تأثیر قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Trichoderma harzianum* بر صفات مورفولوژیک و عملکرد اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در سطوح مختلف فسفر و آبیاری

صدیقه وفایی رستمی[۱]، رحمت عباسی[۲*]، همت الله پیردشتی[۲]، مهدی قاجار سپانلو[۳]

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۹

۱- دانشجوی دکتری زراعت (فیزیولوژی گیاهان زراعی)، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲- به‌ترتیب استادیار و استاد گروه زراعت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۳- دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
*مسئول مکاتبه: Email: r.abasi@sanru.ac.ir

چکیده

به منظور بررسی تأثیر قارچ‌های *Piriformospora indica* (Pi) و *Trichoderma harzianum* (Th) بر صفات مورفولوژیک و عملکرد اسانس نعناع فلفلی در سطوح مختلف کود فسفر و آبیاری، آزمایشی به صورت اسپلیت فاکتوریل در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۹۷-۱۳۹۶ اجرا گردید. تیمارهای آبیاری ٤٠ و ۸۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر در کرت‌های اصلی و ترکیبات دو فاکتور کود شیمیایی فسفر (صفر، ٥٠ و ۱۰۰ درصد نیاز گیاه بر اساس آنالیز خاک) و کاربرد قارچ بصورت عدم کاربرد، کاربرد Pi، کاربرد قارچ Ti و کاربرد توأم دو قارچ در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تمامی اثرات ساده فاکتورها بر صفات بررسی شده بجز آبیاری بر طول ریشه و کود فسفر و قارچ بر درصد اسانس معنی‌دار گردید. همچنین اثرات متقابل آبیاری و کود تنها بر طول ریشه و سایر اثرات متقابل تنها بر ارتفاع بوته معنی‌داری بودند. مقایسات میانگین نیز نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک در سطوح آبیاری، کود فسفر و مصرف قارچ، بترتیب در تیمارهای آبیاری ٤٠ میلیمتر تبخیر، مصرف ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود فسفر و مصرف توأم دو قارچ بترتیب ۱۸٦۷، ۱۹۸۰ و ۱۸۲٤ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. میزان درصد اسانس در آبیاری ۸۰ میلیمتر تبخیر برابر ۲/۱۳٪ بود که ۳۳٪ افزایش نسبت به تیمار ٤٠ میلیمتر تبخیر نشان داد. همچنین بیشترین میزان عملکرد اسانس در تیمارهای آبیاری ۸۰ میلیمتر تبخیر، مصرف ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود فسفر و مصرف توأم دو قارچ بترتیب ۳٤/۱، ۳۷/۱ و ۳٤/۲ گرم در متر مربع بدست آمد. میزان افزایش عملکرد اسانس در هر یک از سطوح اشاره شده نسبت به تیمار شاهد مربوطه، بترتیب برابر ۱٤، ۳۳ و ۱٦٪ بود. کود فسفر و مصرف منفرد یا توأم قارچ باعث کاهش اثرات منفی تنش خشکی روی ارتفاع بوته نعناع فلفلی شد.

واژه های کلیدی: آبیاری، تریکودرما، کود، عملکرد اسانس، نعناع فلفلی

Effect of *Piriformospora indica* and *Trichoderma harzianum* on Morphological Characteristics, Yield and Essential Oil of Peppermint (*Mentha piperita*) at Different Amount of Phosphorus and Irrigation

Sedigheh Vafayi Rostami[1], Rahmat Abbasi[2*], Hemmatollah Pirdashti[2], Mehdi Ghajar Sepanlou[3]

Received: March 2, 2019 Accepted: October 1, 2019
1- PhD. Student of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
2- Assist., Prof. and Prof., of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
3-Assoc. Prof., of Soil Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
*Corresponding Author Email: r.abasi@sanru.ac.ir

