



تأثیر کودهای زیستی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و جذب فسفر و پتاسیم در گیاه دارویی کاسنی (*Cichorium intybus*) در واکنش به تنش خشکی

نوید رضایی نیا¹ - محمود رمرودی^{2*} - محمد گلوی³ - محمد فروزنده⁴

تاریخ دریافت: 1395/08/02

تاریخ پذیرش: 1395/11/04

چکیده

به منظور بررسی تأثیر انواع کودهای زیستی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و جذب برخی عناصر غذایی در گیاه دارویی کاسنی تحت تنش خشکی، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده کشاورزی (چاه نیمه) دانشگاه زابل انجام شد. عامل اصلی تنش خشکی شامل آبیاری پس از 90، 70 و 50 درصد ظرفیت زراعی خاک و عامل فرعی انواع کودهای زیستی شامل شاهد (عدم کاربرد کود)، نیتروکسین به صورت بذر مال به میزان یک لیتر در هکتار، ریزموکودات مفید یا کود EM (Effective Microorganism) به میزان 40 لیتر در هکتار و نانوکلات پتاسیم (27 درصد) به میزان 10 کیلوگرم در هکتار به صورت محلول‌پاشی در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که تأثیر برهمکنش تنش خشکی و کود بر محتوای رطوبت نسبی برگ، رنگدانه‌های فتوسنتز، کاروتنوئید، درصد پروتئین، عملکرد گل، محتوای پرولین، کربوهیدرات محلول، فلاونوئیدهای برگ، جذب فسفر و پتاسیم به جز کلروفیل b معنی‌دار شد. با افزایش شدت تنش محتوای رطوبت نسبی برگ، رنگدانه‌های فتوسنتز، کاروتنوئید، درصد پروتئین، عملکرد گل و جذب فسفر و پتاسیم کاهش، ولی محتوای پرولین، کربوهیدرات محلول و فلاونوئیدهای برگ افزایش یافت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین محتوای رطوبت نسبی برگ، رنگدانه‌های فتوسنتز و عملکرد گل از تیمار آبیاری پس از 90 درصد ظرفیت زراعی خاک توأم با کاربرد EM و بیشترین درصد پروتئین از تیمار آبیاری پس از 90 درصد ظرفیت زراعی خاک توأم با استفاده کود نیتروکسین به دست آمد، در حالی که بیشترین محتوای پرولین و کربوهیدرات محلول از تیمار آبیاری پس از 50 درصد ظرفیت زراعی خاک توأم با کاربرد نانو کلات پتاسیم و بیشترین جذب پتاسیم و فسفر از تیمار آبیاری پس از 90 درصد ظرفیت زراعی خاک توأم با کاربرد نانو کلات پتاسیم حاصل شد. نتایج حاکی از آن است که با افزایش سطح تنش خشکی، کاهش معنی‌داری در جذب عناصر غذایی و رنگدانه‌های فتوسنتز به وجود آمد. بیشترین میزان در این ویژگی‌ها از سطح تنش شدید خشکی حاصل شد. در مجموع می‌توان چنین استنباط کرد که استفاده از کودهای زیستی سبب کاهش خسارت ناشی از تنش خشکی در گیاه دارویی کاسنی گردید.

واژه‌های کلیدی: پتاسیم، پرولین، درصد پروتئین، رنگدانه‌های فتوسنتز، عملکرد گل

مقدمه

خاصی برخوردارند (Fayaz et al., 2010). کاسنی (*C. intybus* L.) یکی از گیاهان مهم و با ارزش دارویی متعلق به خانواده کاسنی⁵ است. از جمله خواص دارویی آن تقویت عمومی بدن، تقویت معده، تصفیه خون، دفع صفرا، کم اشتها، کم خونی و درمان مشکلات کبدی است (Hashemi-Nejad and Bahadori, 2010). آب یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی است که تأثیر عمده‌ای بر رشد و نمو و مواد مؤثره گیاهان دارویی دارد. کمبود آب در جریان تولید گیاهان می‌تواند صدمات جدی به رشد و نمو و همچنین بر مواد مؤثره دارویی گیاهان وارد نماید (Omidbeige, 2000). در طی بروز

در سال‌های اخیر رویکرد استفاده از داروهای گیاهی موجب توجه بیشتر کشورهای جهان به شناسایی و بازگشت به طبیعت شده است. گیاهان دارویی گیاهانی هستند که برخی از اندام‌های آن‌ها حاوی مواد مؤثر است که خواص دارویی دارند که هم از لحاظ درمان و هم از نظر پیشگیری بیماری و در تأمین بهداشت و سلامتی جوامع از اهمیت

1، 2، 3 و 4- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار، استاد و مربی، گروه زراعت، دانشگاه زابل
* - نویسنده مسئول:
(Email: mramroudi42@uoz.ac.ir)

DOI: 10.22067/gsc.v15i4.59774

است (Mohammadkhani and Heidari, 2007). به دلیل اثرات مضر که کودهای شیمیایی مرسوم بر محیط از نظر کمیت و کیفیت غذا ایجاد می‌کنند، مدت‌هاست که استفاده از آن‌ها مورد انتقاد قرار گرفته است. کودهای زیستی گاه به‌عنوان جایگزین و در بیشتر موارد به‌عنوان مکمل کودهای شیمیایی می‌توانند پایداری تولید نظام‌های کشاورزی را تضمین کنند (Han *et al.*, 2006).

کودهای زیستی متشکل از میکروارگانیسم‌های مفیدی هستند که هر یک به‌منظور خاصی مانند تثبیت نیتروژن، رهاسازی یون‌های فسفات، پتاسیم، آهن و غیره تولید می‌شوند. این میکروارگانیسم‌ها معمولاً در اطراف ریشه مستقر شده و گیاه را در جذب عناصر یاری می‌کنند (Wu *et al.*, 2005) و باعث بهبود ساختمان خاک، تحریک بیشتر رشد گیاه و بالا رفتن کمیت و کیفیت و افزایش مقاومت آن در برابر تنش‌های محیطی می‌شوند (Nagananda *et al.*, 2010). کودهای آلی در شرایط تنش خشکی با افزایش میزان پروتئین، قندهای محلول و افزایش جذب عناصر معدنی پتاسیم و فسفر سبب کاهش اثر تنش خشکی و افزایش عملکرد گیاهان می‌گردد (El-Bassiouny and Shukry, 2001). کاهش شدید رشد ریشه تحت تنش خشکی مهم‌ترین دلیل کاهش جذب این عناصر در خاک توسط ریشه گیاه محسوب می‌گردد (Jafar-dokht *et al.*, 2015). کود بیولوژیک نیتروکسین حاوی مؤثرترین باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن از جنس *ازتوباکتر* و *آزوسپریلیوم* می‌باشد که علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا و متعادل کردن جذب عناصر غذایی پرمصرف و کم مصرف مورد نیاز گیاه، با سنتز و ترشح مواد محرک رشد گیاه نظیر هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد مثل اکسین، همچنین ترشح اسیدهای آمینه مختلف و انواع آنتی‌بیوتیک، سیانید هیدروژن و سیدروفور سبب رشد و توسعه ریشه و اندام‌های هوایی و افزایش کمیت و کیفیت محصول می‌گردد (Sharifi and Haghnia, 2007). استفاده از ریزموجودات مفید (EM) همراه با کودهای آلی روش مناسبی برای تأمین و آزادسازی مواد غذایی از منابع کودی مورد استفاده می‌باشد. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که تلقیح EM با خاک مزرعه علاوه بر افزایش کمی و کیفی محصول، کیفیت خاک را افزایش می‌دهد (Higa and Parr, 1994). نتایج تحقیقات متعدد حاکی از تأثیر مثبت محلول‌پاشی ریزموجودات مفید (EM) در مورد چغندر قند (*Beta vulgaris*) (Agamy *et al.*, 2013) و گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersum*) (Kleiber *et al.*, 2014) می‌باشد. جهان‌بان و لطفی‌فر (Jahanban and Lotfifar, 2012) ضمن بررسی تأثیرات میکروارگانیسم‌های مؤثر EM بر کارایی کودهای شیمیایی و آلی در کشت ذرت علوفه‌ای دریافتند که استفاده از آن، علاوه بر افزایش عملکرد، از آلودگی حاصل از کود شیمیایی جلوگیری می‌کند. نتایج تحقیقی نشان داد که کود EM علاوه بر افزایش عملکرد محصول، منجر به افزایش مقاومت گیاه در برابر پاتوژن‌ها می‌گردد (Boliğtowa and Gleń, 2008). با کاربرد

تنش خشکی و سوری به علت بالا رفتن غلظت املاح در محیط ریشه و در نتیجه افزایش پتانسیل اسمزی خاک، از جذب عناصر غذایی تا حد زیادی کاسته می‌شود. بنابراین در صورت کاهش رطوبت، شدت و مقدار جذب عناصر غذایی دستخوش تغییر و تحول می‌گردد (Sween *et al.*, 2003). این کمبود عناصر باعث ایجاد اختلاف در فعالیت آنزیم‌های فیزیولوژیکی از جمله فتوسنتز، تنفس، سنتز ترکیبات آلی سنگین‌تر، اختلال در تولید و فعالیت آنزیم‌ها و به‌طور کلی اختلال در فعالیت‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی شده و در نتیجه تغییراتی در ماده مؤثره می‌گردد (Pirzad *et al.*, 2006).

تنش خشکی از طریق کاهش توسعه برگ و شاخص سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش هدایت روزنه‌ای، کاهش سنتز پروتئین و کلروفیل، سبب کاهش فتوسنتز می‌گردد. در شرایط تنش خشکی، مواد فتوسنتزی محدود شده، در نتیجه رشد و عملکرد گیاه کاهش می‌یابد (Ahmadian *et al.*, 2010). یکی از کارهایی که گیاهان در مواجهه با تنش خشکی انجام می‌دهند سنتز و تجمع ترکیبات محافظت‌کننده‌های اسمزی شامل قندهای محلول، اسیدهای آمینه، بتابین و غیره می‌باشد (Bohnert and Jensen, 1996). معمولاً اکثر گیاهان در مقابله با تنش‌ها از جمله تنش سوری، خشکی (Chandra *et al.*, 2004) دمای بالا (Ruiz *et al.*, 2002) و کمبود مواد غذایی (Sanchez *et al.*, 2002) پروتئین را افزایش می‌دهند. تجمع پروتئین آزاد، پاسخی به تنش خشکی در گیاهان می‌باشد (Vendruscolo *et al.*, 2007). تنش باعث کاهش سنتز کلروفیل شده که از طریق کاهش ساخته شدن کلروفیل اثر مستقیمی بر فتوسنتز دارد (Babaei *et al.*, 2010). کاهش رنگریزه‌ها به‌واسطه افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است، که این رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه کلروفیل‌ها می‌گردند (Schutz and Fangmir, 2001). مقدار کلروفیل در گیاهان تحت تنش خشکی کاهش یافته و باعث تغییر در نسبت جذب نور و در نتیجه کاهش کل جذب نور توسط گیاه می‌شود (Zarco Tejada *et al.*, 2000). در بررسی تنش خشکی در گیاه دارویی زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) بیشترین مقدار کربوهیدرات محلول مربوط به تنش شدت خشکی بود (Bahramzadeh Aliabad, 2013). در شرایط بدون تنش رطوبتی افزایش عملکرد ماده خشک در گیاه دارویی بادرنجوبه (*Melissa officinalis*) و گیاه دارویی بادرشو (*Dracocephalum moldavica* L.) توسط سایر محققین گزارش شده است (Ardakani *et al.*, 2007; Safikhani, 2007). مشخص گردیده است که تنش‌های محیطی سبب به هم زدن تعادل عناصر غذایی در گیاهان می‌شود (Grattan and Grieve, 1999). در این شرایط تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان از طریق کودها می‌تواند رشد گیاه را تا حدودی بهبود بخشد (Chaudhary *et al.*, 1999). مدیریت تغذیه گیاهی در شرایط تنش یکی از مسائل مهم در تولید گیاهان زراعی و دارویی

کودها و آلودگی‌های ناشی از مصرف زیاد آن‌ها می‌باشد (Alizadeh Sahzabi et al., 2007). هدف از این تحقیق بررسی کودهای زیستی و نانو بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و جذب برخی عناصر غذایی در گیاه دارویی کاسنی در شرایط کم آبی در سیستان بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی 94-1393 در مزرعه آموزشی-تحقیقاتی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل واقع در زهک (چاه نیمه) در خاک شنی لومی اجرا گردید. موقعیت جغرافیایی محل آزمایش 61 درجه و 29 دقیقه طول شرقی و عرض جغرافیایی 31 درجه و 13 دقیقه شمالی و در ارتفاع 498/2 متر از سطح دریا قرار دارد. از نظر آب و هوا، دارای زمستان‌های سرد و خشک و تابستان‌های گرم و خشک می‌باشد. متوسط بارندگی در آن 58/9 میلی‌متر در سال، متوسط دمای سالانه آن 22 درجه سانتی‌گراد و متوسط تبخیر سالانه آن 4865 میلی‌متر است.

برای تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، قبل از کشت، تعداد 10 نمونه از نقاط مختلف مزرعه از عمق 0-30 سانتی‌متری انجام شد و سپس یک نمونه مرکب انتخاب و به آزمایشگاه خاک‌شناسی دانشکده منتقل و تجزیه فیزیکی و شیمیایی تعیین گردید (جدول 1).

نانوکودها به‌عنوان جایگزین کودهای مرسوم، عناصر غذایی کود به‌تدریج و به‌صورت کنترل شده در خاک آزاد می‌شوند. استفاده از نانو کودها منجر به افزایش کارایی مصرفی عناصر غذایی، به حداقل رسیدن اثرات منفی ناشی از مصرف بیش از حد کود و کاهش تعداد دفعات کاربرد کود می‌شود (Naderi and Abedi, 2012).

یکی از وظایف مهم پتاسیم نقش حفاظتی آن در جلوگیری از تخریب سلول در برابر گونه‌های فعال اکسیژن است. کلروپلاست‌ها در تولید افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در تنش‌های محیطی از جمله خشکی، کمبود عناصر غذایی و شوری نقش دارند، این گونه‌های فعال اکسیژن به شدت سمی بوده باعث تخریب غشاهای سلولی، کاهش میزان کلروفیل، کلروزه و نکروزه شدن برگ‌ها می‌شوند. پتاسیم به‌وسیله افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده، این گونه‌های فعال را خنثی می‌نماید (Hu and Schmidhalter, 2005). کمبود پتاسیم به‌علت کاهش هدایت روزنه‌ای، افزایش مقاومت مزوفیلی، کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن باعث کاهش فتوسنتز شده و در شرایط نوری شدید نیاز به جذب پتاسیم، به‌منظور بالا بردن بازده دستگاه فتوسنتزی و انتقال فرآورده‌های فتوسنتزی به اندام‌های ذخیره‌ای، افزایش می‌یابد (Cakmak, 2005; Hu and Schmidhalter, 2005). اگر تنش خشکی با کمبود پتاسیم همراه شود، این صدمه‌ها شدیدتر خواهد شد و پتاسیم تحمل به کم آبی را در گیاهان القا می‌کند (Zheng et al., 2008). کودهای زیستی، علاوه بر افزایش کیفیت محصول، بهترین راه برای جلوگیری از مصرف

جدول 1- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1- Soil Physical and chemical analysis

بافت خاک Soil texture	P	K	N	ماده آلی	pH	هدایت الکتریکی
				Organic matter		EC
	ppm			%		dS.m ⁻¹
لومی شنی Sandy loam	12	135	0.06	0.59	7.8	2.5

سانتی‌متر بود. بذر کاسنی از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. زمین مورد نظر در اوایل فصل پاییز 93، توسط گاو آهن برگردان دار شخم عمیق و سپس در اسفند ماه برای نرم کردن خاک و کلوخه‌ها دو بار دیسک عمود برهم زده شد. کاشت بذر با دست و به‌صورت ردیفی در اواسط اسفند ماه انجام شد و بلافاصله آبیاری صورت گرفت و آبیاری‌های بعدی هر هفت روز یکبار به‌صورت نشتی تا استقرار گیاه انجام شد. پس از رشد گیاه به حد کافی (40-30 روز بعد از کاشت) تیمارهای خشکی اعمال شدند. برای اعمال تیمار تنش خشکی از دستگاه TDR مدل TRASE SYSTE استفاده شد. بعد از سبز شدن گیاهچه‌ها و پس از ساقه‌دهی EM و نانو کلات به‌صورت

