تأثیر القای سویه‌های قارچ میکوریزا (*Glomus mosseae* و *Glomus intraradiceae*) و فسفر بر رشد و ترکیبات فیتوشیمیایی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) تحت شرایط تنش خشکی

الهام فدائی[۱]، یحیی پرویزی[۲]*، محمد گردکانه[۳]، معصومه خان‌احمدی[۴]

۱- کارشناس ارشد گیاهان دارویی، مؤسسه آموزش عالی جهاد دانشگاهی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۲- بخش تحقیقات حفاظت خاک و آبخیزداری، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران
۳- بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران
۴- گروه شیمی، جهاد دانشگاهی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
*آدرس مکاتبه: کرمانشاه، میدان سپاه پاسداران، بلوار کشاورز، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه بخش تحقیقات حفاظت خاک و آبخیزداری، کدپستی: ۶۷۱۵۸۴۸۱۶۷
تلفن و نمابر: ۳۸۳۸۳۴۶۰ (۰۸۳)
پست الکترونیک: yparvizi1360@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۴ **تاریخ تصویب:** ۹۶/۶/۱۳

چکیده

مقدمه: تنش خشکی باعث تقلیل رشد و تغییر کمیت و کیفیت متابولیت‌های گیاهان دارویی می‌شود. قارچ میکوریزا در برهمکنش با فسفر منجر به تعدیل اثر تنش خشکی می‌شود.

هدف: بررسی تأثیر تنش خشکی، میکوریزا و فسفر بر شاخص‌های رشد و کمیت و کیفیت اسانس بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.)

روش بررسی: آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۵ تکرار با سه فاکتور شامل: تنش رطوبتی (سه سطح: آبیاری کامل در زمان تخلیه ۳۵، ۶۵ و ۹۵ درصد رطوبت ظرفیت زراعی)، میکوریزا (سه سطح: بدون میکوریزا و مصرف سویه های *Glomus mosseae* و *Glomus intraradiceae*) و فسفر (دو سطح صفر و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتارو اجرا شد. فاکتورها).

نتایج: اثر متقابل بین فاکتورهای تنش خشکی، فسفر و میکوریزا بر همه صفات مورد مطالعه در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. بیشترین وزن تر بوته، وزن‌تر برگ مربوط به تیمار بدون تنش (۹۵ درصد ظرفیت زراعی)، مصرف فسفر و میکوریزا بود. بالاترین میزان تعداد گل، وزن تر ریشه، درصد اسانس در تیمار تنش رطوبتی ملایم (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) با تلقیح *G. mosseae* و کاربرد فسفر حاصل شد. کمترین مقدار صفات ذکر شده مربوط به تیمار تنش رطوبتی شدید، بدون استفاده از میکوریزا و فسفر بود. بیشترین میزان 6-methyl-2-phenylindole و Z-citral در تیمار مصرف *G. intraradices* و در شرایط بدون تنش حاصل شد و تیمار تنش ملایم و مصرف *G. intraradices*، موجب افزایش میزان geranyl formate، geranyl acetate و caryophyllene oxide موجود در اسانس شد.

نتیجه‌گیری: مصرف هر دو سویه میکوریزا در تنش خشکی شدید توانست عملکرد فیزیولوژیک و درصد اسانس بادرشبو را ۴۵ تا ۱۰۰ درصد افزایش دهد. افزایش اسانس، حتی در شرایط بدون تنش نیز با مصرف سویه‌های میکوریزا مشاهده شد.

گل‌واژگان: بادرشبو، اسانس، آب قابل استفاده، ترکیبات اسانس، قارچ میکوریزا

مقدمه

ایران از نظر تنوع گیاهان دارویی از جمله کشورهای مهم جهان به شمار می‌رود [۱]. خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که اثر محدودکننده‌ای بر تولید بسیاری از گیاهان، بویژه در مناطق خشک و نیمه خشک، دارد [۲]. کاهش مصرف آب تا زمانی که عملکرد محصول از آستانه عملکرد اقتصادی آن پایین‌تر نرود، ضروری است. کمبود شدید آب می‌تواند صدمات سنگینی به رشد و نمو و همچنین بر مواد مؤثره دارویی گیاهان وارد نماید [۱].

در گیاه بادرشبو با ساقه و برگ و گل معطر و اسانس-دار، ۶۶ ترکیب شناسایی شده که ژرانیل استات، ژرانیال، ژرانیول و نرال اصلی‌ترین ترکیب‌های شناخته شده هستند [۳]. بادرشبو گیاهی آرامش بخش و اشتهاآور است، اسانس آن خاصیت ضدعفونی کننده و ضد باکتریایی دارد [۴]. تنش خشکی شدید موجب افزایش میزان پرولین در ریشه و اندام هوایی می‌شود. گیاه بادرشبو با استفاده از مکانیزم تنظیم اسمزی و با افزایش میزان پرولین و قندها، شرایط تنش را تا حدی تحمل می‌نماید [۵]. گزارش شده در گیاه بادرشبو عملکرد دانه، ارتفاع و تعداد گل در شرایط تنش خشکی به شدت کاهش می‌یابد [۶]. همچنین گزارش شده که تنش خشکی موجب کاهش بیوماس گیاهی، ارتفاع بوته، عملکرد اسانس و عملکرد دانه سیاه‌دانه شد، اما با تشدید تنش درصد اسانس افزایش یافت [۷]. اثرات نامناسب تنش کم آبی در کاهش عملکرد اسانس در ریحان [۸]، و در اکلیل کوهی [۹] گزارش شده است. اعمال تنش خشکی در دو گونه ریحان شیرین و امریکایی، درصد روغن اسانس و ترکیبات روغن اسانس را افزایش داد [۱۰]. در تحقیقی گزارش شده بیشترین عملکرد رویشی بادرشبو از تیمار تنش خشکی ملایم همراه با مصرف ۴۰ تن کود دامی به دست آمده و بیشترین عملکرد اسانس ۶۹/۷ کیلوگرم در هکتار از تنش ملایم حاصل شد [۱۱].

مصرف کودهای زیستی در گیاهان دارویی، احتمال وجود اثرات منفی تنش خشکی را روی کیفیت دارویی آنها را کاهش می‌دهد [۱۲]. کودهای زیستی شامل ریزجانداران و متابولیت آنها می‌باشد که قادر به بالابردن تولید و کیفیت مواد مؤثر گیاهان دارویی مثل آلکالوئیدها، استروئیدها، گلیکوزیدها و اسانس‌ها هستند [۱۴، ۱۳]. قارچ‌های میکوریزا موجب افزایش جذب عناصر غذایی، افزایش جذب آب و افزایش بردباری در برابر تنش‌های زنده (عوامل بیماری زا) و غیرزنده (خشکی، شوری و...) می‌شوند [۱۵، ۹]. در تحقیقی بر روی گیاه زنیان نشان داد که کود زیستی باعث افزایش عملکرد بیولوژی شد [۱۶]. نشان داده شده که تلقیح با میکوریزا بر روی گیاه آویشن باغی باعث افزایش رشد، عملکرد و استقرار گیاه نسبت به شاهد شد [۱۷]. در ریحان [۱۸] و در زردچوبه [۱۹] نتایج مشابهی به دست آوردند. در تحقیقات مختلف اثر مثبت قارچ‌های میکوریزا بر افزایش محتوای اسانس و عملکرد اسانس گیاهان دارویی تأیید شده است [۲۱، ۲۰، ۱۶، ۱۱]. گزارش شده کاربرد قارچ میکوریزای *G. fasciculatum* با ترشح اسیدهای آلی حل کننده فسفات های نامحلول نظیر اسید مالیک، جذب فسفر گیاه را افزایش داد [۲۲].

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر دو سویه قارچ میکوریزا (*Glomus mossea* L.) و (*Glomus intraradices* L.) و تنش خشکی در سه سطح ۳۵، ۶۵ و ۹۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای (FC) و همچنین مصرف و عدم مصرف عنصر فسفر بر روی شاخص‌های رشد، ماده مؤثره و کمیت و کیفیت اسانس گیاه بادرشبو طرح‌ریزی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت گلدانی و به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با ۵ تکرار برای بررسی اثرات تنش خشکی، قارچ میکوریزا و فسفر رو گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L) در سال ۱۳۹۴ به اجرا درآمد. تنش خشکی در سه سطح شامل آبیاری در زمان تخلیه رطوبتی به میزان ۳۵، ۶۵ و ۹۵ درصد ظرفیت مزرعه بود. میزان آب آبیاری در هر مرحله به صورت کامل و بر جهت رسیدن

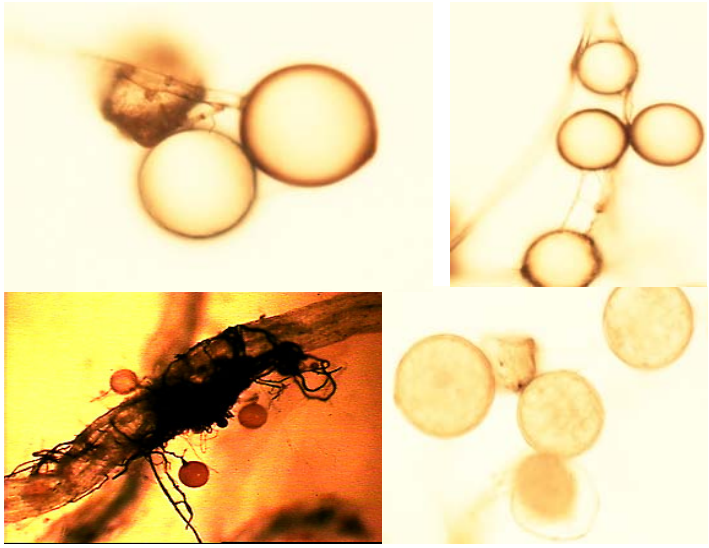
رطوبت خاک در هر مرحله محاسبه و اعمال شد. تیمار قارچ میکوریزا در سه سطح شامل دو سویه قارچ میکوریزا با نام‌های *G. mosseae* و *G. intraradices* (به میزان ۲۰ گرم مایه تلقیح در هر گلدان) و بدون استفاده از قارچ بود. قارچ‌های میکوریزا از مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. همچنین فاکتور فسفر شامل دو سطح فسفر به میزان ۱۰۰ کیلوگرم فسفر در هکتار به صورت سوپرفسفات تریپل (۴۵ درصد فسفر) و بدون مصرف فسفر اعمال شد. در تیمارهای مصرف فسفر کمیت فسفر برای هر گلدان بر مبنای وزنی و بر اساس تناسب وزن گلدان با وزن متوسط خاک در یک هکتار (بر مبنای وزن مخصوص متوسط ۱/۲ گرم بر سانتی‌متر مکعب) محاسبه و در هر گلدان اعمال شد. پس از محاسبات یاد شده در گلدان‌های تیمارهای فسفر، میزان ۰/۲ گرم کود سوپرفسفر تریپل پودر شده اضافه و با خاک مخلوط شد. بذر بادرشبو از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد.

بستر خاکی مورد استفاده شامل نسبت دو سوم خاک رسی لومی و یک سوم ماسه بود. پس از آماده‌سازی خاک، ابتدا خاک مورد استفاده به منظور استریل کردن، پس از رطوبت‌دهی و رساندن رطوبت خاک به حدود ظرفیت مزرعه‌ای، به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر اتوکلاو شد [۱۷]. پس از ۲۴ ساعت جهت حذف و از بین بردن قارچ‌های میکوریزا حاصل از تندش اسپورهای مقاوم، مجدداً خاک مرطوب به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه اتوکلاو شد. درنهایت خاک آفتاب خشک و پس از آماده‌سازی محیط کشت در گلدان‌های به نسبت‌های ذکر شده، پس از اعمال تیمارها، ریخته شد. ۲۰ الی ۳۰ عدد بذر روی سطح خاک کشت و حدود ۱ سانتی‌متر خاک روی آن الک شد. پس از کشت بذر و اعمال تیمارها، همه گلدان‌ها به صورت یکنواخت جهت جوانه‌زنی آبیاری شد. پس از سبز شدن بذرها، در هر گلدان ۶-۵ بوته نگهداری شد. در مرحله ۶-۴ برگی تنش خشکی در سطوح پیش‌بینی شده اعمال شد.

برای اعمال تنش خشکی، رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای (FC) و رطوبت نقطه پژمردگی دائم (PWP) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری این شاخص‌ها سه گلدان، به طور جداگانه، کشت شد. خاک گلدان‌ها در حد رطوبت اشباع آبیاری شد. سطح گلدان‌ها با نایلون پوشانده شد و هر روز رطوبت آن با نمونه گیری خاک و خشک نمودن در آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد، تا زمانی که رطوبت به یک حد ثابت که همان رطوبت ظرفیت مزرعه است، برسد. سپس برای تعیین رطوبت نقطه پژمردگی به گلدان‌های مازاد در مرحله ۳-۵ برگی آب داده نشد تا زمانی که بوته‌ها به شکل برگشت ناپذیری خشک شدند. سپس رطوبت محدوده توسعه ریشه با شیوه ذکر شده تعیین و معادل رطوبت نقطه پژمردگی دائم در نظر گرفته شد. پس از اندازه‌گیری این دو شاخص، آب قابل استفاده کل یا AW از تفاضل FC و PWP محاسبه شد. بر اساس نتایج کار مقادیر شاخص‌های PWP=11 و FC = 27.14 محاسبه شد. لذا مقدار عددی آب قابل استفاده در خاک زراعی مورد آزمایش معادل AW =16.14 درصد بود. پس از تعیین کمیت آب قابل استفاده خاک، مقدار رطوبت لازم را برای سطوح مختلف رطوبتی یعنی ۳۵، ۶۵ و ۹۵ درصد محاسبه و اعمال شد.

مایه تلقیح قارچ، مورد شمارش اسپور قرار گرفت. تعداد متوسط اسپور در هر گرم مایه تلقیح ۱۰۰ تا ۱۲۰ عدد بود که این تعداد برای استفاده مناسب به نظر می‌رسید. برای شمارش اسپور ۱۰ گرم مایه تلقیح توزین و در آب برای چند بار از غربال‌های با اندازه‌های مختلف شستشو شد. مواد باقیمانده بر روی غربال با اندازه منافذ ۴۵ میکرون در محلول ساکاروز ۶۰ درصد برای ۳ با پیاپی در دور ۴۰۰۰ هر بار سانتریفوژ شد و پس از جدا کردن مایع روئی مجدد سانتریفوژ شد، پس از دور ریختن مواد باقیمانده در ته لوله سانتریفوژ محلول ساکاروز در الک ۳۲ میکرون الک شد اسپورها روی الک باقیمانده و در زیر لوپ شمارش شدند [۲۳]. شکل شماره ۱، تصویر اسپورهای سالم قارچ‌ریشه مورد استفاده در مراحل مختلف تندش نشان داده شده است.

پس از ۴۰ روز از زمان اعمال تیمارهای تنش خشکی، برداشت گیاه انجام شد. در زمان برداشت اندازه‌گیری صفات رویشی شامل تعداد گل، وزن تر و خشک ساقه، ریشه و برگ

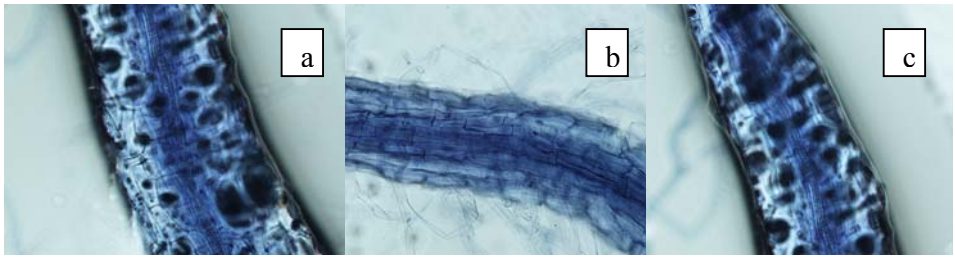


شکل شماره ۱- تصاویر اسپورهای شمارش شده در دو سویه قارچ میکوریزا مورد استفاده

انجام شد. جهت تعیین وزن خشک گیاه، آنها را در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجـه سانتی‌گراد نگهداری کرده و سپس توزین شدند [۲۴]. در زمان برداشت ریشه‌های گیاه قطع و جهت تعیین کارایی همزیستی، شمارش کلنی انجام شد. برای تعیین درصد کلونیزاسیون، ریشه‌ها رنگ‌آمیزی شدند بدین‌صورت که ابتدا ریشه‌ها با آب معمولی شسته شده و با استفاده از تیغ به قطعات یک سانتیمتری تقسیم شدند. سپس قطعات ریشه را داخل KOH ده درصد به مدت یک ساعت و در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد که در این مرحله کاملاً سفید می‌شوند و پس از شستشو با آب به مدت سه دقیقه در HCl یک درصد گذاشته شدند رنگ‌آمیزی ریشه‌ها بدون شستشوی آنها و به همان حالت اسیدی با محلول رنگی فوشین اسیدی صورت گرفت. برای تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها از روش تلاقی خطوط شبکه استفاده شد [۲۳]. شکل شماره ۲ تصاویر کلونیزاسیون ریشه در این آزمایش نشان داده شده است.

اسانس‌گیری با دستگاه کلونجر انجام شد. جهت آنالیز اسانس و شناسایی ترکیبات موجود در آن از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی (GC/MS) متصل به طیف‌سنج جرمی استفاده شد. دستگاه کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول ۳۰ میلی متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی آون به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، دمای انتهایی ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه و سه دقیقه توقف در این دما بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی گراد بود و از گاز هلیم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌متر در دقیقه استفاده شد.

طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent6890 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت روش یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی گراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی و ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت. طیف‌های به دست آمده از طریق مقایسه با طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد شناسایی شدند و سپس با استفاده از محاسبه شاخص‌های بازداری (RI) و با تزریق هیدروکربن‌های نرمال مورد تأیید قرار گرفتند. درصد هر یک از ترکیبات با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام حاصل از GC با روش Area Normalization به دست آمد [۲۷، ۲۶].



شکل شماره ۲- تصاویر شمارش کلونی در ریشه های گیاه مورد آزمایش (a: سویه *G. Mosseae*، b: بدون میکوریز و c: سویه *G. intraradices*)

پس از جمع‌آوری داده‌ها برای هر یک از صفات، تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با استفاده از MSTATC انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج صورت گرفت.

نتایج

اثر قارچ میکوریزا، تنش خشکی و فسفر بر روی شاخص‌های رشد و صفات فیتوشیمیایی در جدول شماره ۱ ارائه شده است.

وزن تر ریشه

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول شماره ۱) حاکی از آن است که اثر ساده سطوح تنش خشکی، فسفر و میکوریزا تأثیر معنی‌داری در سطح ۱ درصد بر روی وزن تر ریشه داشتند. اثر متقابل دوگانه بین فاکتورها و اثر متقابل سه‌گانه، میکوریزا× تنش خشکی × فسفر تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد بر روی وزن تر ریشه مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن (جدول شماره ۲) نشان داد که بیشترین وزن تر ریشه در بوته با ۱/۲۰ گرم مربوط به تیمار مصرف میکوریزای *G. mosseae* با مصرف فسفر و تیمار تنش متوسط ۶۵ درصد ظرفیت مزرعه، بود. در شرایط عدم مصرف میکوریزا، فسفر و تیمار تنش شدید ۳۵ درصد ظرفیت مزرعه، کمترین وزن تر ریشه در بوته (۰/۲۴) ثبت شد.

تعداد گل در بوته

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول شماره ۱) حاکی از آن است که که سطوح تنش خشکی، فسفر و میکوریزا تأثیر معنی‌داری در سطح ۱ درصد بر روی تعداد گل در بوته داشتند. اثر متقابل دوگانه بین فاکتورهای تنش خشکی در مایکوریزا و اثر متقابل تنش خشکی در فسفر و اثر متقابل سه‌گانه، میکوریزا× تنش خشکی × فسفر در سطح ۱ درصد بر روی تعداد گل در بوته معنی‌دار شد. اما اثر متقابل دوگانه بین فاکتورهای مایکوریزا در فسفر در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین داده‌های جدول شماره ۳ نشان داد که بیشترین تعداد گل در بوته با ۶/۰۰ گل در تیمار تنش متوسط ۶۵ درصد ظرفیت مزرعه، میکوریزای *G. mosseae* و مصرف کود فسفر ثبت شد و در تیمار تنش شدید ۳۵ درصد ظرفیت مزرعه و بدون مصرف میکوریزا و کود فسفر گلی تشکیل نشد.

میزان اسانس (درصد)

نتایج تجزیه واریانس داده های جدول شماره ۱ نشان داد که اثر اصلی سطوح تنش خشکی، فسفر و میکوریزا تأثیر معنی داری در سطح ۱ درصد بر روی درصد اسانس داشتند. در بیشتر موارد تنش خشکی منجر به افزایش ۵۰ تا ۱۰۰ درصدی در میزان اسانس بادرشبو شده بود. اثرات متقابل فاکتورها به صورت دو به دو و نیز اثر متقابل سه‌گانه فاکتورهای میکوریزا، تنش خشکی و فسفر، بر روی درصد اسانس در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول شماره ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در جدول شماره ۳ نشان داد بیشترین درصد اسانس با ۱/۵ درصد در تیمار مصرف میکوریزای *G. mosseae* و کود فسفر در شرایط تنش متوسط ۶۵ درصد ظرفیت مزرعه، ثبت شد و کمترین درصد اسانس با ۰/۲۵ درصد در تیمار بدون تنش و بدون مصرف میکوریزا و کود فسفر حاصل شد.

اثر تنش خشکی و میکوریزا بر ترکیبات اسانس بادرشبو

به منظور بررسی تاثیر تنش خشکی و میکوریزا بر ترکیبات شیمیایی بادرشبو، دو سویه قارچ میکوریزا با نام‌های *G. mosseae* و *G. intraradices*، تنش خشکی در سه سطح ۳۵، ۶۵ و ۹۵ درصد ظرفیت مزرعه مورد بررسی قرار گرفت و نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها به شرح جدول شماره ۴ ثبت شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت بین سطوح تنش خشکی، میکوریزا و اثر متقابل بین آنها برای این صفات در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد.

جدول شماره ۱- تجزیه واریانس اثر میکوریزا، تنش خشکی و فسفر بر صفات برخی صفات رویشی و درصد اسانس بادرشبو

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن تر ریشه (گرم در گلدان)	درصد اسانس	تعداد گل	وزن تر برگ (گرم در گلدان)	وزن تر بوته (گرم در گلدان)
تنش خشکی (S)	۲	۰/۲۲**	۰/۱۹**	۱۲/۹۵**	۱۴/۶۶**	۲۶/۳۱**
مایکوریزا (M)	۲	۰/۰۸**	۱/۴۱**	۱۹/۶۵**	۷/۹۵**	۰/۶۴*
فسفر (P)	۱	۰/۷۶**	۲/۵**	۳/۵**	۳۸۵/۴**	۳۲/۳۲**
مایکوریزا × تنش	۴	۰/۲۳**	۰/۱**	۱۲/۵۷**	۴/۹۳**	۱/۱۵*
فسفر × تنش	۲	۰/۳۴**	۰/۹**	۲۹/۹۱**	۱۶/۷۳**	۳/۶۹**
فسفر × مایکوریزا	۲	۰/۱**	۰/۱۵**	۰/۳۹*	۷/۶۹**	۲/۱۵**
S ×M × P	۴	۰/۳۵**	۰/۵۸**	۱۰**	۵/۲۵**	۱/۷۲**
خطای آزمایش	۶۰	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۹	۰/۲۴	۰/۳۶
CV	-	۱۱/۷۲	۸/۵۶	۱۷/۶۶	۱۳/۷۹	۱۸/۵۲

n.s و * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول شماره ۲- مقایسه میانگین اثر میکوریزا، تنش خشکی و فسفر بر وزن تر بوته و وزن تر ریشه (گرم در گلدان) بادرشبو

		وزن تر ریشه (گرم در گلدان)			(گرم در گلدان) وزن تر بوته		
		بدون میکوریزا	*G. mosseae*	*G. intraradices*	بدون میکوریزا	*G. mosseae*	*G. intraradices*
فسفر۰	تنش۰	۰/۴۴d	۰/۶۲c	۰/۷۱b	۲/۶۹cd	۳/۵۱c	۳/۳۸c
	تنش۱	۰/۴۶d	۰/۶۷bc	۰/۶۸bc	۱/۹۴de	۲/۸۹c	۲/۷۸c
	تنش۲	۰/۲۴g	۰/۳۳e	۰/۳۲e	۱/۴۳e	۳/۱۲c	۳/۰۴c
فسفر۱	تنش۰	۰/۶۷bc	۰/۶۵bc	۰/۶c	۲/۹۸c	۴/۷۴b	۵/۹۷a
	تنش۱	۰/۳۵ef	۱/۲a	۰/۳۲e	۲/۶۹cd	۴/۵۹b	۴/۴۴b
	تنش۲	۰/۳۲e	۰/۴۲de	۰/۶۲c	۱/۵۶e	۳/۳۲c	۳/۲۶c

میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر صفت، بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول شماره ۳- مقایسه میانگین اثر میکوریزا، تنش خشکی و فسفر بر صفات تعداد گل و درصد اسانس بادرشبو

		تعداد گل در بوته			درصد اسانس		
		بدون میکوریزا	*G. mosseae*	*G. intraradices*	بدون میکوریزا	*G. mosseae*	*G. intraradices*
فسفر۰	تنش۰	۱/۱۸e	۱/۹۴d	۲/۹۷c	۰/۲۵i	۰/۶۶fg	۰/۵۴gh
	تنش۱	۱/۲e	۳/۲۶c	۲/۲d	۰/۵h	۰/۹cd	۰/۹cd
	تنش۲	۰h	۲/۱۲d	۳/۸b	۰/۵۵gh	۰/۹cd	۱c
فسفر۱	تنش۰	۱e	۱/۱۳e	۰/۹۳ef	۰/۶۶fg	۰/۷۶ef	۰/۶۲g
	تنش۱	۰/۵۳fg	۶a	۳/۷۳b	۰/۸۵de	۱/۵a	۱/۲۵b
	تنش۲	۰h	۰/۴۶g	۰/۹۳ef	۰/۸۳de	۱c	۱c

جدول شماره ۴- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی و میکوریزا بر ترکیبات اسانس گیاه بادرشبو

منابع تغییرات	درجه آزادی	Oxime-, methoxy-phenyl-	Linalool oxide cis	6-methyl- 2-phenylindole	Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-	Z-citral
تنش خشکی (S)	۲	۳۸۳۳/۶۶**	۲۳/۱۹**	۲۵۲۲/۶۴**	۱۵۵/۷۵**	۶/۶۰**
میکوریزا (M)	۲	۵۶۵/۵۰**	۰/۳۴**	۳/۴۴**	۴/۲۰**	۳/۷۱**
S × M	۴	۸۹۰/۱۲**	۱۹/۵۰**	۵۰/۴۵**	۷/۰۱**	۹/۰۷**
خطا	۳۶	۱/۴۴	۰/۰۱	۰/۵۰	۰/۰۴	۰/۰۲
Cv%		۶/۱۹	۳/۴۰	۴/۶۸	۸/۴۱	۵/۱۷

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

ادامه جدول شماره ۴-

منابع تغییرات	درجه آزادی	Trans-geraniol	Geranyl formate	Geranyl acetate	Caryophyllene oxide
تنش خشکی (S)	۲	۵۷۰/۵۳**	۱۰۴/۷۲**	۸۰۲/۵۰**	۸۳۶/۵۲**
میکوریزا (M)	۲	۲۶/۹۲**	۶/۸۳**	۲۰/۰۷**	۲۴/۵۱**
S × M	۴	۴۱/۶۷**	۵/۱۳**	۱۵/۲۵**	۱۵/۴۶**
خطا	۳۶	۰/۳۵	۰/۰۷	۰/۰۲	۰/۱۵
Cv%		۷/۰۵	۱۳/۱۷	۳/۲۵	۷/۰۳

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

نتایج مقایسه میانگین داده‌های جدول شماره ۵ نشان داد که بیشترین میزان Oxime, methoxy-phenyl (۵۱/۴۹ درصد) در تیمار مصرف میکوریزای *G. mosseae* و در شرایط بدون تنش ثبت شد و کمترین میزان این ترکیب (۰/۴۲ درصد) به تیمار تنش خشکی ۶۵ درصد ظرفیت مزرعه و بدون مصرف میکوریزا مربوط بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین میزان

جدول شماره ۵- مقایسه میانگین اثر تنش خشکی و میکوریزا بر درصد ترکیبات اسانس گیاه بادرشبو

سطح تنش	میکوریزا	Oxime-, methoxy-phenyl-	Linalool oxide cis	6-methyl- 2-phenylindole	Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-	Z-citral
تنش۰	بدون میکوریزا	۱۴/۰۸e	۳/۱۷c	۲۸/۲۴a	۰f	۵/۱۹a
تنش۰	*G. Mosseae*	۵۱/۴۹a	۴/۹۲b	۲۳/۱۹b	۰f	۱/۸۹f
تنش۰	*G. intraradices*	۱۷/۸۷d	۲/۴۹d	۲۱/۴۱c	۱/۷۳d	۲/۲۵e
تنش۱	بدون میکوریزا	۰/۴۲fg	۲/۸۶d	۰f	۴/۴۴c	۳/۰۵d
تنش۱	*G. Mosseae*	۱/۲۱f	۰/۶h	۰/۳۴f	۶/۷b	۴/۲۵bc
تنش۱	*G. intraradices*	۱/۲۹f	۰i	۰/۴۵f	۷/۱۲a	۴/۵b
تنش۲	بدون میکوریزا	۲۶/۳۵c	۱/۱۹g	۱۸/۲۲e	۱/۳۱e	۳/۱۳d
تنش۲	*G. mosseae*	۲۴/۸۴c	۲/۶۱d	۲۰/۱۶cd	۰f	۲/۹۲d
تنش۲	*G. intraradices*	۳۷/۱۳b	۵/۱۵a	۲۳/۸۷b	۰f	۱/۸۲f

میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر صفت، بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

ادامه جدول ۵-

سطح تنش	میکوریزا	Trans-geraniol	Geranyl formate	Geranyl acetate	Caryophyllene oxide
تنش۰	بدون میکوریزا	۸/۴۱c	۰f	۰/۲۸f	۰/۹۹d
تنش۰	*G. mosseae*	۵/۵۵d	۰f	۰f	۰f
تنش۰	*G. intraradices*	۴/۹۱d	۲d	۲/۷۴d	۵/۹۴c
تنش۱	بدون میکوریزا	۳/۱۲e	۳/۴۳c	۱۰/۲۵c	۱۳/۶۲b
تنش۱	*G. mosseae*	۳/۶۵e	۵/۶۹b	۱۴/۵۲b	۱۳/۵۹b
تنش۱	*G. intraradices*	۳/۸۸e	۶/۰۴a	۱۵/۴۴a	۱۵/۲۲a
تنش۲	بدون میکوریزا	۱۲/۹۸b	۰/۵۶e	۰/۷۳e	۰/۵۶de
تنش۲	*G. Mosseae*	۲۰/۲۹a	۰/۳۶e	۰/۷۱e	۰/۴۳e
تنش۲	*G. intraradices*	۱۲/۷۴b	۰f	۰f	۰f

میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر صفت، بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Linalool oxide cis در اسانس (۵/۱۵ درصد) به دست آمد ولی این ترکیب در تیمار تنش خشکی ۶۵ درصد ظرفیت مزرعه و مصرف میکوریزا *G. intraradices* شناسایی نشد.

در شرایط تنش خشکی و میکوریزا میزان 6-methyl- 2-phenylindole در اسانس قابل شناسایی نبود. ولی بیشترین میزان این ترکیب (۲۸/۲۴ درصد) در تیمار شاهد (بدون تنش خشکی و بدون کاربرد میکوریزا) حاصل شد و این ترکیب در تیمار تنش خشکی ۶۵ درصد ظرفیت مزرعه و بدون مصرف میکوریزا شناسایی نشد. نتایج نشان دادند که تیمار تنش خشکی ۶۵ درصد ظرفیت مزرعه و میکوریزای *G. intraradices*، به طور معنی داری موجب بهبود میزان Benzene, 1- methoxy-4-(1-propenyl)- اسانس شد، به نحوی که میزان این ماده در اسانس (۷/۱۲ درصد) در مقایسه با سایر تیمارها افزایش یافت.

نتایج مقایسه میانگین داده‌های جدول شماره ۵ نشان داد که بیشترین میزان Z-citral در اسانس (۵/۱۹ درصد) در تیمار شاهد (بدون تنش خشکی و بدون کاربرد میکوریزا) ثبت شد. تنش خشکی و میکوریزا تأثیر معنی‌داری بر روی میزان

Trans-geraniol در اسانس بادشبو داشتند. به طوری که بیشترین میزان این ترکیب (۲۰/۲۹ درصد) در تیمار تنش خشکی شدید و میکوریزای *G. mosseae* حاصل شد. در مجموع مصرف این سویه از میکوریزا در بهبود کمیت این ترکیب در اسانس کارآمدتر از سویه *G. intraradices* بود.

بحث

در شرایط تنش خشکی عملکرد رویشی بادرشبو کاهش یافت و بالاترین عملکرد آن در تیمار تنش ملایم به دست آمد. تنش خشکی از طریق کاهش طول دوره رشد و درنتیجه کاهش میزان فتوسنتز به طور معنی‌داری باعث کاهش عملکرد اقتصادی و بیولوژیک شده است [۲۴]. کاهش معنی‌دار عملکرد با افزایش تنش کم‌آبی در همیشه‌بهار [۲۸]، سیاهدانه [۷]، نعناع [۲۹] بومادران، مریم‌گلی، همیشه‌بهار، اسفرزه و بابونه [۳۰] نیز گزارش شده است. از سوی دیگر، مصرف هر دو سویه میکوریزا منجر به تعدیل اثر منفی تنش خشکی در عملکرد رویشی بادرشبو شد. در نتایج مشابهی، کود زیستی باعث افزایش عملکرد بیولوژی گیاه زنیان و آویشن باغی [۱۶] شد. کاربرد قارچ میکوریزای با ترشح اسیدهای آلی حل‌کننده فسفات‌های نامحلول نظیر اسید مالیک، جذب فسفر گیاه را افزایش دادند که در نتیجه این فرایند، جذب فسفر ارتقاء یافته و سپس کمیت اکثر صفات رویشی و زایشی گیاه افزایش نشان دادند [۲۲].

عملکرد رویشی ریشه نیز در این آزمایش، در اثر تنش خشکی کاهش یافت ولی این کاهش در شرایط مصرف کود زیستی میکوریزا تعدیل شده بود. در آزمایش مشابهی در ریحان کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک ریشه نیز گزارش شده است [۳۱]. دلیل این امر، می‌تواند ناشی از کاهش سنتز سیتوکنین در اثر کمبود فسفر باشد. چرا که با کاهش سنتز سیتوکنین رشد قسمت هوایی کند شده و در نتیجه تولید و انتقال مواد فتوسنتزی به ریشه کاهش می‌یابد. درنهایت این امر منجر به کاهش رشد ریشه می‌شود [۳۲].

اگرچه در آزمایش حاضر تنش خشکی در شرایط بدون مصرف کود زیستی منجر به کاهش شدید تعداد گل شده بود. ولی مصرف سویه‌های قارچ میکوریزا به شکل بارزی اثر منفی تنش خشکی را در تعداد گل شمرده شده در هر گلدان را تعدیل نمود. همچنین بیشترین تعداد گل در شرایط مصرف همزمان کود زیستی و کود فسفره و در تنش ملایم حاصل شد. در بررسی مشابهی روی گیاه همیشه بهار دریافتند که تعداد گل در شرایط تنش خشکی به شدت کاهش می‌یابد [۳۳]. این چنین نتیجه‌ای در در مورد بادرشبو نیز گزارش شده است [۶]. گزارش شده کاربرد قارچ میکوریزای *G. fasciculatum* سبب افزایش تعداد گل شده که دلیل این امر، مکانیزم عمل قارچ میکوریزا در جذب فسفر می‌باشد [۲۲]. پس از رویش و گسترش اسپورهای قارچی در ریزوسفر بخشی از ریشه‌ها وارد سیستم ریشه شده و سبب کاهش غلظت آبسیزیک اسید گشته و میزان سیتوکنین‌ها را افزایش داده که موجب گسترش سیستم ریشه‌ای و افزایش جذب آب و عناصر غذایی می‌شود. فسفر در رشد زایشی و تشکیل گل نقش مهم و مؤثری دارد. فسفر در ساختمان دانه گرده شرکت دارد و در تشکیل گل و بذر اهمیت زیادی دارد و همچنین بر تولید اندام‌های زایشی اثر افزایشی دارد [۳۴].

نکته حائز اهمیت در پژوهش حاضر، تأثیر تنش خشکی و مصرف کود زیستی در کمیت و کیفیت اسانس تولیدی بادرشبو بود. میزان اسانس بادرشبو با اعمال تنش ملایم دو برابر شده بود ولی همین تنش، در شرایط مصرف کود زیستی میزان اسانس را به میزان حدود ۳۰۰ درصد افزایش داده بود. آزمایش ها نشان داد که کاربرد دو گونه قارچ میکوریز در گیاه رازیانه میزان اسانس رازیانه را ۷۸ درصد نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد [۳۵]. نشان داده شده که اسانس در گیاه ریحان تلقیح شده با *G. mosseae* و *G. fasciculatum* به طور قابل توجهی بالاتر از تیمارهای دیگر بود [۱۸]. نتایج در گیاه زنیان [۱۶] و در گیاه گشنیز [۳۶] نیز بیانگر اثر مثبت کاربرد قارچ میکوریزا بر میزان اسانس گیاه بود. اسانس‌ها ترکیب‌های ترپنوئیدی بوده و واحدهای سازنده آنها (ایزوپرنوئیدها) مانند ایزوپنتنیل پیروفسفات (IPP) و دی متیل آلیل پیروفسفات، نیاز مبرم به ATP و NADPH دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های اخیر ضروری می‌باشد. از این رو همزیستی میکوریزایی از

طریق جذب کارآمد فسفر و تا حدودی نیتروژن توسط ریشه، موجب افزایش اسانس این گیاه دارویی شد [۳۵].

تنش آبی می‌تواند نوع ترکیب‌های اسانس را تغییر دهد. شواهد زیادی نشان می‌دهد که تحت شرایط تنش تولید برخی از این ترکیب‌ها تا چندین برابر افزایش می‌یابد، در مواردی نیز کاهش میزان متابولیت‌های ثانویه در شرایط تنش دیده می‌شود [۳۷]. استرس خشکی درصد اسانس اکثر گیاهان دارویی را افزایش می‌دهد، چون در موارد تنش متابولیت‌های بیشتری تولید شده و این مواد باعث جلوگیری از عمل اکسیداسیون در سلول می‌شوند [۳۸].

در تحقیقاتی که با استفاده از کودهای زیستی در گیاهان داروئی مختلف به عمل آمده، مشاهده شده که حداکثر ماده مؤثره گیاه دارویی در شرایط مصرف کود زیستی حاصل می شود [۴۰، ۳۹، ۳۵]. همزیستی قارچ AM با گیاه موجب تغییرات در تجمع متابولیت های ثانویه از جمله ترکیبات فنلی در ریشه و اندام هوایی و روغن های ضروری در گیاهان میزبان می‌شود [۴۴-۴۱]. تجمع فلاونوئیدها [۴۵]، مشتقات سیکلوهگزانون و آپوکاروتنوییدها [۴۷، ۴۶]، ترکیبات فنلی [۴۸، ۴۳] و تریترپنوییدها [۴۹] در گیاهان همزیست با میکوریز گزارش شده است. گزارش شده که ترکیب اسانس ریحان با تلقیح AMF بهبود می‌یابد و با افزایش لینالول و متیل چاویکول، موجب افزایش کیفیت اسانس شد [۱۸]. ترکیب شیمیایی Oxime, methoxy-phenyl که تغییرات آن در این آزمایش متأثر از تنش خشکی و کاربرد میکوریزا ردیابی شد، در اسانس برگ گیاه گزنه شناسایی شده بود [۵۰]. همچنین روند مشابهی در ترکیب شیمیائی 6-methyl- 2- phenylindole در اسانس این گیاهان ردیابی شده است [۵۱].

نتیجه‌گیری

- بیشترین وزن تر بوته مربوط به شرایط بدون تنش رطوبتی همراه با مصرف فسفر و میکوریزا بود. بالاترین میزان تعداد گل در بوته، وزن تر ریشه و درصد اسانس در تیمار تنش رطوبتی ملایم (۶۵ درصد ظرفیت زراعی)، تلقیح میکوریزا و کاربرد فسفر ثبت شد. کمترین مقدار صفات ذکر شده در تیمار تنش رطوبتی شدید، بدون استفاده از میکوریزا به دست آمد.

- بیشترین میزان Oxime methoxy-phenyl، 6-methyl- 2- phenylindole و Z-citral در تیمار بدون مصرف میکوریزا و در شرایط بدون تنش رطوبتی حاصل شد. اما در شرایط اعمال هر سطحی از تنش رطوبتی، مصرف میکوریزا باعث بهبود کمیت این ترکیب در اسانس می‌شد. تیمار تنش خشکی ملایم همراه با مصرف میکوریزای *G. intraradices*، به طور معنی داری موجب بهبود میزان Geranyl formate، Geranyl acetate و Caryophyllene oxide اسانس شد. بیشترین میزان Linalool oxide cis و Trans-geraniol در تیمار تنش خشکی شدید (۳۵ درصد ظرفیت مزرعه) و مصرف میکوریزای *G. intraradices* به دست آمد.

با توجه به اینکه تیمار تنش خشکی ملایم (۶۵ درصد ظرفیت مزرعه) به همراه مصرف فسفر و میکوریزای *G. intraradices* به طور معنی داری موجب بهبود صفات شاخص رشد، درصد اسانس و میزان دو ترکیب اصلی Geranyl formate، Geranyl acetate، Z-citral و Caryophyllene oxide در اسانس شده‌اند، این تیمار برای کشت این محصول قابل توصیه است.

منابع

1. Omidbaigi R. Producing and processing of medicinal plants. Second edition Astan Ghods Razavi pub. Iran. 2005, pp: 438.

2. Reddy AR, Chaitanya KV and Vivekanandan M. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. Plant Phys*. 2004; 161: 1189-1202.

3. Venskutionis PR, Dapkevicius A and Baranuauskiene M. Flavour composition of some lemon-like aroma herbs from Lithuania. *Dev. Food Sci*. 1995; 37 (1): 833-847.

4. Naghibi F.M, Mosaddegh S.M, Motamed M and Ghorbani A. Labiatea family in Folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian J. Pharmaceutical* Res. 2005; 2: 63-79.

5. Rezaei HM, Ghorbanli M and Peyvandi M. Effect of ascorbate and gibberellic acid on some biochemical traits in dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) under drought stress conditions. *Crop Prod. Res*. 2010; 2 (3): 385-401.

6. Safikhani FH, Heydari sharifabad A, Syadat A, Sharifi ashorabadi M, Syednedjad and Abbaszadeh B. The effect of drought stress on percentage and yield of essential oil and physiological characteristics of *Deracocephalum moldavica* L. *Iranian J. Med. Arom. Plants* 2007; 23 (1): 88-99.

7. Rezapor AR, Heidari M, Galavi M and Ramrodi M. Effect of water stress and different amounts of sulfur fertilizer on grian yield, grain yield components and osmotic adjustment in *Nigella sativa* L. *Iranian J. Med. Arom. Plants* 2011; 27 (3): 384-396.

8. Saleh Rastin N. Biofertilizers and their role for achievement to constant agriculture. Emission of Agric. Instruc. 1999, pp: 1 - 45.

9. Sainz MJ, Taboada-Castro MT and Vilarino A. Growth, mineral nutrition and mycorrhizal colonization of red clover and cucumber plants grown in a soil amended with composted urban wastes. *Plant and Soil.* 1998; 205: 85-92.

10. Khaosaad T, Vierheilig H, Nell M, Zitterl-Eglseer K and Novak J. Arbuscular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum sp., Lamiaceae*). *Mycorrhiza* 2006; 16: 443-446.

11. Rahimi AR, Mashayekhi K, Amini S and Soltani E. Effect of mineral vs. biofertilizer on the growth, yield and essential oil content of Coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Medicinal and Aromatic Plant Sci. Biotech*. 2009; 3 (2): 82-4.

12. Sharma A.K. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios, Indi 2002, pp: 300.

13. Mikovacki N, Marinkovic J, Cacic N and Bgelic D. Microbial abundance in rhizosphere ofSugarbeet in dependence of fertilization and inoculation with *Azotobacter chroococcum*. *Res. J. Agri. Sci*. 2010; 42 (3): 260- 4.

14. Sekar S and Kandavel D. Intraction of plant growth promoting rizobacteria (PGPR) and endophytes with medicinal plants- new avenues for phytochemicals. *J. Phytol*. 2010; 2 (7): 91-100.

15. Sundaresan P, Raja NU and Gunasekaran P. Induction and accumulation of phytoalexins in cowpea roots infected with the mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum* and their resistance to Fusarium wilt disease. *J. Biosci*. 1993; 18: 291 – 301.

16. Ghilavizadeh A, Darzi MT and Haj Seyed Hadi M. Effects of biofertilizer and plant density on essntial oil content and yield traits of Ajowan (*Carum copticum*). *Middle-East J. Scient. Res.* 2013; 14 (11): 1508 - 12.

17. Azimi R, Jangjoo M and Asghari H.R. Effects of mychorhyza on growth and morphological properties of *Thymus vulgaris* in natural conditions. *Iranian J. Field Crops Res*. 2013; 11 (4): 666-676.

18. Zolfaghari M, Nazeri V, Sefidkon F and Rejali F. Effects Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and essential oil content and composition of *Ocimum basilicum* L. *Iran. J. Plant Phys*. 2013; 3 (2): 643-650.

19. Yamawaki K, Matsumura A, Hattori R, Tarui A, Amzad Hossain M, OhashiY and Daimon H. Effect of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on growth, nutrient uptake and curcumin production of turmeric (*Curcuma longa* L.). *Agri. Sci*. 2013; 4 (2): 66-71.

20. Baniasad dashtabi M. Karimi A and Mohseni M. The effects of Mychorhyza and P on some qualitative and quantitative properties of Chamomile (*Matricaria chamomilla*) under salin

stress. 2th national conference of stableagriculture and natural resource. 2014.

21. Shokrani F, Pirzad A, Zardoshti MR and Darvishzadeh R. Effect of irrigation disruption and biological nitrogen on growth and flower yield in *Calendula officinalis* L. *Afric. J. Biotech*. 2012a; 11 (21): 4795 - 802.

22. Motahari M.R, Hani A, Moradi P, and Motahari H.R. Effects of P fertilizer and Mychorhyza fungi application on yield, yield components and chemical composition of Calendula medicinal plant. 1th national conference in new issues in agriculture. 2011.

23. Tommerup IC. Methods for study of population biology of vesicular – arbuscular mycorrhizal fungi. In: Methods in Microbiology. Vol. 24. Techniques for the study of mycorrhiza. Ed. by: Norris JR, Read DJ and Varma AK. Academic Press, London 1992, pp: 23 – 51.

24. Mousavi SGR, Seghatoleslami MJ, Ansarinia E and Javadi H. The effect of water deficit stress and nitrogen fertilizer on yield and water use effeciency of *Calendula officinalis* L. *Iranian J. Med. Arom. Plants* 2012; 28 (3): 493-508.

25. Hasani A. Effect of Water Deficit Stress on Growth, Yield and Essential Oil Content of *Dracocephalum moldavica*. *Iranian J. Med. Arom. Plants* 2006; 22 (3): 256-261.

26. Naghdi Badi H, Labbafi MR, Qavami N, Qaderi A, Abdossi V, Agharebparast MR and Mehrafarin A. Responses of Quality and Quantity Yield of Garden Thyme (*Thymus vulgaris* L.) to Foliar Application of Bio-stimulator Based on Amino Acids and Methanol. *J. Med Plants* 2015; 2 (54): 146-158.

27. Sajedi Moghadam S, Mehrafarin A, Naghdi Badi H, Pazoki AR and Qavami N. Evaluation of Phytochemical Yield of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) under Foliar Application of Hydroalcohols. *J. Med. Plants* 2012; 4 (44): 130-139.

28. Rahmani N, Valadabadi SA, Daneshian J and Bigdeli M. The effects of water deficit stress and nitrogen on oil yield of *Calendula officinalis* L. *Iran. J. Med. and Aromatic Plants* 2008; 24 (1): 101-108.

29. Lebaschy MH and Sharifi Ashoorabadi E. Growth indices of some medicinal plants under different water stresses. *Iranian J. Med. Arom. Plants* 2004; 20 (3): 249-261.

30. Hasani A. The effects of water stress due to PEG on Basil germination. *Iranian J. Med. Arom. Plants* 2005; 21 (4): 60-74.

31. Lambers H, Raven JA, Shaver GR and Smith SE. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends Ecol. Evol*. 2008; 23: 95 - 103.

32. Shubhra K, Dayal J, Goswami C L and Munjal R. Effects of water-deficit on oil of Calendula aerial parts. *Biol. Plantarum* 2004; 48 (3): 445-448.

33. Wojnowska T, Panak H and Seikiewiez S. Reaction of winter oilseed rape to increasing levels of nitrogen fertilizer application under condition of Ketizyn Chernozem. *Rosling Oleiste* 1995; 16: 173-180.

34. Kapoor R, Giri B, Krishna G and Mukerji I. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technol.* 2004; 93: 307-311.

35. Kapoor R, Giri B and Mukerji KG. Glomus macrocarpum: a potential bioinoculant to improve essential oil quality and concentration in Dill (*Anethum graveolens* L.*)* and carum (*Trachyspermum ammi* Sprague). *World J. Microb. Biotech*. 2002a; 18 (5): 459-463.

36. Salehi arjmand H. Effects of environmental stresses on secondary metabolites in plants. Procedings in national conference of sustainable development in medicinal plants, Forest and rangeland research institute Pub. 2005, pp: 305-307.

37. Li KR, Wang HH, Han G, Wang QJ, Fan J. Effects of brassinolide on the survival, growth and drought resistance of *Robinia pseudoacacia*

seedlings under water-stress. *New Forests* 2008; 35: 255-266.

38. Anwar M, Patra DD, Chand S, Alpesh K, Naqvi AA and Khanuja SPS. Effect of organic manures and inorganic fertilizer on growth, herb and oil yield, nutrient accumulation, and oil quality of French basil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 2005; 36: 1737-1746.

39. Gupta ML, Prasad A, Ram M and Kumar S. Effect of the vesicular arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technol*. 2002; 81 (1): 77–79.

40. Devi MC and Reddy MN. Phenolic acid metabolism of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) plants inoculated with VAM fungus and Rhizobium. *Plant Growth Regul*. 2002; 37: 151 - 156.

41. Copetta A, Lingua G and Berta G. Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. *Mycorrhiza* 2006; 16: 485-494.

42. Rojas-Andrade R, Cerda-Garcia-Rojas CM, Frias-Hernandez JT. Dendooven Olalde-Portugal V and Ramos- Valdivia AC. Changes in the concentration of trigonelline in a semi-arid leguminous plant (*Prosopis laevigata*) induced by an arbuscular mycorrhizal fungus during the presymbiotic phase. *Mycorrhiza* 2003; 13: 49 - 52.

43. Toussaint JP, Smith FA and Smith SE. Arbuscular mycorrhizal fungi can induce the production of phytochemicals in sweet basil irrespective of phosphorus nutrition. *Mycorrhiza* 2007; 17 (4): 291-297.

44. Larose G, Chenevert R, Moutoglis P, Gagne S, Piché Y and Vierheilig H. Flavonoid levels in roots of *Medicago sativa* are modulated by the developmental stage of the symbiosis and the root colonizing arbuscular mycorrhizal fungus. *J. Plant Physiol*. 2002; 159: 1329 - 1339.

45. Vierheilig H, Maier W, Wyss U, Samson J, Strack D and Piché Y. Cyclohexenon e derivative and phosphate-levels in split- root systems and their role in the systemic suppression of mycorrhization in precolonized barley plants. *J. Plant Physiol*. 2000a; 157: 593 - 599.

46. Fester T, Hause B, Schmidt D, Halfmann K, Schmidt J, Wray V, Hause G and Strack D. Occurrence and localization of apocarotenoids in arbuscular mycorrhizal plant roots. *Plant Cell Physiol*. 2002; 43: 256 - 265.

47. Akiyama K and Hayashi H. Arbuscular mycorrhizal fungus promoted accumulation of two new triterpenoids in cucumber roots. *Biosci. Biotech. Biochem*. 2002; 66: 762 - 769.

48.https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9602988#section=Top.

49. Vierheilig H, Gagnon H, Strack D and Maier W. Accumulation of cyclohexenone derivatives in barley, wheat and maize roots in response to inoculation with different arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 2000b; 9: 291 - 293.

50. Al-Tameme H, Hadi M, and Hameed I. Phytochemical analysis of *Urtica dioica* leaves by fourier-transform infrared spectroscopy and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Pharmacognosy Phytother*. 2015; 7 (10): 237-252. DOI: 10.5897/JPP2015.0361

51.https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6-Methyl-2-phenyl-1H-indole#section=InChI

The Effects of Mycorhiza (*Glomus mosseae* and *Glomus intraradiceae*) and Phosphorus on Growth and Phytochemical Traits of *Dracocephalum moldavica* L. under Drought Stress

Fadaee E (M.Sc.)[1], Parvizi Y (Ph.D.)[2*], Gerdakane M (Ph.D.)[3], Khan-ahmadi M (Ph.D.)[4]

1- Medicinal Plants departement, JDKU, Kermanshah, Iran
2- Soil Conservation and Watershed Management Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Kermanshah, Iran
3- Horticulture Crops Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Kermanshah, Iran
4- ACECR, Chemistry Group. Kermanshah, Iran
*Corresponding author: Soil Conservation and Watershed Management Research Department, Agriculture and Natural Resource Education Research Center of Kermanshah
Tel & Fax: +98-83-38383460
E-mail: yparvizi1360@gmail.com

Abstract

Background: Drought stress reduces growth and changes metabolites of medicinal plants. Mycorrhizal fungus in interaction with phosphorus can modify drought stress.

Objective: Study the effects of drought stress, mycorhiza and phosphorus fertilizer on growth indexes, quantity and quality of essential oil of medicinal plant *Dracocephalum moldavica* L.

Methods: This study was done on the base of factorial experiment in randomized complete block design with five replications. The factors were consist of three level of drought stress 95% Fc, 65% Fc and 35% Fc, three level of mycorrhizal inoculation (non-inoculated, *Glomus mosseae* and *Glomus intraradiceae*) and two level of phosphorus fertilizer (0, 100 kg/ha).

Results: Interaction effects were significant between drought stress, mycorhiza and phosphorus factors in all measured attributes at the 1% level. The highest fresh weight of plant and leaf were related to no drought stress condition (95% of field capacity), application of mycorhiza and phosphorus fertilizer treatments. The highest number of flowers, fresh weight of root, and essential oil percent were recorded in mild drought stress (65% of field capacity), mycorrhiza inoculation and application of phosphorus fertilizer. The lowest amount of all of above mentioned traits obtained in severe water stress, without Mycorhiza and phosphorus fertilizer treatments. The highest content of 6-methyl- 2-phenylindole and Z-citral in essential oil were obtained with no drought stress treatment. The mild water stress with application of *G. intraradices* increased the geranyl formate, geranyl acetate and caryophyllene oxide in essential oil.

Conclusion: Application of two mychorhiza strains in severe water stress can increase physiological yield and essential oil percent of *Deracocephalum moldavica* in about 45- 100%. The essential oil was increased even in no water stress with application of mychorhiza strains.

Keywords: *Deracocephalum moldavica*, Available water, Essential oil, Essential oil composition, Mycorhiza