Abstract

In order to investigate the application of *Piriformospora indica* (Pi) and *Trichoderma harzianum* (Th) fungi on morphological characteristics, yield and essential oil of Peppermint at different amount of phosphorus fertilizer and irrigation, a split factorial experiment at Research Farm of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources was conducted. Irrigation treatments as 40 and 80 mm evaporation from the evaporation pan and combination of phosphorus fertilizer (0, 50 and 100% of the plant requirement based on soil analysis) and the application of the fungus (non-application, Pi, Th and Pi + Th) were main and subplots, respectively. Analysis of variance showed that all of the simple effects of three factors were significant on the studied traits (except drought stress on root length, phosphorus and fungi on essential oil percentage). Also, the interaction effects of stress and fertilizer on root length and other interactions only had a significant effect on plant height. Mean comparisons showed that the highest dry weight at levels of drought stress, phosphorous fertilizer and fungus application was observed in 40 mm evaporation, 100 kg ha^{-1} and combined application of two fungi (1867, 1980 and 1824 $kg.ha^{-1}$, respectively). The essential oil percentage at 80 mm evaporation was 2.13%, which increased by 33% compared to 40 mm evaporation treatment. Also, the highest yield of essential oil was observed in 80 mm evaporation, 100 $kg.ha^{-1}$ phosphorus fertilizer and combined application of two fungi (34.1, 37.1 and 34.2 $g.m^{-2}$, respectively). The value of increasing essential oil yield at considered levels compared with this check treat was 14, 33 and 16%, respectively. Phosphorus fertilizer and single and combined application of two fungi reduced the negative effects of drought stress on plant height of peppermint.

Keywords: Essential Oil, Fertilizer, Irrigation, Peppermint, *Trichoderma*

مقدمه

نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita*، یکی از گیاهان دارویی و سبزی‌های خوراکی مهم بوده که علفی، پایا و چندساله از تیره نعناع (*Lamiaceae*) می‌باشد. در اسانس این گیاه ۳۷ ترکیب وجود دارد و اثر ضدمیکروبی این گیاه از گیاه مریم گلی بیشتر است (ایزدی و همکاران ۲۰۱۰). با توجه به بروز مسائلی مانند تغییر اقلیم و خطر تنش‌های مختلف، پژوهش‌های

زیادی در رابطه با بهبود عملکرد گیاهان و مقاومت آنها در برابر چنین مسائلی در حال انجام است. نتایج یک تحقیق اشاره داشت که تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار صفات رشدی و عملکرد و درصد اسانس محصول این گیاه شده است و بالاترین مقادیر مربوط به صفات رشدی و درصد روغن و میزان منتون و منتوفوران مربوط به تیمار با آبیاری در ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بوده است، در حالی که بیشترین مقدار منتول تحت تیمار آبیاری در ۷۰ درصد ظرفیت زراعی بدست آمد (خراسانی نژاد و همکاران ۲۰۱٦). قادری و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش کردند که رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه نعناع فلفلی تحت تیمار تنش خشکی کاهش یافته است، اما درصد اسانس و میزان پرولین با افزایش روبرو شده است.

کشاورزی پایدار نوعی کشاورزی است که در جهت منافع انسان بوده، کارایی بیشتری در استفاده از منابع دارد و با محیط در توازن است. استفاده از کودهای مفید مانند کودهای زیستی یا بیولوژیک می‌تواند در بهبود استفاده از عناصر غذایی موجود در خاک و تحریک رشد گیاهی نقش مهمی داشته و جانشین مناسبی برای افزایش تولید با کمترین اثرات اکولوژیکی باشد (هرموسا و همکاران ۲۰۱۲). محققین در مورد تأثیر کودهای زیستی روی گیاه دارویی نعناع فلفلی بیان داشتند که با کاربرد کودهای زیستی *تریکودرما* مقدار اسانس افزایش پیدا کرده است (گوپتا و همکاران ۲۰۰۲). یکی از کودهای زیستی که امروزه نظر بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است، قارچ‌های شبه‌میکوریزا هستند. اثرات گونه‌های مختلف این قارچ‌ها در مطالعات مختلف مورد توجه قرار گرفته است. سلیمی تملی و همکاران (۲۰۱٤) تأثیر مثبت پیش‌تیمار زیستی[1] بذر با قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Trichoderma virens* را بر مؤلفه‌های رویشی، مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهچه ماش سبز (*Vigna radiata* L.) گزارش دادند. پژوهش دیگری نیز بیان کرده است که تلقیح با قارچ میکوریز باعث افزایش معنی‌دار میزان نیتروژن ریزغده و برگ، درصد ماده خشک و وزن ریزغده سیب زمینی شده است (قبادی و همکاران ۲۰۱۸).

خشکی یکی از شایع‌ترین تنش‌های محیطی است که با محدود نمودن رشد و نمو گیاه، تولید موفقیت‌آمیز محصولات کشاورزی را به‌طور مشخص در اقلیم‌های خشک و نیمه خشک کره زمین به مخاطره می‌اندازد. کمبود رطوبت، گیاه را وادار به واکنش‌های مختلف مورفولوژیکی مانند کاهش سطح برگ، خزان زودرس، کاهش اندام هوایی، افزایش رشد ریشه و واکنش‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی مانند بسته شدن روزنه‌ها، کاهش در سرعت رشد، تجمع آنتی‌اکسیدانت و مواد محلول و فعالیت ژن‌های خاص می‌کند (بلوم و همکاران ۲۰۰٤). همچنین از طرفی اثرات تنش خشکی در عملکرد و تغییرات مواد مؤثر گیاهان دارویی دارای ویژگی‌های خاصی است که باید به طور کامل مورد ارزیابی قرار گیرد. به نظر می‌رسد که گیاهان دارویی واکنش‌های متفاوتی نسبت به تنش خشکی در عملکرد و مواد مؤثر تولیدی داشته باشند. خراسانی‌نژاد و همکاران (۲۰۱٦) گزارش کردند که مقدار بورنئول در ترکیب اسانس گیاه اسطوخودس (*Lavandula angustifolia*) با افزایش تنش خشکی بیشتر شد و تنش خشکی علی‌رغم کاهش درصد اسانس تولیدی، کیفیت اسانس را بهبود بخشید. میرشکاری و همکاران (۲۰۱۷) نیز بیان کردند که گیاه چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*) تحت تنش خشکی در حضور سالیسیلیک اسید، غلظت پروتئین را زیاد تغییر نداد، اما سبب کاهش شدید میزان قندهای غیراحیایی و نشاسته در برگ‌ها و تجمع قندهای احیایی شد. افزایش شدت تنش خشکی بر گل همیشه بهار (*Calendula officinalis*) نیز در ابتدا سبب افزایش سطح فلاونوئید و سپس کاهش آن شد و بالاترین سطح تنش خشکی منجر به کاهش میزان اسانس گل‌ها گردید

[1] Biopriming

(ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۶). لطفی و همکاران (۲۰۱۲) نتیجه گرفتند که تنش خشکی سبب افزایش طول ریشه، میزان پرولین و قندهای محلول در اندام هوایی گیاه ترخون (*Artemisia dracunculus*) شده بود به طوری که تیمار ٤٠ درصد ظرفیت زراعی دارای بیشترین میزان پرولین، قندهای محلول و گسترگی سطحی ریشه بوده است. نصراله‌زاده اصل و همکاران (۲۰۱۷) نیز بیان کردند که تنش کمبود آب سبب کاهش معنی‌دار صفات عملکرد و اجزای عملکرد، ارتفاع بوته و محتوای کلروفیل ذرت (*Zea mays* L.) شده است. سالاری میری و همکاران (۲۰۱٦) نیز به کاهش اثر تنش خشکی در گیاه زنیان (*Trachyspermum copticum*) با کاربرد *T. harzianum* اشاره کردند.

با توجه به اهمیت گیاه دارویی نعناع فلفلی و اهمیت تنش خشکی در بخش کشاورزی، در این پژوهش، بکارگیری دو قارچ *P. indica* و *T. harzianum* بر کاهش اثر تنش خشکی و کاربرد کمتر کود فسفر از نظر صفات مورفولوژیکی و عملکردی گیاه نعناع فلفلی در شهرستان ساری در شرایط مزرعه مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۹۷-۱۳۹٦ انجام شد. شهرستان ساری با عرض جغرافیایی ۳٦ درجه ۳۳ دقیقه، طول جغرافیایی ۵۲ درجه و ۵ دقیقه و ارتفاع ۱- متر از سطح دریای آزاد واقع شده و با متوسط بارندگی سالیانه ٦۹۰ میلی‌متر، رطوبت نسبی ۷۲/۸ درصد و دمای سالیانه ۱٦/۷ درجه سانتی‌گراد، دارای اقلیمی معتدل و مرطوب است.

آزمایش به‌صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. کرت اصلی، آبیاری در دو سطح ٤٠ و ۸۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر، و کرت فرعی شامل ترکیبات فاکتوریل دو عامل کود شیمیایی فسفر در سه سطح صفر، ۵۰ و ۱۰۰ درصد نیاز نعناع فلفلی و کاربرد قارچ در چهار سطح عدم کاربرد، کاربرد *پریفورموسپورا* (Pi)، کاربرد قارچ *تریکودرما* (Ti) و کاربرد توأم دو قارچ بوده است. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: نتایج آنالیز فیزیکوشیمیایی خاک محل تحقیق

بافت	ماده آلی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	اسیدیته	هدایت لکتریکی
	(%)		(mg.kg^{-1})			(dS.m^{-1})
رس سیلتی	۳/٤	۰/۲	۹/۱۱	۱۳۰/۰	۷/۱	۲/۳

ابعاد هر کرت ۲×۲ متر در نظر گرفته شد. فاصله بین کرت‌های هر بلوک ۰/۵ متر و فاصله بین کرت‌های بلوک‌های مجاور و کرت‌های اصلی دو متر بود. هر کرت آزمایشی شامل چهار خط کاشت با فاصله بین ردیف و روی ردیف به‌ترتیب ۵۰ و ۳۰ سانتیمتر بود. تیمارهای کود فسفره شامل سه سطح صفر، ۵۰ و ۱۰۰ درصد مصرف کود فسفره مورد نیاز گیاه (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی سوپرفسفات تریپل بر اساس نتایج آنالیز خاک و متناسب با سطح هر کرت) بودند که معادل مقادیر صفر، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود سوپرفسفات تریپل بودند و به خاک قبل از کاشت داده شدند. هم‌چنین میزان ثابت کود اوره و پتاسیمی لازم گیاه (بترتیب۱۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی اوره و سولفات پتاسیم بر اساس نتایج آنالیز خاک و متناسب با سطح هر کرت) استفاده شد. سولفات پتاسیم و یک سوم کود اوره قبل از کاشت

به خاک و بقیه کود اوره بصورت سرک و در زمان رشد سریع گیاه استفاده شد. سویه قارچ *P. indica* و *T. harzianum* از مجموعه قارچ‌های زنده آزمایشگاه پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان تهیه و به ترتیب پس از کشت در محیط کشت کفر (کفر ۱۹۷۷) و PDA به مدت چهار هفته در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری و پس از اسپورزایی، اسپورها از محیط کشت جدا و پس از رساندن به تعداد اسپور ۵×۱۰^{۵} و ۱×۱۰^{۷} در میلی‌لیتر برای تلقیح ریزوم-ها مورد استفاده قرار گرفت. سپس ریزوم‌های ریشه‌دار شده با حدود دو برگ (با سن تقریبی ده روز) در مزرعه کشت شدند. دو هفته پس از کاشت ریزوم ها سطوح آبیاری (آبیاری پس از ٤٠ و ٨٠ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A) اعمال گردید.

در این پژوهش جهت تأیید همزیستی قارچ‌های مورد استفاده، ریشه‌ها به دقت از خاک خارج و حدود یک گرم از ریشه‌های ظریف و ریز انتخاب و پس از شستشو با آب مقطر به آزمایشگاه منتقل و رنگ‌آمیزی شد. برای رنگ‌آمیزی از روش فیلیپس و هایمن (۱۹۷۰) استفاده و در نهایت با روش تقاطع خطوط شبکه (دالپ، ۱۹۹۳) درصد کلونیزاسیون ریشه محاسبه گردید. همچنین برخی از صفات مورفولوژیکی نعناع فلفلی شامل ارتفاع بوته، طول و قطر ریشه، تعداد برگ و تعداد شاخه فرعی و وزن خشک بوته اندازه‌گیری شدند. نمونه‌ها برای اندازه‌گیری وزن خشک در آون با دمای $٦٠^{o}C$ به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند. به‌منظور اسانس‌گیری، ۵۰ گرم از برگ خشک آسیاب‌شده به اضافه ٤٠٠ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ٤-۳ ساعت با کلونجر به شیوه تقطیر با آب مقطر انجام شد. تجزیه واریانس با نرم افزار SAS (9.1) و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون کمترین تفاوت (LSD) در سطح ۵ درصد انجام و نمودارها با Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

درصد کلونیزاسیون ریشه

مقادیر اندازه گیری شده درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه نعناع فلفلی در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین میزان کلونیزاسیون ریشه (٦٣/٥٥ درصد) مربوط به تیمارهای تلقیح با هر دو قارچ در شرایط بدون افزودن کود فسفر در آبیاری ٤٠ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر بود. کمترین درصد کلونیزاسیون ریشه (٤/٠٣ درصد) به تیمار بدون تلقیح با قارچ در آبیاری ٨٠ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر و بدون مصرف فسفر تعلق داشت. با افزایش میزان کود فسفر از صفر به ۱۰۰ کیلوگرم بر هکتار، درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه نعناع فلفلی با هر دو گونه قارچ کاهش یافت. هم‌چنین تیمار تلقیح توأم دو قارچ درصد کلونیزاسیون ریشه بالاتری نسبت به شاهد (بدون تلقیح) و تلقیح هر قارچ به صورت مجزا داشت. تدین و سلطانیان (۲۰۱٦) نیز اشاره نمودند که اثر دو گونه قارچ میکوریزای آسکوربولار تحت شرایط تنش خشکی بر درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه بزرک (*Linum ussitatissimum* L.) انجام شده بود، نشان داده شد که تنش خشکی سبب کاهش درصد کلونیزاسیون این گیاه شده است و تلقیح با قارچ اثر مثبتی بر این درصد داشت.

ارتفاع بوته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان از اثر معنی‌دار اثر ساده آبیاری، کود فسفر و قارچ و اثر متقابل آبیاری در قارچ و کود فسفر در قارچ و اثر متقابل آبیاری در کود فسفر در قارچ بر ارتفاع بوته داشت (جدول ۳).

جدول ۲- ترکیبات تیماری سطوح آبیاری و کود فسفر و قارچ بر درصد کلونیزاسیون ریشه نعناع فلفلی

قارچ	کود فسفر ($kg.ha^{-1}$)	آبیاری در مقدار تبخیر (mm) از تشتک تبخیر	
		٤٠	٨٠
عدم کاربرد قارچ (control)	٠	٥/٤١*	٤/٠٣
	٥٠	٥/٣	٤/٨٢
	١٠٠	٥/٢٧	٤/٤٨
پریفورموسپورا	٠	٥١/٨٩	٣٣/٧٦
	٥٠	٤٥/٠٧	٢٨/٥
	١٠٠	٢٧/٨٣	١٥/٣١
تریکودرما	٠	٥٣/٠٢	٤٦/٩٢
	٥٠	٤٩/٤٦	٣٧/٢٨
	١٠٠	٣٠/٨٤	١٧/١٢
پریفورموسپورا + تریکودرما	٠	٦٣/٥٥	٥٤/٧٦
	٥٠	٥٠/٢٣	٣٩/٣٦
	١٠٠	٣٢/٦٥	١٨/١٧

* کلونیزاسیون ریشه نعناع فلفلی به درصد

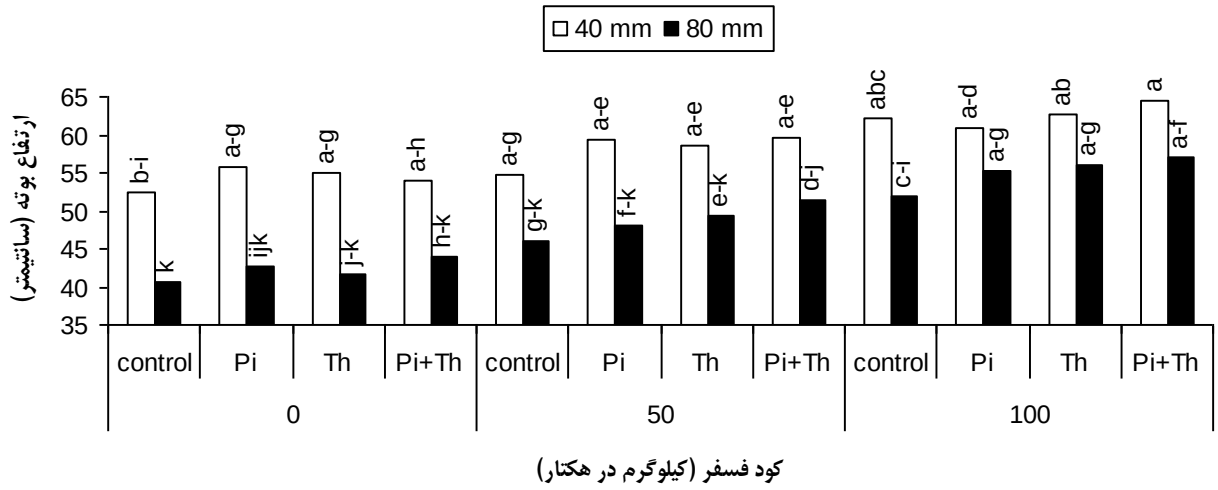
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی تحت تأثیر سطوح آبیاری، کود فسفر و تیمارهای قارچ

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	تعداد برگ در بوته	قطر ریشه	تعداد شاخه فرعی	طول ریشه	وزن خشک	عملکرد اسانس	درصد اسانس
تکرار	٢	٢٩٧/٧٦*	٦/٧٣ns	٠/٧ns	١/١٨ns	٢/٣٦ns	١١٢٠٣ns	٢٥/٣٨ns	٠/٢٥ns
آبیاری	١	١٤٤٨/١**	٣٤٣٠/٦٨*	٣/٥٩*	١/٤٨*	٢٤/٥ns	١٥٣٧٨١٩*	٣١٢/٣**	٤/٨٩٣*
خطای اصلی	٢	١٦/٣٣	٥٣/٢٣	٠/٠١	٤١/٦٨	٣/١٣	٨١٥٢٢/٦	٢/١٨	٠/١٨٦
کود فسفر	٢	٦٥٧/٢**	٣٠٦٠/١**	٦/٨٧**	٢/٦٣**	٦١٨/٦٩**	١٦٠٢٩٥٨**	٥٢٩/٥٧**	٠/٠٥٢ns
آبیاری × کود	٢	١٩/١٩ns	١١٦/٠٦ns	٠/٠٩ns	٠/١٣ns	٢١/٤٧*	١٢٣٧/٧ns	١٢/٦٦ns	٠/٠٠٦ns
قارچ	٣	١٣٦/٤٨	٢٨٥/١٣	٠/٦٩	٠/٦٦	٦٦/٢٩	١٦٦٩٩٩	٧٥/٧٩	٠/٠٢٦ns
آبیاری × قارچ	٣	٦٥/١٤*	٥٦/٥٤ns	٠/١١ns	٠/٠٧ns	٧/٣٢ns	١٩٧٥ns	١٠/٠٩ns	٠/٠١٣ns
کود × قارچ	٦	٣١٣/٤٢**	٢٥/٨٨ns	٠/١٩ns	٠/٢٦ns	٣/٤٩ns	٧٨٤ns	٨/٧ns	٠/٠٣٥ns
آبیاری × کود × قارچ	٦	٩٣/٧*	٤٤/٨٥ns	٠/١ns	٠/٠٦ns	٤/٣٩ns	٢٤٠٩ns	١/٩٦ns	٠/٠١٢ns
خطای فرعی	٤٤	٢٩/٣٤	٤٣/٦٩	٠/١١	٠/٢٤	٥/٨٨	١٨٤٩٥/٣	١٨/١	٠/٠٤٧
ضریب تغییرات (٪)		٩/٩	١١/٩٦	١٥/٣	٩/٨٤	١٧/٠٦	٨/٤	١٣/٢٩	١١/٥٨

**، * و ns به ترتیب نشان دهنده معنی دار بودن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

بیشترین میزان ارتفاع بوته در تیمار آبیاری ٤٠ میلیمتر تبخیر، ١٠٠ کیلوگرم فسفر و کاربرد توأم دو قارچ (٦٤/٥١ سانتی‌متر) و کمترین میزان ارتفاع بوته در تیمار آبیاری ٨٠ میلیمتر تبخیر، عدم مصرف کود و قارچ (٤٠/٥٣ سانتی‌متر) بود (شکل ١). کاهش ١٠ درصدی ارتفاع بوته ذرت در اثر تنش خشکی در مرحله رویشی نیز گزارش شده بود (ربانی و امام ٢٠١٢). همچنین سلیمی‌تملی و همکاران (٢٠١٤) گزارش کردند

که تلقیح گیاهچه ماش سبز با قارچ‌های شبه‌میکوریزا *P. indica* و *T. virens* سبب افزایش طول بوته شده است که این افزایش تنها در کاربرد قارچ *P. indica* معنی‌دار بود.