آزمایش به‌صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زابل در پژوهشکده کشاورزی (چاه نیمه) انجام شد. عامل اصلی تنش خشکی شامل: آبیاری بر اساس 70، 90 و 50 درصد ظرفیت زراعی خاک و عامل فرعی انواع کودهای زیستی شامل: شاهد (عدم کاربرد کود)، نیتروکسین به‌صورت بذر مال به میزان یک لیتر در هکتار، ریزموجودات مفید (کود EM) به‌صورت محلول‌پاشی 40 لیتر در هکتار و نانو کلات پتاسیم (27 درصد) به میزان 10 کیلوگرم در هکتار بودند (Jafarzadeh et al., 2013). هر کرت آزمایشی دارای 4 ردیف کاشت با فاصله ردیف 50 سانتی‌متر و فاصله روی ردیف 20

پروتئین تحت تنش آبی است (Jiang and Zhang, 2002). می‌توان دلیل بالا بودن پروتئین با کاربرد نیتروکسین را جذب سریع‌تر نیتروژن توسط گیاه و افزایش غلظت نیتروژن در اندام هوایی ذکر کرد که با نتایج (Stancheva and Dinev, 2003) در ذرت مطابقت دارد. نیتروژن نقش اساسی در ساختمان کلروفیل دارا بوده و از طرفی مهم‌ترین عنصر در سنتز پروتئین‌ها می‌باشد و افزایش آن در شرایط مطلوب تا حد مشخصی، موجب افزایش میزان پروتئین می‌گردد (Ghobadi, 2010). در تحقیقی روی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.) بیان گردید که کاربرد همزمان دو نوع کود زیستی نیتروبین و فسفورین همراه با کود دامی موجب افزایش میزان پروتئین دانه آن شد (Gendy et al., 2012). بیشترین مقدار پروتئین و عملکرد دانه در کدوی پوست کاغذی (*Cucurbita pepo* L.) از مصرف تلفیقی کودهای نیتروکسین، فسفات بارو 2، تیوباسیلوس و کود دامی به‌دست آمد (Aghaei et al., 2009). استفاده از ریزوباکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاه سبب افزایش درصد پروتئین، عملکرد میوه و دانه در کدوی پوست کاغذی گردید (Jahan et al., 2007).

کلروفیل a و کل: میزان کلروفیل a و کل تحت تأثیر تنش

خشکی، کود زیستی و برهمکنش آن‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول 2). نتایج حاکی از آن است که بیشترین مقدار کلروفیل a و کل در آبیاری 90 درصد ظرفیت زراعی با کاربرد کودی EM و کمترین آن از تنش شدید خشکی و عدم مصرف کود حاصل شد (جدول 3). در تحقیقی که در ارتباط خشکی و تنش اکسیداتیو ناشی از آن با پیری برگ در گیاه دارویی مریم‌گلی انجام گردید، گزارش شده است که تنش خشکی باعث بروز علائم پیری در برگ می‌شود. این علائم شامل افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، کاهش میزان کلروفیل، فتوسنتز و کاهش شدید آنتی‌اکسیدان‌های غیرآزمی می‌شامل β -کاروتنو α -توکوفرول می‌باشند (Munne-Bosch and Alegre, 2004). عوامل مهم برای فتوسنتز به‌شمار می‌رود. در این بین بسته به شدت، مدت و مرحله رشدی، تأثیر خشکی بر هر کدام از مقادیر کلروفیل‌ها در گیاهان متفاوت است. با افزایش تنش خشکی میزان کلروفیل برگ کاهش، ولی نسبت کلروفیل a به کلروفیل b افزایش می‌یابد. گزارش شده است که افزایش این نسبت موجب تیره شدن برگ‌ها و افزایش عدد کلروفیل‌متر خواهد شد (Munne-Bosch et al., 2000). افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی به‌وسیله کاربرد ریزوموجودات مفید در چغندر قند گزارش گردیده است (Agamy et al., 2013). نتایج تحقیقی روی گیاه دارویی بادرشبو نشان داد کاهش عملکرد گیاه در شرایط خشکی می‌تواند به‌دلیل کاهش سطح فتوسنتزکننده، کاهش تولید کلروفیل، افزایش انرژی مصرفی گیاه

محللول‌پاشی، پس از تنک در مرحله چهار تا پنج برگی انجام شد و وجین علف‌های هرز در طول دوره رشد با دست انجام گرفت. با ظهور گل‌ها، از یک متر مربع وسط هر کرت بعد از حذف حاشیه‌ها، گل‌های شکفته شده برداشت شدند. برداشت گل‌ها به‌صورت تدریجی و طی چهار مرحله انجام شد، زیرا کاسنی دارای رشد نامحدود بوده و به‌تدریج گل‌های آن باز می‌شود، گل‌ها در سایه خشک شدند و عملکرد گل تعیین گردید. به‌منظور بررسی ویژگی‌های مورد مطالعه پنج بوته از هر کرت به‌صورت تصادفی انتخاب و محتوای نسبی آب برگ در مرحله گلدهی کامل، کلروفیل و کاروتنوئید از روش آرنون (Arnon, 1976)، پروتئین از روش برآفورد (Bradford, 1976)، پرولین با استفاده از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973)، میزان کربوهیدرات محللول با استفاده از روش کرپسی و همکاران (Kerepsi et al., 1996) و فلاونوئیدها (Krizek et al., 1998) تعیین گردید، برای میزان فسفر و پتاسیم برگ از روش خاکسترگیری خشک استفاده شد. داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 تجزیه و با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه میانگین‌ها انجام گرفت.

نتایج و بحث

محتوای نسبی رطوبت برگ: نتایج نشان داد که تأثیر تنش

خشکی و کود زیستی در سطح احتمال یک درصد و برهمکنش آن‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر محتوای نسبی رطوبت برگ معنی‌دار شد (جدول 2). به‌طوری‌که کاربرد EM در شرایط عدم تنش بیشترین و شاهد کودی با تنش شدید کمترین میزان محتوای نسبی رطوبت برگ را نشان دادند (جدول 3). در بررسی برهمکنش تیمار آبیاری و کود زیستی مشخص گردید که در سطوح تنش خشکی، کاربرد کود نسبت به تیمار عدم مصرف کود برتری داشت. این نتایج حاکی از آن است که کود زیستی با بهبود وضعیت فیزیکی و شیمیایی خاک از جمله افزایش ظرفیت آب در خاک می‌تواند تا حدودی از اثرات تنش خشکی بکاهد (Nazari nasi et al., 2012).

درصد پروتئین برگ: درصد پروتئین برگ شدیداً تحت تأثیر

تنش خشکی، کود زیستی و برهمکنش آن‌ها در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول 2). طبق مقایسه میانگین‌ها بیشترین درصد پروتئین برگ از آبیاری 90 درصد ظرفیت زراعی توأم با کاربرد کود نیتروکسین و کمترین آن مربوط به تنش شدید و عدم کاربرد کود زیستی حاصل شد (جدول 3). نتایج مطالعه‌ای نشان داد که کاهش پتانسیل آبی برگ منجر به کاهش میزان پروتئین شده و مقادیر آمینواسیدهای آزاد که همگی تقریباً در ساختار پروتئین‌ها موجود هستند، را افزایش می‌دهد، نظیر ایزولوسین، لوسین، والین، فنیل آلانین، گلوتامین و هیستیدین که این مسأله نشان‌دهنده هیدرولیز

جهت بالا بردن غلظت شیره سلولی باشد (Safikhani, 2007).

