the results of this experiment, photosynthetic pigments (a, b, and total), carotenoids, anthocyanins, antioxidant compounds, proline, and water use efficiency were significantly affected by water stress, plant density, and ecotype treatments. The highest content of chlorophyll-a was observed in the treatments of non-stress and mild stress and at a density of 6 and 8 plants per m². The highest content of chlorophyll-b was observed in the treatment of mild water stress and at a density of 8 plants per m². The highest content of total chlorophyll was observed in the treatment of non-stress and mild stress and at a density of 8 plants per m² during the first year of the experiment. Increased plant density and intensity of water stress led to a decrease in the content of photosynthetic pigments. The highest content of carotenoids was observed at the treatment of mild water stress and a density of 8 and 12 plants m² during the first year of the experiment. The highest content of anthocyanins was observed at the treatment of mild water stress and a density of 8 plants per m². The highest content of total phenol and flavonoids was observed at the treatment of severe water stress and a density of 12 plants per m². Finally, the highest amount of proline in the plant was observed in the second year of the experiment at the treatment of severe water stress and a density of 12 plants per m². Increasing the intensity of water stress and plant density increased the water use efficiency in the *Thymbra spicata* L. The Malekshahi ecotype had more photosynthetic pigments, carotenoids, and more water use efficiency than the Sumar ecotype.

Key words: Chlorophyll content; Anthocyanin; Total phenol; Flavonoids; Proline

^۱ Ph.D. of Crop Ecology, Faculty of Agriculture- Ilam University, Ilam, Iran.

^۲ Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

^۳ Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

^۴ Associate Prof., Medicinal Plants Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran