بررسی اثر کودهای زیستی بر برخی از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی *Dracocephalum kotschyi* Boiss. تحت رژیم‌های رطوبتی مختلف خاک

رامین چم[۱]، سیدعلی ابطحی[۲*]، مجتبی جعفری‌نیا[۳]، جعفر یثربی[٤]

[۱]دانشجوی دکتری، گروه خاکشناسی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

[۲]استاد، گروه خاکشناسی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

[۳]استادیار، گروه زیست شناسی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

[٤]استادیار، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۱/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۰۰/۲/۹

چکیده

زرین گیاه *Dracocephalum kotschyi* Boiss. از مهمترین گیاهان دارویی خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است تغییرات برخی از صفات فیزیولوژیکی، اثر کودهای زیستی در چهار سطح بر رشد زرین گیاه در شرایط که به علت تحمیل شرایط نامساعد محیطی در حال انقراض است. به‌منظور بررسی کارایی کودهای زیستی بر روی تنش خشکی در سه سطح (آبیاری تا تکمیل ٤٠، ٦٠ و ٨٠ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) آزمایشی در سال ۱۳۹۸ به اجرا درآمد. بررسی روند تغییرات رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلورسانس کلروفیل و میزان نسبی آب برگ در زرین گیاه نشان داد که با افزایش تنش خشکی میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل به همراه فلورسانس کلروفیل (*Fv/Fm*) کاهش معنی‌داری داشت. در حالی که مصرف کودهای زیستی سوپرنیتروپلاس و بیوفسفر در شرایط آبیاری تا تکمیل ٦٠ و ٤٠ درصد ظرفیت مزرعه‌ای به‌طور معنی‌داری میزان صفات فوق‌الذکر را در برگ‌های زرین گیاه در مقایسه با گیاهان تیمار شده با کود نیتروکسین و گیاهان شاهد بالاتر نگه داشت. افزایش شدت خشکی همچنین باعث افزایش معنی‌دار در کربوهیدرات‌ها، پروتیین‌های محلول، آنتوسیانین‌ها و فلاونوییدها گردید، که البته مصرف کودهای زیستی حاوی باکتری‌های محرک رشد, میزان این ترکیبات در مقایسه با شاهد همراه با افزایش بیشتری بود. بیشترین میزان آنتوسیانین (۳۷/۸۲ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه) و ترکیبات فلاونوییدها (۱٦/٦۲ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه) مربوط به گیاهان رشد یافته تحت تنش خشکی شدید (آبیاری تا تکمیل ٤٠ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) و مصرف کود زیستی بیوفسفر به‌دست آمد. براساس نتایج این آزمایش استفاده از کودهای زیستی سوپرنیتروپلاس و بیوفسفر باعث بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی زرین گیاه در هر دو شرایط تنش کم آبی و بدون تنش گردید. افزایش صفات اندازه‌گیری شده، نشان‌دهنده نوعی سازگاری به شرایط تنش خشکی به حساب می‌آید.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد، زرین گیاه، تنش خشکی، صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

*نویسنده مسئول: seyedaliabtahi@yahoo.com

مقدمه

جنس *Dracocephalum* از مهمترین جنس‌های خانواده نعناییان است که شامل ۱۸٦ گونه می‌باشد و در ایران ۸ گونه از این جنس موجود است که در قسمت‌هایی از شمال، غرب و مرکز ایران در رویشگاه‌های طبیعی نواحی کوهستانی و مرتفع کشور می‌رویند (Rechinger, 1982; Asadi and Khoshnood Yazdi, 2010; Ehsani et al., 2014, Sanbli et al., 2018) از نظر کاربرد در صنایع آرایشی، غذایی و به ویژه دارویی این گیاه اهمیت بسیار زیادی دارند. زرین گیاه که با نام بادرنجبویه دنایی نیز معروف است با نام علمی *Dracocephalum kotschyi* Boiss. متعلق به تیره نعناعیان بوده و گیاهی نیمه چوبی و چند ساله است (Atrashi and Moradi. 2012). این گیاه یکی از گونه‌های دارویی ایران است که از زمان‌های قدیم مورد توجه مردم محل رویش بوده است و در تمام فارماکوپه‌های معتبر از شاخساره زرین گیاه به عنوان دارو یاد شده و خواص درمانی آن مورد تأکید قرار گرفته است (Asadi and Khoshnood Yazdi, 2010; Atrashi and Moradi, 2012).

اندام رویشی زرین گیاه حاوی اسانس زردرنگ و بسیار معطر است که ترکیبات آن شامل لیمونین، آلفا ترپینئول، وربنون و کاریوفیلن می باشد (مظفریان، ۲۰۱۲). در برگ‌های این گیاه ترکیبی به نام اسپینال–زد وجود دارد که از سال‌های قبل در درمان سرطان مورد استفاده قرار گرفته است (جهانیانی و همکاران، ۲۰۰۵). دومنوترپن گلیکوزید جدیدی که شامل ۷ تپنویید و فیتواسترول است و خاصیت تسکین دهنده درد دارند از این گیاه استخراج می گردد (گلشانی و همکاران، ۲۰۰٤). تنش کم آبی یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده رشد در گیاهان است که به‌طور تقریبی ۲۵ درصد زمین‌های جهان را محدود می‌کند و عملکرد محصول را به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک کاهش می‌دهد. بر طبق مطالعات انجام شده در میان عوامل تنش زای زیستی و غیرزیستی تنش کم آبی باعث کاهش ٤٥ درصدی عملکرد محصول می‌گردد، که با توجه به گسترش مشکل تغییر اقلیم باعث به خطر افتادن بیشتر کشاورزی خواهد گردید. فشار ناشی از افزایش جمعیت و خشکی‌های پی در پی آینده به همراه رقابت بین کشاورزی و صنعت بر سر منابع آب، کشاورزی ایران را بیشتر دچار مشکل می‌کند. بنابر این اندیشیدن تدبیر جهت القاء مقاوت گیاه می‌تواند راهکاری بسیار مناسب در جهت افزایش تولیدات کشاورزی به حساب آید (Karimi et al., 2006; Kafi et al., 2009; Khan et al., 2010; Sun et al., 2020; Zhao et al., 2020). تنش کم آبی با تاثیر بر پتانسیل آبی و آماس سلول‌های گیاه کارایی طبیعی گیاه را مختل می‌کند و باعث تغییر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در گیاه می‌گردد (Rahdari and Hosseini, 2012; Parkash and Singh, 2020). تحت شرایط تنش خشکی مشکلات دیگری از جمله وضعیت نامناسب تغذیه‌ای و همچنین دمای بالا نیز شدیدتر می‌گردد که باعث پیچیده تر نمودن آثار مخرب تنش خشکی می‌شود (Yadav and Batagar, 2001; Da Costa et al., 2019). گیاهان دارویی ممکن است واکنش‌های متفاوتی در مقابل تنش کم آبی در عملکرد و مواد موثر تولیدی نشان دهند که برای فهم بیشتر این ویژگی‌ها، تحقیقات وسیعی بر روی گیاهان با ارزش دارویی همراه با اعمال تیمارهای مختلف نیاز است (Shirani Bidabadi et al., 2020). شیرانی بیدابادی و شریفی (۲۰۲۱) در مورد زرین گیاه گزارش کردند که وقوع شدت‌های متوسط خشکی نه تنها باعث افزایش میزان اسانس در این گیاه می‌گردد بلکه در نوع ترکیبات موجود در اسانس نیز موثر است. هزینه بالای نهاده‌های شیمیایی به همراه اثرات منفی آنها بر روی

محیط زیست باعث گردیده است. تحقیقات روی میکروارگانیزم‌های بهبوددهنده حاصلخیزی خاک (کودهای زیستی) به‌منظور تعدیل شرایط تنش کم آبی معطوف گردد (Anli et al., 2020). تلقیح با باکتری‌های مفید با موفقیت به‌عنوان یک جانشین موثر در کشاورزی پایدار تحت شرایط تنش محیطی گزارش گردیده است (Kumar et al., 2019; Abdel Latef et al., 2020). علاوه بر این، تلقیح گیاهان با باکتری‌های مفید و یا کودهای زیستی می‌تواند از طریق افزایش کارایی فتوسنتز، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث کاهش اثرات مضر تنش‌های محیطی بر گیاهان گردیده است (Duo et al., 2018; Javan Gholiloo et al., 2019). با افزایش مصرف گیاهان دارویی، حفظ این گیاهان در طبیعت و جلوگیری از انقراض آنها یکی از مهم‌ترین نکاتی است که باید مورد توجه قرار گیرد، چون برداشت متداوم این گیاهان در طبیعت باعث نابودی ذخایر ژنتیکی این گونه‌ها خواهد گردید (Fakhre tabatabaie, 1995; Omidbeigi, 2005).

یکی از راه‌های حفظ این ذخایر ژنتیکی ارزشمند، کشت انبوه آنها می‌باشد که لازم است ضمن حفظ استعدادهای اصیل ژنتیکی آنها، با بهینه‌سازی مراقبت‌های کشت و کار و عوامل اکولوژیکی موثر و سازگار با طبیعت میزان عملکرد و مواد موثره آنها افزایش یابد (Fakhre tabatabaie, 1995). در خصوص واکنش گیاهان دارویی به کودهای بیولوژیک اطلاعات کافی موجود نیست، با این حال حتی در صورتی که عملکرد این گیاهان با کودهای بیولوژیک پایین تر از کودهای شیمیایی باشد، تولید این گیاهان با استفاده از نهاده‌های بیولوژیک برای تولید فراورده‌های دارویی سالم توصیه می‌گردد (Jahan and Nasiri Mahallati, 2012). تحقیقات گسترده جهانی به‌منظور بسط استراتژی‌هایی جهت افزایش مقاومت واریته‌های گیاهی در برار خشکی است که اغلب آنها نیز همراه با صرف هزینه‌های بالا هستند. بنابر، مطالعات اخیر نشان می‌دهد که استفاده از میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌های محرک رشد گیاه) می‌تواند به‌عنوان یک روش جایگزین و مناسب در افزایش مقاومت به خشکی در گونه‌های گیاهی استفاده شود (Veruconda et al.. 2016). نظر به وضعیت بحران آب در ایران و مصرف عمده آن در بخش کشاورزی، علاوه بر لزوم تجدید نظر در نوع کشت گیاهان دارویی و استفاده از ژنوتیپ‌های حساس، مطالعه و شناخت راه‌ها کارهای افزایش مقاومت گیاه به خشکی و مدیریت آب نیز ضروری به نظر می‌رسد. در رابطه با واکنش زرین گیاه به کودهای زیستی در شرایط مختلف رطوبت قابل دسترس در خاک اطلاعات زیادی وجود ندارد. با توجه به این که تنش خشکی یکی از عوامل مهم محدود کننده در رشد و فیزیولوژی گیاهان به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می‌گردد و از طرف دیگر هدف جهانی در تولید گیاهان دارویی در جهت افزایش کیفیت، کمیت ماده موثره است، به نظر می‌رسد استفاده از کودهای زیستی از طریق بهبود رشد و خواص فیزیولوژیکی گیاه می تواند عملکرد گیاهان دارویی تحت تنش کم ابی افزایش دهد. بنا بر این، هدف این پژوهش بررسی تاثیر کاربرد کودهای زیستی بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندهای محلول، ترکیبات فلاونوئیدی و آنتوسیانینی در زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Boiss.) تحت رژیم‌های رطوبتی مختلف خاک است.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تنش کم آبی و تیمار کودهای زیستی بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی زرین گیاه، آزمایشی در سال زراعی

2019– 2018 در استان فارس شهرستان (شیراز، بخش ارژن) در گلخانه خان زنیان ۳۰ کیلومتری جنوب غربی اجرا گردید. اثرات دو عامل تنش کم آبیاری (در سه سطح) و کود زیستی (در چهار سطح) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار (هر تکرار شامل ۲۰ گلدان حاوی یک نشاء) در گلخانه به صورت آزمایش گلدانی حاوی محیط کشت کوکوپیت و پرلیت به نسبت ۱:۱ مورد بررسی قرار گرفت. نشاء زرین گیاه ابتدا به گلدان‌های حاوی کوکوپیت و پرلایت به نسبت ۱:۱ انتقال پیدا کردند و برای رشد و استقرار کافی به مدت ۳۰ روز با محلول هوگلند به فاصله هر ۳ روز آبیاری گردیدند و پس از طی ۳۰ روز دیگر ابتدا نشاء‌های ٦۰ روزه به شرح زیر با کود های زیستی تلقیح شدند و به‌مدت ٤٥ روز در معرض تنش خشکی قرار گرفتند. ریشه‌های گیاهان به‌مدت ۳۰ دقیقه در ۲۰ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری ها با غلظت (10^8 CFU/ml) غوطه‌ور شدند و سپس در داخل گلدان های حاوی پیت ماس و پرلیت به نسبت ۱:۱ انتقال یافتند. این نهال‌ها به مدت ٤٥ روز با توجه به اعمال تیمار تنش آبی شامل آبیاری تا تکمیل ۸۰ (آبیاری معمول)، ٦۰ (خشکی متوسط) و ٤۰ درصد ظرفیت مزرعه¬ای (خشکی شدید)، توسط محلول هوگلند آبیاری شدند. آبیاری گلدان‌ها با استفاده از محلول غذایی هوگلند با اعمال رژیم‌های آبیاری شامل آبیاری تا تکمیل ۸۰، ٦۰ و ٤۰ درصد ظرفیت زراعی و تیمارهای کودهای زیستی شامل: الف- کودهای زیستی نیتروکسین (حاوی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن از جنس *Azotobacter chorococum* و *Azospirillum lipoferoum* و باکتری حل کننده فسفات از جنس *Pseudomonas* sp. با 10^8 سلول زنده در هر میلی لیتر) ب- کود زیستی سوپر نیتروپلاس (شامل مجموعه ای از گونه‌های مختلف باکتری‌های تثبیت کننده ازت، باکتری‌های کنترل کننده عوامل بیماری زای خاکزی *Bacillus subtilis* و باکتری‌های محرک رشد شامل *Azospirillum* spp. و *Pseudomonas fluorescens* با 10^8 سلول زنده در هر میلی‌لیتر)، ج- بیوفسفر (شامل دو نوع باکتری حل کننده فسفر از گونه‌های *Bacillus lentus* و *Pseudomonas putida* با 10^8 سلول زنده در هر میلی‌لیتر) و ٤- عدم تلقیح با کود زیستی به‌عنوان شاهد استفاده گردید.

اعمال تنش خشکی با استفاده از روش وزنی مطابق (داوری‌نژاد و همکاران، ۱۳۹٤) (با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم) استفاده شد. با توجه به این که کشت نشاءها به صورت بدون خاک انجام گردید، پس از شروع آزمایش، اعمال تیمار تنش آبی، با جایگزین کردن آب معمولی توسط محلول هوگلند صورت گرفت. آبیاری و توزین گلدان‌ها هر دو روز یکبار انجام شد. در این تحقیق هیچ نوع کود شیمیایی، علف کش، آفت کش و یا قارچ کش استفاده نشد. در انتهای ٤٥ روز، تغییرات رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندهای محلول، ترکیبات فلاونوئیدی و آنتوسیانینی در زرین گیاهدر تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شد.

کلروفیل a و b بر طبق روش (Arnon, 1967) استفاده گردید. میزان فلورسانس کلروفیل، با محاسبه نسبت *Fv/Fm* توسط دستگاه فلورومتر (PAM-2500, Walz, Germany) اندازه‌گیری گردید. برای این منظور، برگ‌ها با اتصال گیره مخصوص به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری و سپس در معرض روشنایی قرار گرفتند. و میزان *Fv/Fm* محاسبه شده توسط دستگاه قرائت گردید. جهت تعیین RWC از روش Ritchie et al. (1991) استفاده شد. استخراج آنتوسیانین‌ها بر اساس روش (Wenger, 1919) انجام شد. بافت تازه گیاهی (۰/۱) به دقت توزین و

درهاونی که حاوی۱۰ میلی‌لیتر محلول متانول اسیدی (متانول و اسید کلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱) بود به‌طور کافی خرد گردید. عصاره‌ها در فالکون ریخته شده و ٢٤ ساعت در تاریکی و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از ٢٤ ساعت عصاره به‌دست آمده در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. به محلول رویی جدا شده ۲ میلی‌لیتر اتر به منظور حذف کلروفیل باقی مانده اضافه گردید. از محلول زیری برای سنجش آنتوسیانین استفاده شد و مقدار جذب آن در طول موج ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید (Ghorbanli et al., 2011). برای سنجش فلاونوئیدها ۰/۲ گرم ماده گیاهی شامل بافت ریشه و برگ‌ها در ۳ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (اتانول و اسید استیک به نسبت ۹۹ به ۱) خوب ساییده شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول رویی به‌مدت ۱۰ دقیقه در بنماری با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. میزان جذب نمونه‌ها پس از سرد شدن توسط اسپکترومتر در طول موج ۳۰۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه محتوای فلاونوئیدها بر حسب درصد از فرمول زیر استفاده شد (Krizak et al., 1998; Ghorbanli et al., 2011).

$$Fla = A_{300} \times \frac{V}{٧٠٠} \times ١٠٠$$

که در آن میزان فلاونوئیدها با Fla، حجم عصاره با V و میزان جذب نوری در طول موج ۳۰۰ با A_{300} نمایش داده شده است.

برای اندازه گیری کربوهیدرات‌های محلول ابتدا بخش هوایی و ریشه گیاهان در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤٨ ساعت خشک و آسیاب شدند. ۰/۱ گرم از نمونه آسیاب شده توزین و درون لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد v/v ریخته شد و به‌مدت یک هفته در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس محلول‌ها با کاغذ واتمن صاف گردید. برای حذف رسوبات اضافی و ترکیبات دیگر، به هر محلول پنج میلی‌لیتر از محلول ۵ درصد سولفات روی و پنج میلی‌لیتر از محلول هیدرواکسید باریم ۳ درصد نرمال اضافه گردید و محلول حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. به ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی نمونه‌ها یک میلی‌لیتر محلول ۵ درصد فنل و پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد v/v اضافه گردید. ۳۰ دقیقه پس از آماده‌سازی محلول‌ها، جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٤٨٥ نانومتر قرائت گردید. محتوای کربوهیدرات نمونه‌ها با استفاده از محلول‌های استاندارد گلوکز و با واحد میلی گرم در گرم وزن خشک ($mg\ g^{-1}\ DW$) محاسبه گردید (Schligel. 1986). برای سنجش محتوای پروتئین از روش (Bradford, 1966) استفاده گردید. برای رسم منحنی استاندارد از آلبومین گاوی استفاده شد و محتوای پروتئین نمونه‌ها با واحد $mg\ g^{-1}\ FW^{-1}$ بیان گردید.

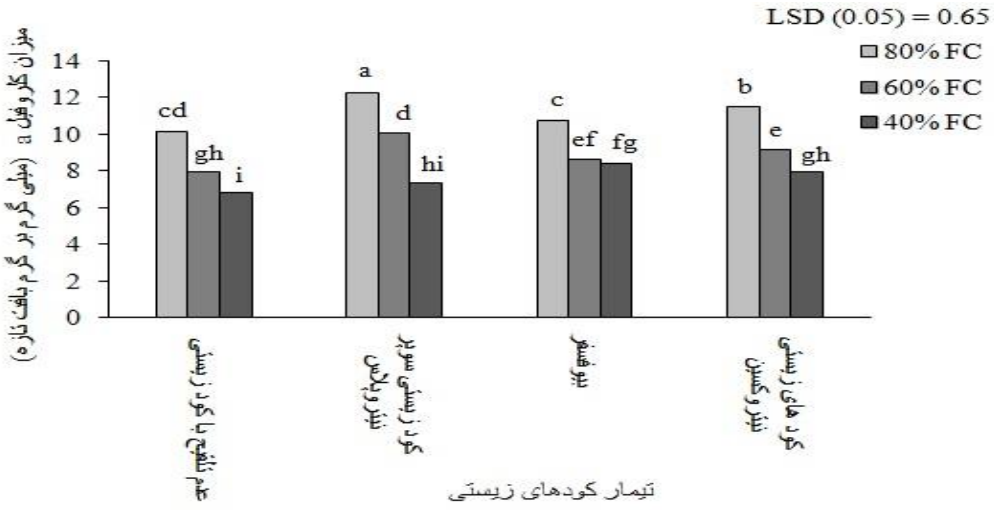
تجزیه واریانس داده‌های مربوط به کلیه صفات به کمک نرم‌افزارهای SAS 9.2 و MSTAT-C انجام گرفت و مقایسه میانگین بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد برآورد گردید. برای رسم نمودارها و انجام محاسبات جبری نیز از نرم افزار اکسل (نسخه ۲۰۱۳) استفاده شد.

نتایج

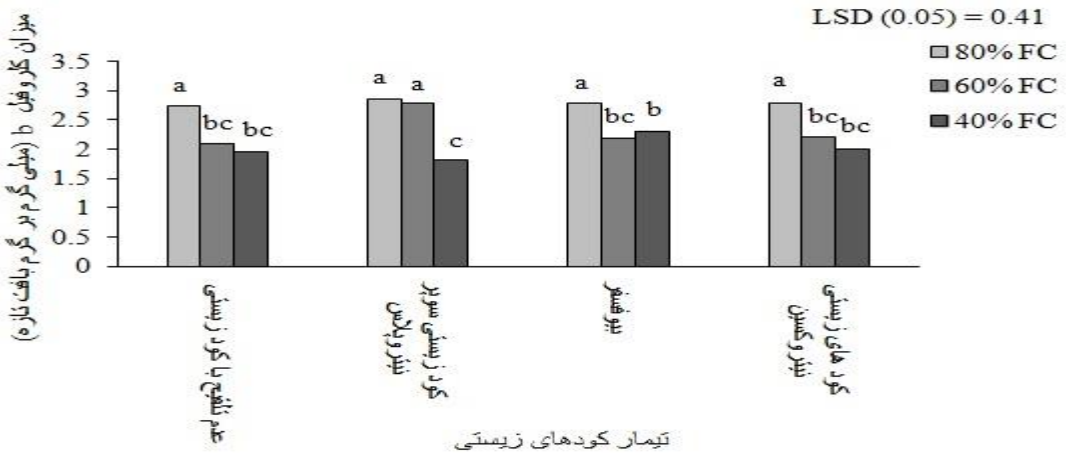
نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱) نشان داد که گیاهان تحت تیمار آبیاری مطلوب و کاربرد کودهای زیستی (سوپر نیتروپلاس) با میانگین ۱۲/۲۷ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه، بیشترین و گیاهان تحت تیمار تنش خشکی شدید و عدم مصرف کود زیستی با میانگین ٦/٨٣ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه، کمترین

میزان کلروفیل a را دارا بودند. همان‌طوری که در شکل‌های ۱ و ۲ مشاهده می گردد، در کلیه کودهای زیستی بالاترین میزان کلروفیل a و کلروفیل کل به گیاهان تحت آبیاری مطلوب و مصرف کود زیستی سوپر نیتروپلاس تعلق داشت. با بروز تنش خشکی، میزان کلروفیل a و کلروفیل کل برگ زرین گیاه کاهش یافت و در شرایط آبیاری تا تکمیل ٦٠ درصد ظرفیت مزرعه‌ای (تیمار خشکی متوسط) میزان کلروفیل a (شکل ۱) b (شکل۲) و a+ b (شکل ۳) با مصرف کود زیستی سوپر نیتروپلاس به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار با سایر کودهای زیستی و تیمار شاهد (بدون کود زیستی) بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها داده‌ها (شکل ۲) بیانگر این است که بیشترین میزان کلروفیل b (۲/۸٦ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه) در گیاهان کشت شده تحت شرایط آبیاری معمول و مصرف کود زیستی سوپر نیتروپلاس مشاهده گردید.بررسی روند تغییرات فلورسانس کلروفیل در زرین گیاه در پاسخ به انواع کودهای زیستی و رژیم‌های مختلف آبیاری نشان داد که، با افزایش تنش خشکی میزان فلورسانس کلروفیل (*Fv/Fm*) کاهش معنی‌داری داشت به‌طوری‌که میزان فلورسانس کلروفیل در شرایط تنش خشکی شدید ٥٩ درصد نسبت به شرایط آبیاری معمول کاهش نشان داد (شکل ٤). مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای مختلف رژیم آبیاری × کود زیستی نشان داد که بیشترین میزان فلورسانس کلروفیل در برگ زرین گیاه (۰/۷٦) با کود زیستی سوپر نیتروپلاس تحت شرایط آبیاری معمول (آبیاری تا تکمیل ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) به دست آمد (شکل ٤). مصرف کودهای زیستی سوپرنیتروپلاس و بیوفسفر در شرایط آبیاری تا تکمیل ٦٠ و ٤٠ درصد ظرفیت مزرعه‌ای به طور معنی داری میزان فلورسانس کلروفیل برگ را در زرین گیاه در مقایسه با گیاهان تیمار شده با کود نیتروکسین و گیاهان شاهد (بدون مصرف کود زیستی) بالاتر نگه داشت (شکل ٤). افزایش شدت خشکی باعث کاهش معنی دار میزان نسبی آب برگ در زرین گیاه گردید, به طوری که کم ترین میزان آب نسبی برگ (۵۷/۳۳ درصد) در تیمار عدم مصرف کودهای زیستی در شرایط آبیاری تا تکمیل ٤٠ درصد ظرفیت مزرعه‌ای (تیمار خشکی شدید) به دست آمد (شکل ٥). اگر چه تحت شرایط آبیاری کامل (آبیاری تا تکمیل ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) بین تیمار کود زیستی و عدم مصرف کودزیستی تفاوت معنی داری از لحاظ میزان نسبی آب برگ مشاهده نگردید، مصرف کلیه کودهای زیستی تحت هر دو رژیم کم آبیاری (آبیاری تا تکمیل ٦٠ و ٤٠ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) میزان نسبی آب برگ زرین گیاه را نسبت به عدم مصرف کود زیستی به‌طور معنی‌داری افزایش داد (شکل٥). افزایش شدت خشکی همچنین باعث افزایش معنی‌دار در کربوهیدرات‌ها (شکل ٦) و پروتئین‌های محلول (شکل ۷) گردید، به طوری که بیشترین میزان کربوهیدرات‌های محلول (۲/۳٦ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمار مصرف کودهای زیستی بیوفسفر در شرایط آبیاری تا تکمیل ٤٠ درصد ظرفیت مزرعه‌ای (تیمار خشکی شدید) به دست آمد (شکل ٦). در خصوص پروتئین‌های محلول مصرف کلیه کودهای زیستی تحت شرایط خشکی شدید (آبیاری تا تکمیل ٤٠ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) سبب افزایش میزان پروتیین‌های محلول گردید. اگرچه بین تیمار کود زیستی نیتروکسین و تیمار عدم مصرف کود زیستی (شاهد) تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۷). بررسی روند تغییرات میزان تجمع آنتوسیانین‌ها (شکل ۸) و ترکیبات فنولی (شکل ۹) در پاسخ به تنش کم آبی نشان داد که با مصرف کودهای زیستی حاوی باکتری‌های محرک رشد، میزان این ترکیبات در

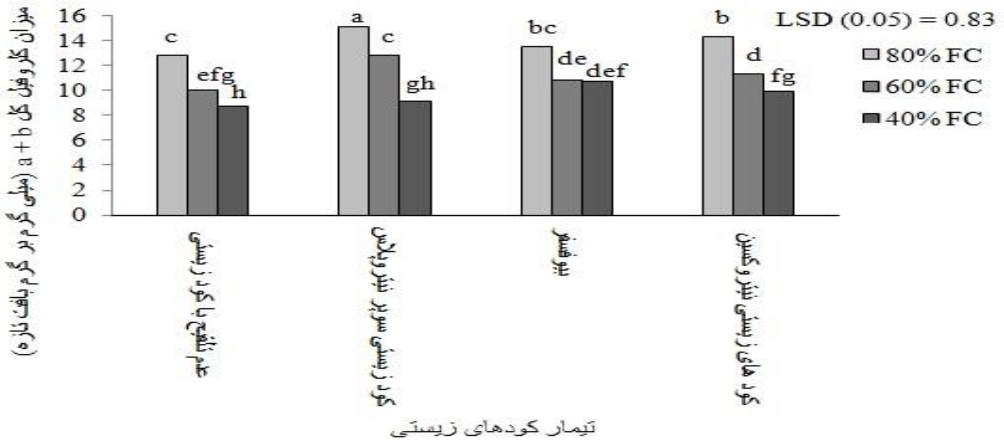
مقایسه با شاهد (تیمار عدم مصرف کودزیستی) افزایش معنی‌داری نشان داد. بیشترین میزان آنتوسیانین (۳۷/۸۲ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه) و ترکیبات فلاونوییدها (۱۶/۶۲ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه) مربوط به گیاهان رشد یافته تحت تنش خشکی شدید (آبیاری تا تکمیل ۴۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) و مصرف کود زیستی بیوفسفر به‌دست آمد (شکل‌های ۸ و ۹).



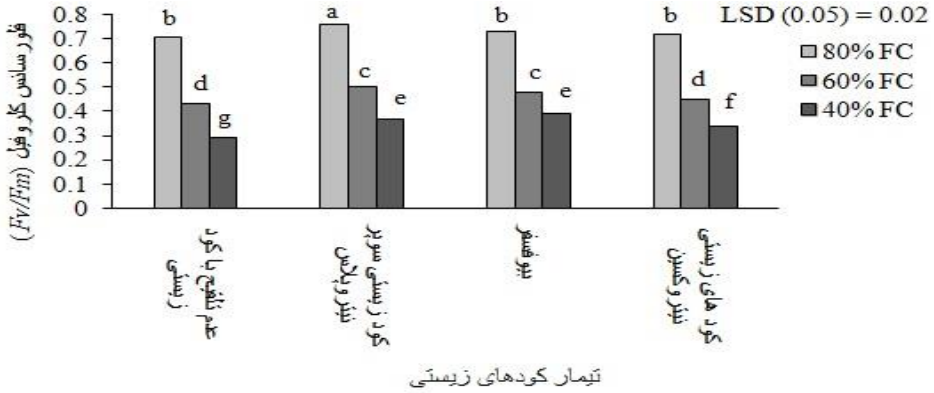
شکل ۱: مقایسه میانگین اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × کودهای زیستی بر میزان کلروفیل a در برگ گیاه زرین گیاه. گروه بندی‌های انجام شده در ستون‌های شکل بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در میانگین‌ها است.



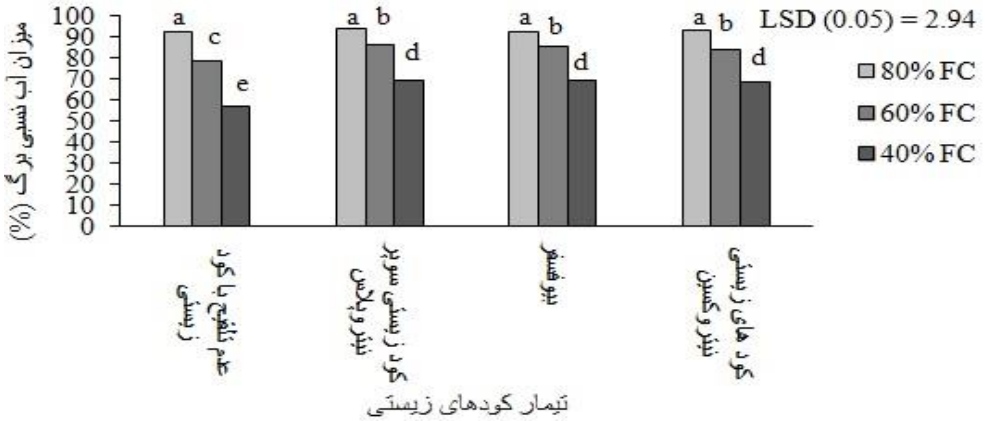
شکل ۲: مقایسه میانگین اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × کودهای زیستی بر میزان کلروفیل b در برگ گیاه زرین گیاه. گروه بندی‌های انجام شده در ستون‌های شکل براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در میانگین‌ها است.



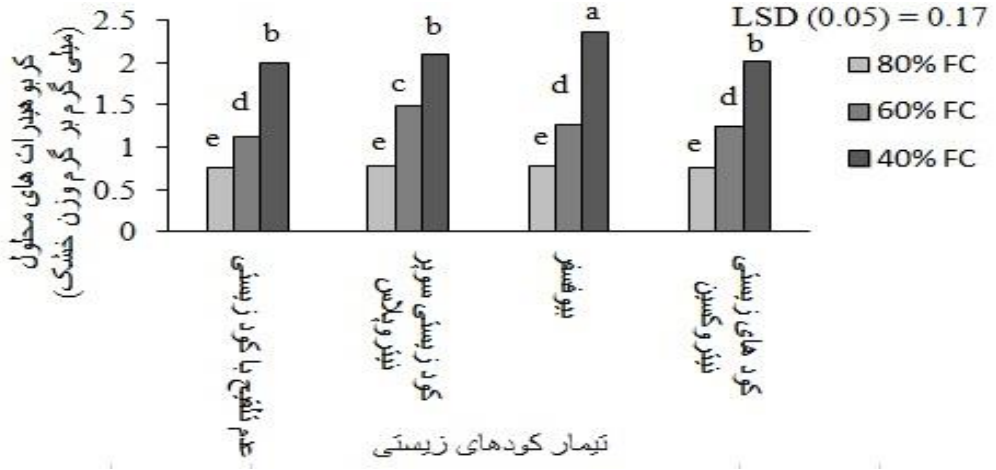
شکل ۳ : مقایسه میانگین اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × کودهای زیستی بر میزان کلروفیل a + b در برگ گیاه زرین گیاه. گروه بندی‌های انجام شده در ستون‌های شکل بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در میانگین‌ها است.



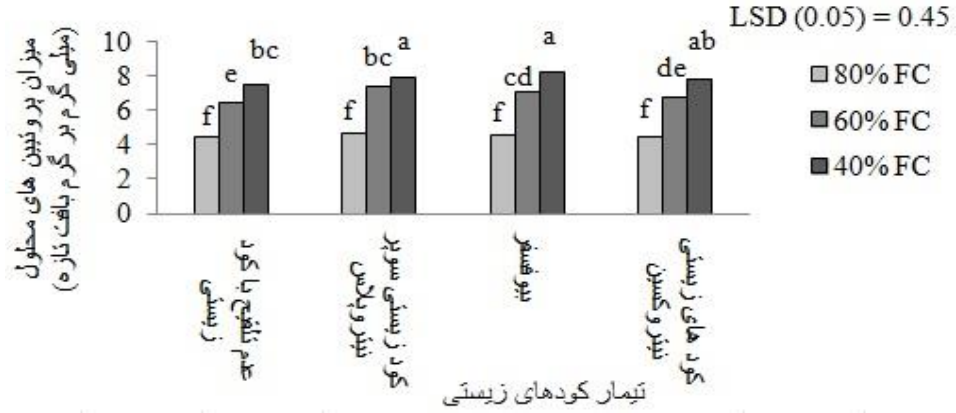
شکل ٤: مقایسه میانگین اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × کودهای زیستی بر فلورسانس کلروفیل در برگ گیاه زرین گیاه. گروه بندی‌های انجام شده در ستون‌های شکل بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در میانگین‌ها است.



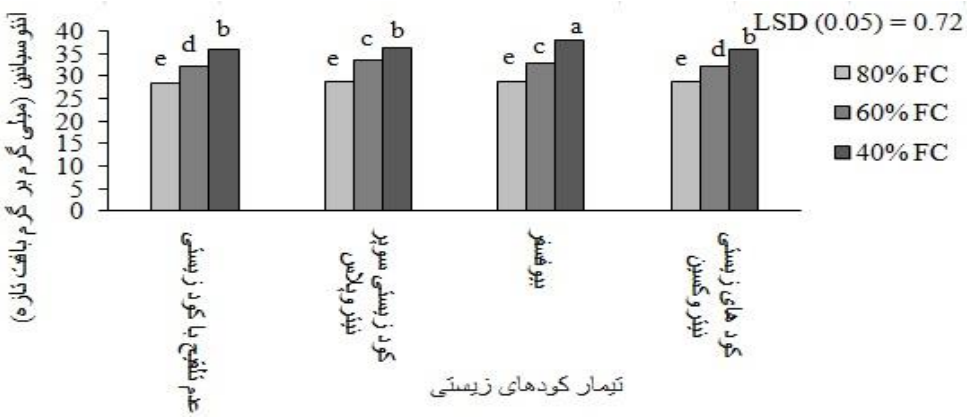
شکل ۵: مقایسه میانگین اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × کودهای زیستی بر میزان نسبی آب برگ گیاه زرین گیاه. گروه بندی‌های انجام شده در ستون‌های شکل بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در میانگین‌ها است.



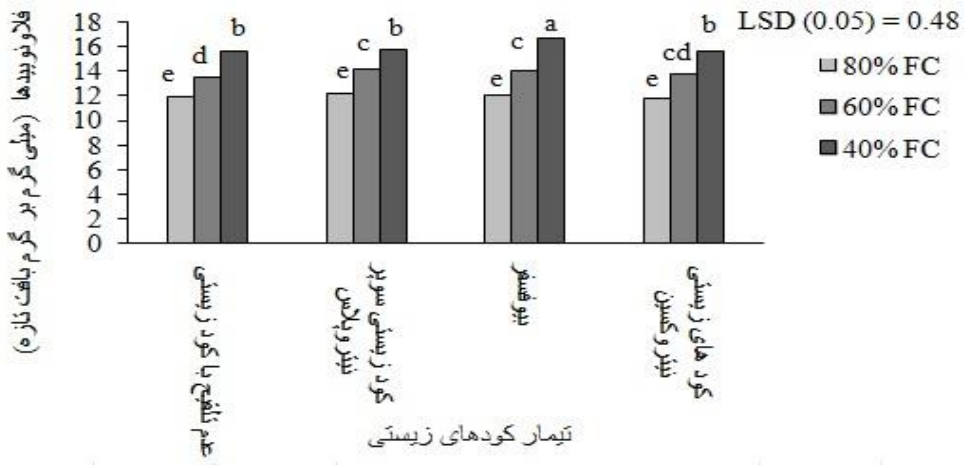
شکل ٦: مقایسه میانگین اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × کودهای زیستی بر میزان کربوهیدرات‌های محلول در برگ گیاه زرین گیاه. گروه بندی‌های انجام شده در ستون‌های شکل بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشد و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در میانگین‌ها است.



شکل ۷: مقایسه میانگین اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × کودهای زیستی بر میزان پروتیین‌های محلول در برگ گیاه زرین گیاه. گروه بندی‌های انجام شده در ستون‌های شکل بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می باشد و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در میانگین‌ها است.



شکل ۸: مقایسه میانگین اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × کودهای زیستی بر میزان آنتوسیانین در برگ گیاه زرین گیاه. گروه بندی‌های انجام شده در ستون‌های شکل بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در میانگین‌ها است.



شکل ۹: مقایسه میانگین اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × کودهای زیستی بر میزان فلاونوییدها در برگ گیاه زرین گیاه. گروه بندی‌های انجام شده در ستون‌های شکل بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در میانگین‌ها است.

بحث

در این تحقیق تغییرات محتوای کلروفیل گیاه در پاسخ به تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت. مقدار کلروفیل برگ به عنوان یک معیار بسیار ارزشمند برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیکی گیاه مورد توجه قرار گرفته است (Wang and Huang et al., 2004; Zhou et al., 2020). نتایج این تحقیق نشان‌دهنده تاثیر منفی کم آبی بر میزان کلروفیل زرین گیاه بود. در شرایط تنش آبی، عدم وجود آب به میزان کافی، باعث از بین رفتن کلروپلاست و در پی آن نقص در انجام وظایف کلروفیل‌ها مانند جذب و انتقال انژی در گیاه می‌گردد (Klinger et al., 2013). کاهش غلظت کلروفیل در شرایط خشکی می‌تواند به علت تاثیر تنش خشکی بر تجزیه کلروفیل و پراکسیداسیون آنها ناشی از افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن باشد (Bahawar et al., 2009; Tayebi et al., 2016).گونه‌های فعال اکسیژن سبب تخریب لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌گردند. در اثر تنش خشکی غشاء کلروپلاست‌ها پایداری خود را از دست می‌دهند و شکسته می‌شوند که پیامد آن کاهش میزان کلروفیل است (Gnana and Paliwal., 2011). به‌هر حال نتایج تحقیق نشان داد که به‌ویژه تحت تنش خشکی متوسط (رژیم آبیاری تا تکمیل ٦٠ درصد ظرفیت مزرعه‌ای)، بیشترین میزان کلروفیل a برگ به گیاهانی تعلق داشت که تحت تیمار کود زیستی سوپرنیتروپلاست قرار داشتند. براساس تحقیقات قبلی در حدود ۷۰ درصد نیتروژن برگ در کلروپلاست‌ها انباشته می‌گردد (Majidian et al., 2007; Gayo et al., 2020). بنابر این دلیل افزایش میزان کلروفیل a را با تیمار سوپرنیتروپلاست می‌توان به افزایش در جذب نیتروژن توسط باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن در کود زیستی و فراهم شدن نیتروژن کافی جهت تولید کلروفیل به ویژه تحت شرایط کم آبی دانست نسبت داد. تحت شرایط تنش شدید خشکی به علت آسیب بسیار زیاد و تخریب بیش از حد کلروپلاست‌ها حتی وجود کافی ازت به واسطه حضور باکتری‌های محرک رشد هم قادر به جلوگیری از کاهش میزان کلروفیل نیست. دینگ و همکاران (Ding et al., 2018) تنش خشکی را عامل کمبود نیتروژن دانستند و گزارش کردند تنش خشکی از طریق کاهش میزان نیتروژن باعث کاهش میزان کلروفیل می‌گردد. کاهش میزان نیتروژن در اثر خشکی باعث کاهش رشد و زردی

برگ‌ها می گردد و به همین دلیل نتایج این تحقیق نشان داد که وجود باکتری‌های تثبیت کننده ازت باعث افزایش میزان کلروفیل در گیاهان رشد یافته تحت شرایط تنش خشکی بود. البته نتایج نشان داد که تیمار خشکی و کودهای زیستی تاثیر قابل توجهی روی کلروفیل b نداشت که با نتایج دولت آبادیان و همکاران (Dolatabadian et al., 2009) روی ذرت مطابقت داشت. در تحقیق حاضر، مصرف کودهای زیستی سوپرنیتروپلاس و بیوفسفر تحت شرایط کم آبی باعث جلوگیری از کاهش بیشتر نسبت *Fv/Fm* گردید. کاهش نسبت *Fv/Fm*، نشان‌دهنده خرابی مراکز واکنش فتوسیستم II یا اختلال در انتقال انرژی الکترون برای برانگیختگی مراکز واکنش در فتوسنتز است که به‌عنوان یکی از معیارهای مهم جهت ارزیابی میزان مقاومت به تنش‌هایی مثل خشکی در نظر گرفته می‌شود (Urban et al., 2017). مصرف کودهای زیستی در گیاهان زرین گیاه رشد یافته تحت تنش‌های خشکی احتمالا از طریق بالا بردن محتوای نسبی آب و استفاده بهتر از آب, جریان الکترون را در دستگاه فتوسنتزی از فتوسیستم II به فتوسیستم I بهبود می‌بخشند (Parakash and Ramachandran, 2000). نتایج این تحقیق نشان گر این است که کودهای زیستی توانسته‌اند حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II را ثابت نگه دارند. افزایش و بهبود کارایی کوانتومی فتوسنتز (*Fv/Fm*) توسط استفاده از میکروارگانیزم‌های هم زیست با گیاهان در تحقیقات قبلی گزارش گردیده است (Khairizadeh Arough and Seyed Sharifi, 2018; Sayar et al., 2008; Shirani Bidabadi et al., 2020) که نتایج این تحقیق را بیشتر تایید می‌کند. در گیاهانی که دارای *Fv/Fm* پایین‌تر دارند، دستگاه فتوسنتزی در آنها به خشکی حساس تر است (Skotnika et al., 2000; Urban et al., 2017). بر این اساس نتایج این تحقیق نقش مثبت باکتری‌های هم زیست محرک رشدرا در تقویت سیستم فتوسنتزی زرین گیاه تحت تنش‌های خشکی به اثبات می‌رساند. نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که مصرف کود زیستی بیوفسفر نیز میزان کارایی فتوسنتز را تحت هر دو رژیم کم آبیاری افزایش داد. این نقش مثبت در کود زیستی بیوفسفر را می توان به نقش مثبت باکتری‌های محرک رشد در از بین بردن باکتری‌های بیماری‌زا، حل فسفات نامحلول توسط باکتری‌های موجود در کود زیستی بیوفسفر (با توجه به این که فسفر عنصر بسیار مهمی برای بهبود فتوسنتز است) و تولید تنظیم کننده‌های رشد گیاهی نسبت داد (Klopper et al., 1989; Ding et al., 2018). تنش خشکی باعث کاهش میزان آب نسبی برگ در زرین گیاه گردید گه با نتایج Silva و همکاران (2010) مبنی بر کاهش میزان آب نسبی برگ تحت تنش خشکی مطابقت دارد. به هر حال استفاده از کودهای زیستی باعث جلوگیری از کاهش بیشتر نسبی آب برگ در زرین گیاه گردید که گزارش‌های قبلی (Guo et al., 2010; Vardharajola et al., 2011; Khairizadeh Sharifi, 2018 Arouq and Seyed). نیز نشان‌دهنده تاثیر مثبت میکروارگانیزم‌های هم زیست و باکتری‌های محرک رشد در افزایش میزان آب نسبی برگ گیاهان رشد یافته تحت شرایط تنش خشکی است. شاهرونا و همکاران (Shahruna et al., 2006) نیز گزارش کردند که مصرف کودهای زیستی حاوی باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش ۲۲ تا ۲۹ درصدی میزان آب نسبی برگ گیاه در شرایط تنش خشکی نسیت به شاهد گردید که نتایج این تحقیق را بیشتر تایید می‌کند. یا و همکاران (Yi et al., 2020) گزارش کردند که تیمار گیاهان گوجه فرنگی با کودهای بیولوژیکی سبب افزایش میزان کربوهیدرات‌های کل و محلول گردید که نتایج تحقیق حاضر را بیشتر تایید می‌کند. واردهاراجولا و همکاران (Wardharajula et al., 2011) گزارش کردند که گیاهان ذرت تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد

میزان اسیدهای آمینه، پتانسیل آبی برگ، قندها و پرولین بیشتری در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده تولید کردند که نتایج این تحقیق را بیشتر تایید می‌کند. تجمع قندهای محلول به‌عنوان اسمولیت یکی از مکانیسم‌های مهم سازگاری با شرایط خشکی در جهت تنظیم فشار اسمزی گیاه است (Anne Buck et al., 1997; Guerrero et al., 2020). افزایش میزان قندهای محلول در گیاهان در معرض تنش مشاهده گردیده است (Dekanova et al., 2004; Guerrero et al., 2020). دانهال‌های ذرت تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد مقدار بیشتری از قندهای محلول انباشته شده نشان دادند که باعث افزایش بیشتر در میزان مقاومت به خشکی در گیاهان تلقیح شده گردید. ساندهایا و همکاران (Sandhaya et al., 2010). گزارش کردند که تاثیرات منفی خشکی روی رشد گیاه بدون حضور باکتری‌های محرک رشد را به کاهش میزان تجمع قندهای محلول دانستند که نتایج ما را در خصوص زرین گیاه تایید می‌کند. رحیمی و همکاران (Rahimi et al., 2019) گزارش کردند که استفاده از کودهای بیولوژیک سبب افزایش کلروفیل, میزان کارتنوییدها و فنل کل در گیاه *Cephalaria syriaca* گردید که با نتایج تحقیق حاضر در زرین گیاه مطابقت دارد. نقش محافظتی آنتوسیانین‌ها در القاء مقاومت به خشکی به از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قوی نسبت داده می‌شود (Spredoli and Mustacas, 2012). ترکیبات فنلی همچنین نقش حفاظتی در مقابل تنش اکسیداتیو دارند به‌طوری‌که رادیکال‌های ازاد را از بین می‌برند (Berley et al., 2010). نتایج یک تحقیق نشان داد که تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد با کاهش دادن میزان رادیکال‌های فعال و مالون دی آلدهاید، گیاهان را در مقابل تنش اکسیداتیو مقاوم‌تر کردند که نتایج تحقیق حاضر را بیشتر تایید می‌کند. استفاده از کودهای زیستی از کاهش شدید پروتیین‌ها در گیاهان که در اثر خشکی ایجاد می گردد جلوگیری می‌کنند (Chavohan and Bagiaraj, 2015) که با نتایج تحقیق حاضر در خصوص تاثیر مثبت باکتری‌های محرک رشد بر کاستن اثرات مخرب خشکی روی پروتئین‌ها مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به داده‌های این تحقیق می‌توان چنین نتیجه گرفت که گیاهان در هنگام رو به رو شدن با تنش خشکی با ایجاد تغییرات در برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی خود مانند افزایش در میزان کربوهیدرات‌های محلول، پروتین‌های محلول، ترکیبات فلاونوییدی و آنتوسیانین با تنش مقابله می‌کنند که باعث دوام گیاه دارویی زرین گیاه در تنش‌های بسیار شدید می‌شود. استفاده از کود زیستی، به‌ویژه سوپرنیتروپلاس باعث بهبود بیشتر در برخی از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در این آزمایش گردید. زرین گیاه مانند اکثر گیاهان دارویی در برابر تنش کم آبی پاسخ‌های متفاوت فیزیولوژیک را نشان می‌دهد. افزایش صفات اندازه‌گیری شده در این تحقیق نشان‌دهنده نوعی سازگاری به شرایط تنش خشکی به حساب می‌آید. در نهایت پیشنهاد می‌شود مکانیزم‌های دخیل در بهبود رشد زرین گیاه توسط کودهای زیستی از جمله روند تغییرات صفات فیزیولوژیکی بررسی شوند. در ضمن با توجه به نقش کودهای بیولوژیک در جلوگیری از تاثیرات زیان آور عوامل بیماری زا و افزایش مقاومت گیاه کاربرد این کودهای زیستی در مبارزه با بیماری‌های رایج زرین گیاه در مناطق مختلف کاشت مورد بررسی قرار گیرد.

References

1. Abdel Latef, A.A.H., Abu Alhmad, M.F., Kordrostami, M., Abo–Baker, A.B.A.E. and Zakir, A. 2020. Inoculation with *Azospirillum lipoferum* or *Azotobacter chroococcum* reinforces maize growth by improving physiological activities under saline conditions. J. Plant Growth Regul. 39: 1293–1306. DOI: 10.1007/s00344-020-10065-9.
2. Anli, M., Baslam, M., Tahiri, A., Raklami, A., Symanczik, S., Boutasknit, A., El Mokhtar, M. Brn-Laouane, R.B., Toubali, S., Rahou, Y.A., Chitt, M.A., Oufdou, K., Mitsui, T., Hafidi, M., and Meddich. A. 2020. Biofertilizers as strategies to improve photosynthetic apparatus. Growth. and drought stress tolerance in the date palm. Front. Plant Sci. https://doi.org /10.3389/ fpls.2020. 516818.
3. Asadi, A.M., and Khoshnoodi Yazdi, A. 2010. Investigation of ecological characteristics of *Dracocephalum kotschy* Boiss. In the pastures of Bojnourd city. Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research. 26(3): 406-414.
4. Atrashi, M., and Moradi, K. 2012. Effect of microsamples and growth hormones on direct regeneration of *Dracocephalum kotschy* Boiss.) Using tissue culture technique. Herbal Remedies. 3: 127-134.
5. Bahrami, Kh., Omidbeigi, R. 2002. The effect of nitrogen and phosphorus on fertility and quality of the active ingredient of the medicinal plant *Phagopyrum*. Master Thesis in Horticulture. Faculty of Agricultural Sciences. Trabiat Modares University.
6. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-54.
7. Da Costa, R.M.F., Simister, R., Roberts, L.A., Timms-Taravella, E., Cambler, A.B., Corke, F.M.K., Han, J., Ward, R.J., Buckeridge, M., Gomez, L.D., and Bosch, M. 2019. Nutrient and drought stress: implications for phenology and biomass quality in miscanthus. Annals of Botany, 124 (4): 553-566.
8. Dekankova, K., Luxova, M., GaS parikova, O. and Kolarovi, C.L. 2004. Response of maize plants to water stress. Biologia 13: 151-155.
9. Ding, L., Lu, Z., Gao, L., Guo, S., and Shen, Q. 2018. Is nitrogen a key determinant of water transport and photosynthesis in higher plants upon drought stress Frontiers in Plant Science 10: 1143. https://doi.org/10.3389 /fpls.2018.01143.
10. Davari Nejad, G.H., Shirani, S., and Zareie, M. 2015. The effect of irrigation regimes on some morphophysiological characteristics of four fig cultivars. Journal of Horticultural Sciences. 9 (4): 500-517.
11. Duo, L.A., Liu, C.X., and Zhao. S.L. 2018. Alleviation of drought stress in turf grass by the combined application of nano-compost and microbes from compost. Russ. J. Plant Physiol. 65: 419-426. DOI: 10.1134/ S1021443718030 10X.
12. Ehsani, A., Mozafarian, W., and Najafpour Nouraei, M. 2014. Investigation of distribution and introduction of medicinal species of mint (Lamiaceae) in Mazandaran province. Second National Conference on Medicinal Plants and Sustainable Agriculture. Hamedan, https:// civilica.com/doc/306533.
13. Enebak, S.A., Wei, G., and Kloepper, J.W. 1997. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on loblolly and slash pine seedlings. Forest Sci. 44: 139-144.
14. Gao, C., El-Sawah, A., Ali, D.F.I. Hamoud, Y.A., Shaghaleh, H., and Sheteiwy, M.S. 2020. The integration of bio and organic fertilizers improve plant growth, grain yield, quality and metabolism of hybrid maize (*Zea mays* L.). Agronomy. 10(3): 319. https://doi.org/ 10.3390/agronomy10030319.
15. Ghorbanli, M., Bakhshi Khaniki, G.R., and Zakeri, A. 2011. The effect of drought stress on antioxidant compounds in flax (*Linum usitatissimum* L.). Iranian Journal of Medicinal and

Aromatic Plants Research. 27(4): 647-658.
16.Fakhr Tabatabai, M. 1995. Living Nature: A Systemic Clash. Publishing Joint Stock Company, Tehran. P 384.
17.Golshani, S., Karamkhani, F., Monsef esfehani, H.R. and Abdollahi, M. 2004. Antinociptive effects of the essential oil of *Dracocephalum kotschyi* in the mouse writhing test. Journal of Pharmaceutical Sciences, 7(1): 76-79.
17. Guo, Y., Ni, Y. and Huang, J. 2010. Effects of rhizobium, arbuscular mycorrhiza and lime on nodulation, growth and nutrient uptake of lucerne in acid purplish soil in China. Tropical Grasslands 44: 109-114.
18.Gurrieri, L., Merico, M., Trost, P., Forlani, G., and Sparla, F. 2020. Impact of drought on soluble sugars and free proline content in selected *Arabidopsis* mutants. 9(11): 367. https://doi.org /10.3390/biology9110367.
19.Hsiao, A. 2000. Effect of water deficit on morphological and physiological characterizes in Rice (*Oryza sativa*). J. Agri. 3: 93-97.
20.Hughes. S.G., Bryant. J.A., and Smirinoff, N. 1989. Molecular biology. Application to studies of stress tolerance. In: Plants under stress. Pp: 131-135.
21.Jahan. M., and Nasiri Mahallati, M. 2012. Soil fertility and biological fertilizers (agroecological approach). Ferdowsi University of Mashhad Publications. P250.
22.Jahanian, F., Ebrahimi, S.A., Rahbar Roshandel, N., and Mahmoudian, M. 2005. Xanthomicrol is the main cytotoxic component of *Dracocephalum kotschyii* and a potential anti-cancer agent. Phytochemistry, 66(13): 1581-1592.
23.Javan Gholiloo. M., Yarnia, M., Ghorttapeh, A.H., Farahvash. F., and Daneshian, A.M. 2019. Evaluating effects of drought stress and bio-fertilizer on quantitative and qualitative traits of valerian (*Valeriana officinalis* L.). J. Plant Nut. 42: 1417–1429. doi: 10.1080/01904167.2019.1628972.
24.Kafi, M., Borzooei, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masumi, A. and Nabati, J. 2009. Physiology of environmental stresses in plants. Jahad of University of Mashhad University Press. 502 p.
25.Karimi, Gh., Ghorbanli, M., Heydari Sharif Abad, H., and Osareh, M. 2006. Survey for resistance to salinity in pasture species (*Atriplex vertucifera* M. B). Journal of Research and Building. 3(73): 42-48.
26. Khan, A.S., Ul-Allah, S., and Sadique. S. 2010. Genetic variability and correlation among seedling traits of Wheat (*Triticum sativum*) under water stress. International Journal of Agriculture and Biology, 12(2): 247-250.
27.Kheirizadeh Arough, Y., Seyed Sharifi, R., and Seyed Sharifi, R. 2016. Bio fertilizers and zinc effects on some physiological parameters of triticale under water-limitation condition. International Journal of Interactions, http://dx.doi.org/10.1080/17429145.2016.1262914.
28.Kloepper, J.W., Lifshitz, R., and Zablotowicz, R.M. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productity. Trends Biotechnol, 7: 39-43.
29. Kumar, A., Patel, J.S., Meena, V.S. and Srivastava, R. 2019. Recent advances of PGPR based approaches for stress tolerance in plants for sustainable agriculture. Biocatal. Agri. Biotechnol. 20:101271.doi:10.1016/j.bcab.2019.101271.
30.Majidian, A., Ghalavand, M., Haghighati, A., and Karimian, A. 2007. Translation error effect of drought stress, chemical fertilizer and organic fertilizer at different growth stages on agronomic characteristics of corn. Proceedings of the 2th National Conference on Ecology. (In Persian).
31.Mozaffarian, V. 2012. Identification of medicinal and aromatic plants of iran. Farhang e moaser press. 1444 p.
32. Omid Beigi, R. 2005. Approaches to the production and processing of medicinal plants. Volume One, Fekr Rooz Publications. 215 p.
33.Parakash, V., and Singh, S. 2020. A review on potential plant-based water

stress indicators for vegetable crops. Sustainability 12: 3945. DOI: 10.3390/su12103945.

34.Prakash, M., and Ramachandran, K. 2000. Effects of moisture stress and anti transpirantsion leaf chlorophyll. Soluble protein and photosynthetic rate in brinjal plants. Journal of Agronomy 184: 153-156.

35.Rahdari. P., and Hoseini, S.M. 2012. Drought Stress: A Review. Intl J Agron Plant Prod 3:443-446.

36. Rahimi. A., Moghaddam, S.S., Ghiyasi, M., Heydarzadeh, S., Ghazizadeh, K., and Popovic- Djordjevic, J. 2019. The influence of chemical organic and biological fertilizers on agrobiological and antioxidant properties of syrian cephalaria (*Cephalaria syriaca* L.). Agriculture. 9: 122, DOI: 10.3390/agriculture9060122.

37. Rechinger, Kh. 1982. Labiatae In: Flora Iranica, 150, Verlagsanstat, Austria: Akademische Druch-u.

38.Ritchie, S.W., Nyvgen, H.I., and Halady, A.S. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Sci. 30: 105-111.

39.Sandhya. V., Ali, S.K.Z., Grover, M. Reddy, G., and Venkateswaralu, B. 2010. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. Plant Growth Regulation 62(1): 21-30.

40. Sayar, R., Khemira, H., Kameli, A., and Mosbahi, M. 2008. Physiological tests as predictive appreciation for drought tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). Agronomy Research 6(1): 79-90.

41.Shaharoona, B., Arshad, M., and Zahir, Z.A. 2006. Effect of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC deaminase on maize (*Zea mays* L.) growth under axenic conditions and on nodulation in mung bean (*Vigna radiata* L.). Letters in Applied Microbiology. 42(2): 155-159.

42.Shirani Bidabadi, S., and Mehralian, M. 2020. Seed bio-priming to improve germination, seedling growth and essential oil yield of *Dracocephalum Kotschyi* Boiss, an Endangered Medicinal Plant in Iran. Gesunde Pflanzen, 72(1): 17-27.

43.Shirani Bidabadi, S., and Sharifi P. 2021. Strigolactone and methyl Jasmonate-induced antioxidant defense and the composition alterations of different active compounds in *Dracocephalum kotschyi* Boiss under drought stress. Journal of Plant Growth Regulation, 40: 878- 889.

44.Sonboli. A. Mirzania, F., and Gholipour, A. 2018. Essential oil composition of *Dracocephalum kotschyi* Boiss., from Iran. Natural Product Research doi: 10.1080/14786419.2018.1482550.

45.Sperdouli, I., and Moustakas, M. 2012. Interaction of proline, sugars. and anthocyanins during photosynthetic acclimation of Arabidopsis thaliana to drought stress. J. Plant Physiol. 169: 577–585.

46.Sun, Y., Wang, C., Chen, H.Y.H., and Ruan, H. 2020. Response of plants to water stress: A Meta-Analysis. Front. Plant Sci. 11:978. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00978.

47. Taibi, K., Taibi, F., Ait Abderrahim, L. Ennajah, A., Belkhodja, M., and Mulet, J.M. 2016. Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. South African Journal of Botany, 105: 306-312.

48. Urban, L., Aarrouf, J., and Bidel, L.P.R. 2017. Assessing the effects of water deficit on photosynthesis using parameters derived from measurements of leaf gas exchange and of chlorophyll a fluorescence. 8: 2067. doi: 10.3389/fpls.2017.02068.

49. Ye, L., Zhao, X., Bao, E., Li, J., Zou, Z., and Cao, K. 2020. Bio-organic fertilizer with reduced rates of chemical fertilization improves soil fertility and enhances tomato yield and quality. Scientific Reports 10:177. https://doi.org/10.1038/s41598-019-56954-2.

50. Zhao, W., Liu, L., Shen, Q., Yang, J., Han, X., Tian, F., and Wu, J. 2020.

Huang, W. 2020. Assessment of leaf chlorophyll content models for winter wheat using landsat-8 multispectral remote sensing data. Remote Sensing, 12: 2574. DOI: 10.3390/rs12162574.

Effects of water stress on photosynthesis. Yield and water use efficiency in winter wheat. Water, 12: 2127. Doi: 10.3390/w12082127.

51. Zhou, X., Zhang, J., Chen, D., Huang, Y., Kong, W., Yuan, L., Ye, H., and

Study of Biofertilizers Effect on Some Physiological and Biochemical Traits of *Dracocephalum kotschyi* Boiss. Under Different Soil Moisture Regimes

Cham, R.[1], Abtahi, S.A.[2*], Jafarinia, M.[3], Yasrebi, J.[4]

[1]Ph.D Student, Department of Soil Science, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran.
[2]Professor, Department of Soil Science, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran.
[3]Assistant Professor, Department of Biology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran.
[4]Assistant Professor, Department of Soil Science, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Received: 2021-1-31; Accepted: 2021-4-29

Abstract

Dracocephalum kotschyi Boiss. is one of the most important medicinal plants of the Lamiaceae family, which is endangered due to unfavorable environmental conditions. in order to evaluate the effectiveness of biofertilizers on changes in some physiological and biochemical traits, the effect of biofertilizers at four levels on *Dracocephalum kotschyi* growth under drought stress at three levels (irrigation until the completion of 80%, 60 and 40% of field capacity), an experiment was carried out in 2019. The study of changes in photosynthetic pigments, chlorophyll fluorescence and leaf relative water content in *D. kotschyi* in response to various biofertilizers and different irrigation regimes showed that with increasing drought stress, chlorophyll a, b and total chlorophyll along with chlorophyll fluorescence (*Fv/Fm*) had a significant decrease. While the use of supernitroplus and biophosphorus biofertilizers in irrigation conditions up to 60 and 40% of field capacity significantly increased the above-mentioned traits in the *D. kotschyi* leaves in comparison with the plants treated with nitroxin fertilizer and control plants. Increased drought intensity also caused a significant increase in carbohydrates, soluble proteins, anthocyanins and flavonoids, although the use of biofertilizers containing growth-promoting bacteria, further enhanced the amount of these compounds compared to the control. The highest levels of anthocyanins (37.82 mg g^{-1} fresh weight) and flavonoid compounds (16.62 mg g^{-1} fresh weight) were found in plants grown under severe drought stress (irrigation up to 40% of field capacity) and Biophosphorus application. Based on the results, the use of biofertilizers supernitroplus and biophosphorus improved the physiological and biochemical properties of *D. kotschyi* under both drought and non-water stress conditions. The increase in traits indicates a kind of adaptation to drought stress conditions.

***Keywords*:** *Dracocephalum kotschyi*, Biochemical and Physiological traits, Growth-promoting bacteria, Drought stress

∗Corresponding author; seyedaliabtahi@yahoo.com