جدول 2- تجزیه واریانس ویژگی‌های فیزیولوژیک و عملکرد گل گیاه دارویی کاسنی تحت تأثیر تنش خشکی و کود زیستی
Table 2- Analysis of variance for physiological traits and flower yield of *Cichorium intybus* under drought stress and bio-fertilizer

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	رطوبت نسبی برگ Relative water contant	درصد پروتئین Protein percentage	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	عملکرد گل Flower yield
تکرار Rep	2	31.90	0.004	0.72	0.25	0.52	0.04
تنش خشکی Drought stress (D)	2	2203.24**	2.25**	63.40**	2.49**	89.54**	1976.63**
خطای a Ea	4	39.29	0.001	0.05	0.05	9.15	4.56
کود زیستی Bio-fertilizer (B)	3	152.11**	1.63**	7.09**	0.38**	9.26 **	3401.10**
تنش × کود D × B	6	71.35*	0.02**	0.99**	0.04 ^{ns}	1.006**	47.80**
خطای b Eb	18	24.21	0.001	0.04	0.04	1.106	3.55
CV(%)	-	6.92	1.57	2.58	12.52	2.47	1.13

ns و * به ترتیب معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد و عدم معنی‌داری
* , ** and ns significant at 5 and 1% levels of probability and not significant, respectively

جدول 3- مقایسه میانگین‌های برهمکنش تنش خشکی و کودهای زیستی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و عملکرد گل کاسنی
Table 3- Comparison means of interaction between drought stress and bio-fertilizer for physiological traits and flower yield of *Cichorium intybus*

Drought stress (%F.C)	Bio-fertilizer	رطوبت نسبی برگ Relative water contant (%)	درصد پروتئین Protein percentage	کلروفیل a Chlorophyll a (mg g ⁻¹ FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg g ⁻¹ FW)	عملکرد گل Flower yield (kg ha ⁻¹)
90	Control	82.19abc	2.057c	9.505c	11.22c	153.86h
	Nitroxin	83.80ab	2.813a	11.187b	13.53b	170.70de
	EM	87.43a	2.716b	11.924a	14.10a	208.20a
	K	82.66abc	2.489c	11.221b	13.16b	180.98c
70	Control	70.73de	1.250h	7.071ef	8.39g	144.11i
	Nitroxin	65.12e	2.236d	7.407e	9.27f	164.94f
	EM	78.13bcd	1.789d	8.132d	9.96d	185.66b
	K	74.26cd	2.203d	8.028d	9.61d	172.94de
50	Control	48.16f	1.093h	5.025f	6.08i	131.31g
	Nitroxin	62.43e	1.095g	6.036g	7.18h	146.18i
	EM	64.68e	2.087c	7.015f	8.33g	174.85d
	K	52.59f	1.509e	8.073d	9.09f	158.90g

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (p<0.05) نمی‌باشند
Numbers followed by the same letter are not significantly different (p<0.05)

میزان کلروفیل b مربوط به تیمار آبیاری 90 درصد ظرفیت زراعی و کمترین میزان کلروفیل از تیمار تنش شدید حاصل شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین مقدار آن مربوط به کاربرد کود

کلروفیل b: تأثیر تنش خشکی و کود زیستی در سطح احتمال یک درصد بر مقدار کلروفیل b معنی‌دار شد (جدول 2). براین اساس با افزایش شدت تنش از میزان آن کاسته شد، به طوری که بیشترین

شاخه‌های گل‌دار و گل در گیاه دارویی کاسنی می‌شود. کاهش عملکرد گل خشک در تیمارهای تحت تنش آب، ناشی از افت وزن خشک بخش‌های رویشی به‌واسطه افزایش رقابت برای جذب آب بود و عملکرد ماده خشک را کاهش می‌دهد (Safikhani, 2007). گورسکی و کلیبر (Gorski and Kleiber, 2010) گزارش نمودند که ریزموجودات مفید، به علت اثر مثبت و در عین حال معنی‌دار، بر رشد و عملکرد گیاهان سودمند باشد. محلول‌پاشی ریزموجودات مفید اثر مثبتی بر تعداد گل و گل‌آذین‌های تشکیل‌شده دارد (Shokouhian et al., 2013). بروز تنش خشکی موجب کاهش سطح برگ می‌شود و در نتیجه جذب نور نیز کاهش می‌یابد و ظرفیت کل فتوسنتزی گیاه کاهش خواهد یافت. بنابراین با محدود شدن فرآورده‌های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، تولید ماده خشک گیاه کاهش می‌یابد.

کاروتنوئید: نتایج نشان داد که تنش خشکی، کود زیستی در سطح یک درصد و برهمکنش آن‌ها در سطح پنج درصد بر کاروتنوئید معنی‌دار شد (جدول 5). مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که مقدار کاروتنوئیدها در اثر افزایش سطوح خشکی افزایش یافت به طوری که بیشترین مقدار در تنش ملایم با کاربرد کود نیتروکسین و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار آبیاری 90 درصد ظرفیت زراعی و عدم اعمال تیمار کودی بود (جدول 6). کاروتنوئیدها شامل بتا کاروتن و گزانتوفیل‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های چربی دوست با وزن مولکولی کم در کلروپلاست هستند که غشاءهای کلروپلاستی را در مقابل تنش اکسیداتیو محافظت می‌کنند. کاروتنوئیدها علاوه بر نقش ساختمانی و جذب نور می‌توانند به‌صورت مستقیم اکسیژن یکتایی را غیرفعال کنند و یا از طریق فرو نشاندن کلروفیل برانگیخته شده، به‌صورت غیر مستقیم از تشکیل اکسیژن یکتایی جلوگیری کنند (Malek ahmadi et al., 2005).

پرولین: محتوای پرولین تحت تأثیر تنش خشکی، کود زیستی و برهمکنش آن‌ها از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول 5). با افزایش تنش خشکی محتوای پرولین برگ افزایش یافت، به طوری که بیشترین محتوای پرولین در تنش شدید با کاربرد EM و کمترین آن از تیمار آبیاری 90 درصد ظرفیت زراعی با عدم کاربرد کود به‌دست آمد (جدول 6). یکی از مکانیسم‌های کارآمدی که گیاه به هنگام مواجهه با خشکی، برای حفظ تورژسانس و آماس سلولی به خدمت می‌گیرد، تنظیم اسمزی است. در طی این پدیده فیزیولوژیکی، پتانسیل اسمزی بافت‌های تحت تنش، در اثر انباشت یک سری مواد اسمزی در سلول‌ها کاهش می‌یابد، بنابراین فشار اسمزی سلول‌ها در حد مطلوب نگهداری می‌شود (Omidi, 2010). نتایج حاصل با نتایج ویو و گارگ (Wu and Garg, 2003) مطابقت دارد، آن‌ها اظهار داشتند در طی تنش خشکی دراز مدت، انتقال مواد به علت کاهش آب قابل دسترس، منجر به تغییر غلظت برخی از

زیستی نیتروکسین بود (جدول 4). با افزایش تشکیل ROS در کلروپلاست در اثر تنش خشکی، میزان تخریب غشاءهای کلروپلاستی نیز افزایش می‌یابد. از این‌رو در اثر تنش خشکی تخریب کمپلکس پروتئینی Chl a/b و در نتیجه کلروفیل b نیز افزایش پیدا می‌کند. کاهش مقدار کلروفیل در طی مراحل پیری و در اثر تنش خشکی در گیاهان نیز گزارش شده است (Buchanan-Wollaston et al., 2003). کودهای زیستی و از جمله کود EM موجب پایین آمدن pH خاک می‌گردد (Sandra et al., 2002). کودهای زیستی با تأمین نیازهای غذایی موجودات ذره‌بینی خاک، سبب افزایش آن‌ها شده و در نتیجه به کاهش pH خاک می‌انجامد و بر میزان جذب عناصر غذایی از جمله Fe, Mn و Mg که در سنتز کلروفیل نقش مهمی ایفا می‌کنند، می‌افزاید و سرانجام سبب می‌شوند که سنتز کلروفیل افزایش یابد (Sanchooli, 2007). بنابراین تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و به‌ویژه نیتروژن افزایش رشد سبزینه‌ای گیاه را به‌دنبال خواهد داشت که باکتری‌های موجود در کودهای زیستی قادرند اثر تنش‌های محیطی مانند خشکی، سرما، گرما، شوری را نیز تعدیل نمایند (Ghollarata and Raiesi, 2007).

جدول 4- مقایسه میانگین کلروفیل b گیاه دارویی کاسنی تحت تنش

خشکی و تیمارهای کودهای زیستی

Table 4- Comparison means for chlorophyll b of *Cichorium intybus* under drought stress and Bio-fertilizers

Treatments	کلروفیل b (mg g ⁻¹ FW)
Drought stress (%F.C)	
90	2.04a
70	1.65b
50	1.13c
Bio-fertilizer	
Control	1.36c
Nitroxin	1.78a
EM	1.77a
K	1.55b

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) نمی‌باشند
Numbers followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$)

عملکرد گل: تأثیر تنش خشکی، کود زیستی و برهمکنش

آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر عملکرد گل خشک کاسنی معنی‌دار شد (جدول 2). به طوری که شاهد و سطح تنش شدید کمترین عملکرد گل و تیمار EM و شرایط عدم تنش نیز بیشترین آن را تولید کردند (جدول 3). دلیل این امر را چنین می‌توان بیان کرد که گیاه برای تولید سرشاخه‌های گل‌دار نیاز به رشد رویشی مناسب دارد و به‌نظر می‌رسد که کاهش مواد فتوسنتزی تولیدی به علت کاهش سطح برگ و در نتیجه کاهش انتقال مواد فتوسنتزی به سمت اندام‌های زایشی در اثر تنش خشکی سبب کاهش عملکرد سر

فرآیندها لازم هستند، مواد بیشتری را از خاک جذب کند و گیاه با اثرات سوء تنش کمتری مواجه شود که در این بین کود نانو به جهت رهاسازی آسان و سریع‌تر عناصر مورد نیاز در تولید قندها و کربوهیدرات‌های محلول و دیگر ترکیبات مهم پیش‌تاز بوده و از کودهای آلی نیز قوی‌تر عمل کرده است. بهرام‌زاده علی‌آباد (Bahramzadeh, 2013) در مطالعه واکنش گیاه دارویی زیره سبز تحت تنش خشکی نشان داد بیشترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول مربوط به تنش شدید بود. او دریافت که اگر کربوهیدرات‌های محلول از نوع مونوساکارید یا دی‌ساکارید باشند، این موضوع دلیلی بر این است که قندها نقش مهمی در تنظیم اسمزی در گیاهان بازاری می‌کنند. یافته‌های حاصل نمایانگر تأثیر مثبت استفاده از کودهای زیستی بر افزایش مقدار کربوهیدرات‌های محلول در گیاه دارویی کاسنی است. این نتیجه در تحقیقات گندی و همکاران (Gendy et al., 2012) و حاسان (Hassan, 2009) روی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*) نیز گزارش شده است.

فلاونوئید: تأثیر تنش خشکی، کود و برهمکنش آن‌ها از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد بر محتوای فلاونوئید معنی‌دار شد (جدول 5). بر این اساس بیشترین مقدار فلاونوئید از اعمال تنش شدید توأم با کاربرد کود EM و کمترین مقدار از تیمار آبیاری 90 درصد ظرفیت زراعی و عدم مصرف کود حاصل شد (جدول 6). با توجه به نتایج این تحقیق با افزایش شدت تنش خشکی ترکیبات فنولی به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه افزایش یافت. فلاونوئید از فنیل آلانین و مالونیل کوآنزیم A سنتز می‌گردد. که به‌عنوان یک شاخص بالقوه برای تحمل به تنش است (Cheruiyot et al., 2007). ترکیب‌های فنولی شامل گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه هستند که بسیاری از ترکیب‌های فنل، فلاون‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و لیگنین‌ها و حتی اسیدهای آمینه حلقوی مانند تریئوفان، تیروزین و پرولین را شامل می‌شوند. این ترکیب‌ها دارای نقش‌های متعدد اکولوژیکی و فیزیولوژیکی نظیر نقش‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Andre et al., 2009). زمانی که گیاه در معرض تنش قرار می‌گیرد مقدار زیادی از گونه‌های فعال اکسیژن مانند آنیون سوپراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن تولید می‌شود. در بسیاری از گیاهان سیستم آنزیمی برای از بین بردن این رادیکال‌ها فعال می‌شوند (Jubany et al., 2010). پیش از آن که سیستم آنزیمی وارد عمل شود، فلاونوئیدها دست به‌کار شده و به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی به‌طور مستقیم در پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌کند. خواص آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها به اثر بازدارندگی آنها در تنفس میتوکندریایی برمی‌گردد (Sangtarash et al., 2009). تحت تنش خشکی و کاربرد باکتری (*Pseudomonas putida*) به‌واسطه تولید فیتوهورمون‌ها افزایش میزان فلاونوئید و

متابولیت‌ها می‌شود. از سوی دیگر میزان محلول‌های سازگار به خشکی نظیر قندها، آمینواسیدهای ویژه نظیر پرولین، گلیسین و بتائین افزایش می‌یابد. پرولین به‌خاطر ایفای نقش اسمزی، اثرات مفیدی را در گیاهان تحت تنش ایفا می‌کند. تجمع قندهای محلول در این شرایط، به تنظیم اسمولاریته درون سلول‌های گیاه کمک می‌کند و موجب حفظ و نگهداری مولکول‌های زیستی و غشاءها می‌شود. از جمله پاسخ‌های گیاهان در برابر این نوع تنش، افزایش سطح پرولین و القای فعالیت آنزیم‌های ضداکسیداسیون از جمله پراکسیداز است. تجمع پرولین در تمام اندام‌های گیاهان در طی تنش خشکی بالا می‌رود. با این وجود میزان تجمع آن در برگ‌ها بیش از سایر اندام‌ها است. پرولین اسیدآمینه ذخیره شده در سیتوپلاسم است و احتمالاً در حفاظت از ساختمان ماکرومولکول‌های درون سلول در طی تنش خشکی نقش مؤثری دارد. استعمال برگ پتاسیم نیز به‌طور معنی‌داری محتوای پرولین گیاه افزایش داد (Thalooth et al., 2006). اسید آمینه پرولین یکی از مهم‌ترین اسمولیت‌های سازگار و مؤثری است که در تحمل به تنش‌های محیطی نظیر خشکی نقش مهمی دارد (Omidi, 2010). محلول پاشی پتاسیم و روی در شرایط تنش خشکی باعث تولید بیشتر پرولین، قندهای آزاد محلول و حفظ محتوای نسبی آب برگ در گل‌رنگ شد (Abedi baba arabi et al., 2011).

کربوهیدرات محلول در برگ: تأثیر تنش خشکی، کود زیستی و برهمکنش آن‌ها در سطح یک درصد بر محتوای کربوهیدرات محلول معنی‌دار شد (جدول 5). با توجه به مقایسه میانگین‌ها بیشترین مقدار کربوهیدرات محلول مربوط به تنش خشکی شدید توأم با کاربرد کود نانوکلات پتاسیم و کمترین آن مربوط به شرایط آبیاری 90 درصد ظرفیت زراعی و عدم کاربرد کود مشاهده گردید (جدول 6). مقدار کلیه قندهای آزاد گیاهان تحت تنش در مراحل مختلف رشد (رویشی و گلدهی) به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گیاهان بدون تنش بالاتر است. علت زیاد شدن کربوهیدرات محلول در اثر تنش زیاد این است که گیاه فشار اسمزی داخلی خود را بالا می‌برد تا بتواند از خاک مواد غذایی و آب جذب کند. پتاسیم سبب می‌شود تا انتقال مواد فتوسنتزی به سمت برگ‌ها بیشتر شده و گیاهانی که کمبود پتاسیم دارند اغلب دارای نیتروژن زیاد و کمبود کربوهیدرات محلول هستند که این وضعیت تولید ریشه‌ها را کاهش می‌دهد و سبب کاهش عملکرد در گیاهان می‌شود (Gelder and Van gelder, 2006). محمد و نسیم (Mohammad and Naseem, 2006) اظهار داشتند که اثر افزایش کاربرد پتاسیم بر افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز منجر به شکل‌گیری کارآمد مولکول‌های نیتروژن‌دار مسئول برای ساخت پروتئین‌ها و آنزیم‌ها می‌شود که در فتوسنتز، انتقال قندها از آوند آبکش به دیگر قسمت‌های گیاه برای مصرف و ذخیره ATP مصرفی در بین دیگر

در پی تنش خشکی با نتایج سایر محققین مطابقت دارد آن‌ها علت این کاهش را در ارتباط با کاهش آب خاک می‌دانند که منجر به کاهش جریان عناصر از خاک به گیاه می‌شود (Wu and Xia, 2006). کودهای زیستی علاوه بر در دسترس قرار دادن نیتروژن و فسفر مورد نیاز گیاه، از طریق افزایش رشد رویشی گیاه و به دنبال آن توسعه ریشه باعث بهبود جذب و افزایش فراهمی پتاسیم و سایر عناصر ریزمغذی می‌شوند (Marschner, 1995).

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج می‌توان چنین استنباط کرد که گیاهان در موقع بروز تنش خشکی با ایجاد تغییرات در برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک خود به تنش‌ها پاسخ می‌دهند، از جمله آن می‌توان به افزایش محتوای کربوهیدرات محلول و پرولین در گیاه اشاره کرد که سبب تداوم رشد گیاه دارویی کاسنی در شرایط تنش متوسط خشکی شده و تولید داشته باشد، در درازمدت تنش شدید خشکی برای گیاه هزینه‌بر بوده و منجر به کاهش معنی‌دار عملکرد گیاه می‌شود. استفاده از کودهای زیستی نیز سبب افزایش عملکرد گل، رنگدانه‌های فتوسنتز، محتوای پروتئین، پرولین و جذب فسفر گردید، اما کاربرد کودها تا حدی از بروز اثرات منفی تنش خشکی بر عملکرد گل تولیدی این گیاه کاست. این کاهش مرتبط با تأثیر کاربرد کودها بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه از جمله رنگدانه‌های فتوسنتزی، تجمع کربوهیدرات محلول، پرولین و جذب پتاسیم است. در شرایط تنش شدید خشکی کودهای زیستی با تأثیر مثبت بر میزان تجمع کربوهیدرات محلول و پرولین توانست تا حدی از بروز اثرات سوء تنش خشکی بر گیاه دارویی کاسنی کاسته و مانع از کاهش شدید عملکرد گل تولیدی شد.

پیدا می‌کند (Kafi and Mahdavi Damghani, 2000). استفاده از ترکیب باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفات توأم با مصرف 50 درصد کودهای شیمیایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم رایج در گیاه دارویی چای ترش، منجر به افزایش درصد نیتروژن و فسفر در برگ‌ها و میزان آنتوسیانین، ویتامین C و pH در کاسبرگ‌های آن می‌شود (Abo-Baker and Mostafa, 2011). همچنین نتایج پژوهشی روی چای ترش نشان داد که کاربرد همزمان دو نوع کود زیستی نیتروژین و فسفورین توأم با کود دامی موجب افزایش غلظت عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم در آن شد (Gendy et al., 2012). کودهای زیستی از طریق افزایش فسفر محلول و قابل جذب، سبب بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه می‌شود. جنس *باسیلوس* (*Bacillus*) با ترشح اسیدهای آلی مانند اسید استیک، اسید پروپیونیک، اسید لاکتیک، اسید گلیکولیک، اسید فوماریک و اسید سوکسینیک، ابتدا باعث کاهش pH به صورت موضعی شده و سپس با تجزیه پیوند موجود در ساختار ترکیبات فسفات معدنی که در خاک به صورت نامحلول درآمده‌اند، آنها را به شکل محلول قابل جذب توسط ریشه گیاه در می‌آورد (Ojaghlo, 2007). طی آزمایشی روی گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) اعلام گردید که باکتری حلال فسفر باعث افزایش دسترسی فسفر در خاک می‌شود و کاربرد همزمان باکتری حلال فسفر و کود شیمیایی سوپر فسفات تریپل سبب تولید بیشترین وزن خشک ریشه و جذب فسفر در این گیاه می‌شود (Turan et al., 2007).

پتاسیم: میزان جذب پتاسیم تأثیر تنش خشکی، کود زیستی و برهمکنش آن‌ها در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول 5). بر این اساس بیشترین مقدار پتاسیم مربوط تیمار آبیاری 90 درصد ظرفیت زراعی با کاربرد کود نانو کلات پتاسیم و کمترین مقدار آن نیز مربوط به تنش شدید خشکی و تیمار شاهد کودی بود (جدول 6). کاهش پتاسیم

References

1. Abedi baba arabi, S., Movahedi Dehnavi, M., Yadavy, A., and Adhami, A. 2011. The effect of foliar application of zinc and potassium on crop yield and physiological traits under drought stress. *Electronic Journal of Safflower Production* 4 (1): 95-75.
2. Abo-Baker, A. A., and Mostafa, G. G. 2011. Effect of Bio-and Chemical Fertilizers on Growth, Sepals Yield and Chemical Composition of *Hibiscus sabdariffa* at new reclaimed soil of south valley area. *Asian Journal of Crop Science* 3: 16-25.
3. Agamy, R., Hashem, M., and Alamri, S. 2013. Effect of soil amendment with yeasts as bio-fertilizers on the growth and productivity of sugar beet. *African Journal of Agricultural Research* 8 (1): 46-56.
4. Aghaei, R., Ebadi, A., and Hassanzadeh Tapeh, A. 2009. Effect of Bio-fertilizers on yield, yield components and oil percentage of (*Cucurbita pepo* L.). The first National Conference of oil seeds, Center of oilseeds, Isfahan University of Technology. (in Persian).
5. Ahmadian, A. Ghanbari, A., Mir, B., and Arazmjoo, E. 2009. Intraaction effect of drought stress and animal manure on yield components, essential oil and its compositions on Cumin. *Iranian Journal of Plant Science* 40: 173-180. (in Persian).
6. Alizade Sahzabi, A., Sharifi Ashorabadi, A., Shiranirad, A. H., and Abaszadeh, B. 2007. Effect of rates and application methods of nitrogen fertilizer on some quantitative and qualitative traits of *Satureja hortensis* L.

- Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 23 (3): 416-431. (in Persian).
7. Andre, C. M., Schafleitner, R., Legay, S., Lefevre, I., Aliaga, C. A. A., Nomberto, G., Hoffmann, L., Hausman, J. F., Larondelle, Y., and Evers, D. 2009. Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. *Phytochemistry* 70 (9): 1107-16.
 8. Ardakani, M. R., Abbas zadeh, B., Sharifi Ashourabadi, E., Lebaschi, M. H., and Packnejad, F. 2007. The effect of water deficit on quantitative and qualitative characters of balm (*Melissa officinalis* L.). *Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 23 (2): 251-261. (in Persian).
 9. Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal* 23: 112-121.
 10. Babaei, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S. A. M., and Jabbari, R. 2010. Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 26 (2): 239-251. (in Persian).
 11. Bahramzadeh Aliabad, A. 2013. Effects of organic and chemical fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of *Cuminum cyminum* under drought stress conditions. Msc thesis in Herbal plants, University of Zabol, Iran. (in Persian).
 12. Bates, I. S., Waldern, R. P., and Tear, I. D. 1973. Rapid determination of free praline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
 13. Bohnert, H. J., and Jensen, R. G. 1996. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. *Trends Biotechnol* 14: 89-97.
 14. Boligłowa, E., and Gleń, K. 2008. Assessment of effective microorganisms' activity (EM) in winter wheat protection against fungal diseases. *Ecological Chemistry and Engineering* 15 (1-2): 23-27.
 15. 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.
 16. Buchanan-Wollaston, V., Earl, S., Harrison, E., Mathas, E., Navabpour, S., Page, T., and Pink, D. 2003. The molecular analysis of leaf senescence a genomics approach. *Plant Biotechnology Journal* 1: 3-22.
 17. Cakmak, I. 2005. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 168: 521-530.
 18. Chandra, A., Pathak, P. S., Bhatt, R. K., and Dubey, A. 2004. Variation in drought tolerance of different *Stylosanthes* accessions. *Biologia Plantarum* 48: 457-460.
 19. Chaudhary, K. S., Abel, P. D., and Lalani, E. N. 1999. Role of the bcl-2 gene family in prostate cancer progression and its implications for therapeutic intervention. *Environmental Health Perspectives* 107: 49-57.
 20. Cheruiyot, E. K., Mumera, L. M., Ngetich, W. K., Hassanali, A., and Wachira, F. 2007. Polyhenols as potential indicators for osmotic tolerance in tea (*Camellia sinensis* L.). *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 71: 2190-2197.
 21. El-Bassiouny, H. M. S., and Shukry, W. M. 2001. Cowpea growth pattern, metabolism and yield in response to IAA and biofertilizers under drought conditions. *Egyptian Journal of Biology* 3: 117-129.
 22. Fayaz, A. M., Balaji, K., Girilal, M., Yadav, R., Kalaichelvan, P. T., and Venketesan, R. 2010. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and theirsynergistic effect with antibiotics: a study against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 6 (1): 103-109.
 23. Gelder, H. V., and Van-gelder, H. H. M. 2006. Influence of potassium fertilizer application level on oil production and quality in *Mentha piperita* L. *Applied- Plant Science* 2 (2): 68-71.
 24. Gendy, A. S. H., Said- Al Ahl, H. A. H., and Mahmoud, A. A. 2012. Growth, productivity and chemical constituents of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) plants as influenced by cattle manure and biofertilizers treatments. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 6 (5): 1-12.
 25. Ghobadi, R. 2010. Effects of drought stress and nitrogen fertilizer on yield and yield components of corn. Msc thesis in agronomy, University of Boroujerd, Iran. (in Persian).
 26. Ghollarata, M., and Raiesi, F. 2007. The adverse effects of soil salinization on the growth of *Trifolium alexandrinum* L. and associated microbial and biochemical properties. *Journal Soil Biology and Biochem* 39: 1699-1702.
 27. Gorski, R., and Kleiber, T. 2010. Effect of effective microorganisms (EM) on nutrient contents in substrate and development and yielding of Rose (*Rosax hybrida*) and Gerbera (*Gerbera jamesonii*). *Ecology Chemistry and Engine* 17 (4): 505-513.
 28. Grattan, S. R., and Grieve, C. M. 1999. Mineral nutrient acquisition and response by plants grown in saline environments. In: Pessarakli M. (ed.): *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker, New York: 203-229.
 29. Han, H. S., Supanjani, D., and Lee, K. D. 2006. Effect of coin coculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant Soil Environment* 52: 130-136.
 30. Hashemi-Nejad, A., and Bahadori, A. 2010. *Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants*. Farhikhtegan Daneshgah Press, Tehran. (in Persian).
 31. Hassan, A. H. 2015. Effect of nitrogen fertilizer levels in the form of organic, inorganic and bio fertilizer

- applications on growth, yield and quality of strawberry. Middle East Journal of Applied Sciences 05 (02): 604-617.
32. Hassan, F. A. S. 2009. Response of *Hibiscus sabdariffa* L. plant to some biofertilization treatments. Annals of Agricultural Science 54: 437-446.
 33. Higa, T., and Parr, J. F. 1994. Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment. International Nature Farming Research Center, Atami, Japan.
 34. Hu, Y., and Schmidhalter, U. 2005. Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. Journal Plant Nutrient Soil Science 168: 541-549.
 35. Jafar-dokht, R., Mosavi Nik, S. M., Mehraban, A., and Basiri, M. 2015. Effect of water stress and foliar micronutrient application on physiological characteristics and nutrient uptake in mung bean. Journal of Crop Production 8 (1): 121-141. (in Persian).
 36. Jafarzadeh, R., Jamimoeini, M., and Hokmabadi, M. 2013. Response of yield and yield components in wheat to soil and foliar application of nano potassium fertilizer. Journal of Agronomic Research 5: 1-7. (in Persian).
 37. Jahan, M., Koocheki, A., Nassiri, M., and Dehghanipoor, F. 2007. The effects of different manure levels and two branch management methods on organic production of *Cucurbita pepo*. L. Journal of Iranian Field Crop Research 5 (2): 281-9. (in Persian).
 38. Jahanban, L., and Lotfifar, O. 2012. Study of the effective organism (EM) application on effect on efficacy of chemical and organic fertilizers in corn cultivation (*Zea mais* Z S.C704). Plant Products Technology (Agricultural Research) 11 (2): 43-52. (in Persian).
 39. Jiang, M., and Zhang, J. 2002. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. Journal of Experimental Botany 53: 2401-2410.
 40. Jubany-Mari, T., Munne-Bosch, S., and Alegre, L. 2010. Redox regulation of water stress responses in field-grown plants. Role of hydrogen peroxide and ascorbate. Plant Physiology and Biochemistry 48 (5): 351-358.
 41. Kafi, M., and Mahdavi Damghani, A. 2000. Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants. Ferdowsi University Press. P: 467. (in Persian).
 42. Kerepsi, I., Toth, M., and Boross, L. 1996. Water-soluble carbohydrates in dried plant. Journal Agricultur Food Chemical 10: 3235-3239.
 43. Kleiber, T., Starzyk, J., Górski, R., Sobieraski, K., Siwulski, M., Rempulska A., and Sobiak, A. 2014. The studies on applying of effective microorganisms (EM) and CRF on nutrient contents in leaves and yielding of tomato. Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus 13 (1): 79-90.
 44. Krizek, D. T., Britz, S. J., and Mirecki, R. M. 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce. Physiology Plant 103: 1-7.
 45. Malek Ahmadi, F., Manochehri Kalantari, M., and Torkezadeh, M. 2005. The effect of flooding stress on induction of oxidative stress and concentration of mineral element in pepper (*Capsicum annum*) plants. Iranian Journal of Biology 18 (2): 110 -119. (in Persian).
 46. Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. London, 549-561.
 47. Mohammad, F., and Naseem, U. 2006. Effect of K application on leaf carbonic anhydrase and nitrate reductase activities, photosynthetic characteristics, NPK and NO₃ contents, growth and yield of mustard. Photosynthetica, 44 (3): 471-473.
 48. Mohammadkhani, N., and Heidari, R. 2007. Effects of water stress on respiration, photosynthetic pigments and water content in two maize cultivar. Pakistan Journal of Biological Science 10 (22): 4022-4028.
 49. Munne-Bosch, S., and Alegre, L. 2004. Die and let live: leaf senescence contributes to plants survival under drought stress. Functional Plant Biology 31 (3): 203-216.
 50. Munne-Bosch, S., Jubany-Mari, T., and Alegre, L. 2001. Drought-induced senescence is characterized by a loss of antioxidant defences in chloroplasts. Plant Cell and Environmental 24: 1319-1327.
 51. Munns, R., Hare, R. A., James, R. A., and Rebetzke, G. J. 2000. Genetic variation for improving the salt tolerance of durum wheat. Australian Journal of Agricultural Research 51: 69-74.
 52. Naderi, M. R., and Abedi, A. 2012. Application of nanotechnology in agriculture and refinement of environmental pollutants. Nanotechnology Journal 11 (1): 18-26.
 53. Nagananda, G. S., Das, A., Bhattacharya, S., and Kalpana, T. 2010. In vitro studies on the effects of biofertilizers (*Azotobacter* and *Rhizobium*) on seed germination and development of *Trigonella foenum graecum* L. using a novel glass marble containing liquid medium. International Journal of Botany 6: 394-403.
 54. Nazari-nasi, H., Jabari, F., Azimi, M. R., and Norouzian, M. 2012. Effect of drought stress on cell membrane stability, photosynthesis rate, relative water content and grain yield of Pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. Iranian Journal of Field Crop Science 43 (3): 491-499. (in Persian).
 55. Ojaghloou, F. 2007. Effect of inoculation with biofertilizers (*Azotobacter* and phosphate fertilizer) on growth, yield and yield components of safflower. Msc Thesis of Agriculture, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of

- Tabriz. (in Persian).
56. Omid-beigi, R. 2000. Production and Products of Medicinal Plants (Astane Ghodse Razavi Press) Mashhad. (in Persian).
 57. Omid, H. 2010. Changes of proline content and activity of antioxidative enzymes in two canola genotype under drought stress. American Journal of Plant Physiology 5 (6): 338-349.
 58. Pirzad, A., Alyari, H., Shakiba, M. R., Zehtab Salmasi, S., and Mohammadi, A. 2006. Essential oil content and composition of german chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) at different irrigation regimes. Journal of Essential oil Bearing Plants 6: 114-128.
 59. Ruiz, J. M., Sanchez, E., Garcia, P., Lopez Lefebre, L. R., Rosa, R. M., and Romero, L. 2002. Proline metabolism and NAD kinaz activity in green bean plants subjected to cold shock. Phytochemistry 59: 473-478.
 60. Safikhani, F. 2007. Effect of water stress on quantity and quality yield of *Dracocephalum moldavica* under field conditions. PhD Thesis of Agronomy, Chamran University, Ahvaz. (in Persian).
 61. Sanchez, E., Ruiz, J. M., and Romerto, L. 2002. Proline metabolism in response to nitrogen toxicity in fruit of French bean plants. Scientia Horticulturae 93: 225-233.
 62. Sanchooli, N. 2007. Effects of different ratios of manure and chemical fertilizer and mixture on soil properties, yield and yield components of corn. Msc Thesis in Agronomy, University of Zabol, Iran. (in Persian).
 63. Sandra, B., Natarajan, V., and Hari, K. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane sugar yields. Journal of Field Crop Research 77: 43-49.
 64. Sang-Mo, K., Ramalingam, R., Abdul, L. Kh., Min-Ji Kim, A., Jae-Man Park, A., Bo-Ra Kim, A., Dong-Hyun Shin, A., and In-Jung, L. 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.
 65. Sangtarash, M. H., Qaderi, M. M., Chinnappa, C. C., and Reid, D. M. 2009. Carotenoid differential sensitivity of canola (*Brassica napus*) seedlings to ultraviolet-B radiation, water stress and abscisic acid. Environmental and Experimental Botany 66 (2): 212-219.
 66. Schutz, M., and Fangmeir, E. 2001. Growth and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO₂ and water limitation. Environmental Pollution 11: 187-19.
 67. Sharifi, Z., and Haghnia, A. 2007. Effect of nitroxin biofertilizer on yield and yield components of wheat (Var Sabalan). 2nd National Congress of Ecological Agriculture, Gorgan, Iran.
 68. Shokouhian, A.A., Davarynejad, Gh., Tehranifar, A., Imani, A., and Rasoulzadeh, A. 2013. Influence of effective microorganisms on flower buds formation of two almond genotypes in water stress conditions. Journal of Horticultural Science 27 (2): 217-226.
 69. Stancheva, I., and N. Dinev. 2003. Effect of inoculation of maize and species of tribe Triticeae with *Azospirillum brasilense*. Journal of Plant Physiology 4: 550-552.
 70. Sween, D. W., Long, J. H., and Kirkham, M. B. 2003. A signal irrigation to improve early maturing soybean yeild and quality. Soil Science Society of America Journal 167: 235-240.
 71. Thalooth, A. T., Tawfik, M. M., and Magda Mohamed, H. 2006. A comparative study on the effect of foliar application of zinc, potassium and magnesium on growth, yield and some chemical constituents of mungbean plants grown under water stress conditions. World Journal of Agricultural Sciences 2 (1): 37-46.
 72. Turan, M., Ataoglu, N., and Sahin, F. 2007. Effect of Bacilluse FS-3 on growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) plants and availability of phosphorus in soils. Plant Soil Environment 53 (2): 58-64.
 73. Wu, Q., and Xia, R. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and water stress conditions. Journal of Plant Physiology 163: 417-425.
 74. Wu, S. C., Caob, Z. H., Li, Z. G., Cheung, K. C., and Wong, M. H. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: A greenhouse trial. Geoderma 125: 155-166.
 75. Zarco Tejada, P. J., Idler, M., Mohamad, G. H., Noland, T. L., and Sampson, P. H. 2000. Chlorophyll fluorescence effects on vegetation apparent reflectance. Remote Sensing of Environment 74: 596-608.
 76. Zheng, Y., Aijun, J., Tangyuan, N., Xud, J., Zengjia, L., and Gaoming, J. 2008. Potassium nitrate application alleviates sodium chloride stress in winter wheat cultivars differing in salt tolerance. Journal of Plant Physiology 165: 1455-1465.



Effects of Bio-fertilizers on Physiological Traits and Absorption of Some Nutrients of Chicory (*Cichoriumintybus* L.) in Response to Drought Stress

N. Rezaenia¹- M. Ramroudi^{2*}- M. Galavi³- M. Forouzandeh⁴

Received: 23-10-2016

Accepted: 23-01-2017

Introduction

The chicory is an economically important member of the Asteraceae family. Chicory has also been used for medicinal applications, useful to liver and gallbladder, which some of its health benefits is scientifically proved. In recent years, drought has been a serious problem in Iran. Several scientists have shown that a plant under stress will produce secondary metabolites that may influence its medicinal properties. This study aimed to investigate the effects of drought stress and bio-fertilizer application on physiological characteristics and absorption of some nutrients by chicory. Water is one of the most important environmental factors that has a significant influence on the growth and active ingredients of medicinal plants. Water shortage causes serious damage to plant growth and development. In the time of drought and salinity due to the high concentration of salts in the root zone and increase in the osmotic potential of the soil, nutrients absorption will decrease. Therefore, the decrease in soil moisture changes the rate and amount of nutrient absorption by the plant. Organic fertilizers under drought stress by increasing the proline, soluble sugars and absorption of potassium and phosphorus can mitigate drought stress impacts and increase the crop yield. The sharp decline in root growth under the drought stress condition is the main factor reducing the elements absorption capability of the plants. The combined application of Effective Microorganism (EM) and organic fertilizers is a suitable method to supply and release essential nutrients. Results of a study showed that EM inoculation with soil has not only improved the quality and quantity of crop but also enhanced the quality of soil. Application of Nano fertilizers as an alternative to conventional fertilizers resulted in slow and controlled release of nutrient in the soil. In addition, nano fertilizers increase the nutrients uptake efficiency and minimize the negative impacts of consuming too much fertilizer and reduce the frequency of fertilizer application. Drought stress decreases the potassium level in soil and consequently in the plant. The aim of this study was to examine the impacts of Bio and nano fertilizers application on physiological traits and absorption of some nutrients in chicory plant under limited irrigation.

Materials and Methods

To study the effects of Bio-fertilizers on physiological traits and absorption of some nutrient of Chicory (*Cichorium intybus* L.) in response to drought stress, this experiment was conducted in 2014-2015 growing season in a split-plot design with three replications at the Agricultural Research Institute (Chah-Nimeh), University of Zabol, Iran. The main plots were drought stresses regulated with irrigation after 90 (control), 70 and 50 percent of field capacity. Sub plots were different levels of Bio-fertilizer application inclusive of a sub-plot without fertilizer (control), inoculation of nitroxin (1 lit ha⁻¹), effective EM (10 lit ha⁻¹), and foliar application of Nano potassium chelate fertilizer (27%) (10 kg ha⁻¹). The traits such as relative water content, protein percentage, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, flower yield, proline, flavonoid, carbohydrate, carotenoid, phosphor and potassium were evaluated.

Results and Discussion

Results showed that the interaction of Bio-fertilizer application and drought stress had a significant impact on all the traits except for the chlorophyll b. Increasing the stress rate, decreased the relative water content, photosynthetic pigments, carotenoid, protein percent, flower yield and phosphorus and potassium uptake. However, increase in the stress rate, increased the proline content, carbohydrate, and flavonoid increased. Bio-fertilizers application improved all the traits. The maximum relative water content, photosynthetic pigments, and flower yield were obtained from the treatment irrigated after 90 percent field capacity (FC) with EM application. The highest level of protein was obtained from the treatment irrigated after 90 percent of FC depletion and

1- MSc Student of Medicinal Plants, University of Zabol

2- Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Zabol

3- Professor, Faculty of Agriculture, University of Zabol

4- Instructor, Institute Agricultural Research, University of Zabol

(*- Correspondin Author Email: mramroudi42@uoz.ac.ir)

nitroxin fertilizer application. Maximum protein and carotenoid level were observed in irrigation treatment regulated with 50 percent FC and Nano potassium chelate fertilizer application. Maximum phosphorus and potassium uptake achieved from the treatment irrigated after 90 percent FC and Nano potassium chelate application. It is concluded that the increase in drought stress significantly decreases the photosynthetic pigments and absorption of nutrients.

Conclusions

According to the results, the use of Nano potassium chelate fertilizer, microorganism bio-fertilizer (EM) and nitroxin had a positive impact on efficiency of chicory production.

Keywords: Chlorophyll, Flower yield, Potassium, Proline, Protein percentage