شکل ۱- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری آبیاری، کود فسفر و قارچ برای ارتفاع بوته نعناع فلفلی

(آبیاری در مقدار تبخیر به میلیمتر از تشتک تبخیر در دو سطح ۴۰ و ۸۰ میلیمتر؛ کود فسفر در سه سطح ۰، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل و قارچ در چهار سطح control، Pi، Th و Pi+Th، بترتیب شامل عدم کاربرد، *پریفورموسپورا*، *تریکودرما* و کاربرد توأم دو قارچ)

تعداد برگ در بوته

اثر آبیاری در سطح پنج درصد، کود فسفر و قارچ در سطح یک درصد بر تعداد برگ در بوته معنی‌دار شد، اما اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه فاکتورهای ذکر شده بر ارتفاع بوته معنی‌دار نشد (جدول ۳). بیشترین و کمترین تعداد برگ، بترتیب در تیمارهای آبیاری ۴۰ و ۸۰ میلیمتر تبخیر (بترتیب ۶۲/۱۸ و ۴۸/۳۶ برگ در بوته) بدست آمد. بیشترین تعداد برگ (۶۶/۵۴ برگ) با مصرف ۱۰۰ کیلوگرم کود فسفر و کمترین در تیمار عدم مصرف کود فسفر (۴۳/۹۶ برگ) بدست آمد. در تیمار مربوط به مصرف قارچ نیز بیشترین و کمترین تعداد برگ مربوط به تیمارهای کاربرد توأم قارچ Pi و Th و عدم استفاده از قارچ (بترتیب ۶۰/۴۴ و ۵۱/۸۱ برگ در بوته) مشاهده شد (جدول ٤). کاهش در تعداد و اندازه برگ در شرایط تنش خشکی، در پژوهش‌های دیگر نیز گزارش شده است (لیپورت ۱۹۹۹).

قطر ریشه

اثر آبیاری، کود فسفر و قارچ در سطح احتمال یک درصد بر قطر ریشه معنی‌دار شد، اما اثرات متقابل بر این صفت تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۳). بیشترین میزان قطر ریشه به میزان ۲/۳۸ میلی‌متر در تیمار آبیاری ۴۰ میلیمتر تبخیر و کمترین نیز در تیمار آبیاری ۸۰ میلیمتر تبخیر به میزان ۱/۹٤ میلی‌متر بدست آمد. هم‌چنین بیشترین میزان قطر ریشه به میزان ۲/۷٤ میلی‌متر در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم کود فسفر و کمترین به میزان ۱/٦۹ میلی‌متر در عدم استفاده از کود فسفر مشاهده شد. در تیمارهای مربوط به قارچ بیشترین قطر ریشه به میزان ۲/۳۸ میلی‌متر در مصرف توأم قارچ *P. indica* و *Trichoderma harzianum* و کمترین نیز در عدم مصرف قارچ به میزان ۱/۹٤ میلی‌متر بدست آمد (جدول ٤). در آزمایشی که دشتی و همکاران (۲۰۱۵) روی گیاه دارویی نوروزک (*Salvia leriifolia*) داشتند نشان دادند که تنش خشکی باعث کاهش قطر ریشه شد.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر آبیاری، کود فسفر و قارچ بر برخی صفات نعناع فلفلی

تیمار	تعداد برگ در بوته	قطر ریشه (mm)	تعداد شاخه فرعی
آبیاری			
٤٠ میلیمتر تبخیر	٦٢/١٨a	٢/٣٨a	٥/٠٥a
٨٠ میلیمتر تبخیر	٥٦/٢٣b	١/٩٤b	٤/٨٨b
کود فسفر ($kg.ha^{-1}$)			
٠	٤٣/٩٦c	١/٦٩c	٤/٦c
٥٠	٥٦/٢٣b	٢/٠٩b	٥/٠٧b
١٠٠	٦٦/٥٤a	٢/٧٤a	٥/٢٥a
قارچ			
عدم کاربرد قارچ (control)	٥١/٨١d	١/٩٤d	٤/٧٣d
Pi	٥٣/٥c	٢/١١c	٤/٩٤c
Th	٥٧/٢٨b	٢/٣b	٥/٠٦b
Pi + Th	٦٠/٤٤a	٢/٣٨a	٥/١٨a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.
(control، Pi، Th و Pi+Th، بترتیب شامل عدم کاربرد، *پریفورموسپورا*، *تریکودرما* و کاربرد توأم دو قارچ می‌باشند)

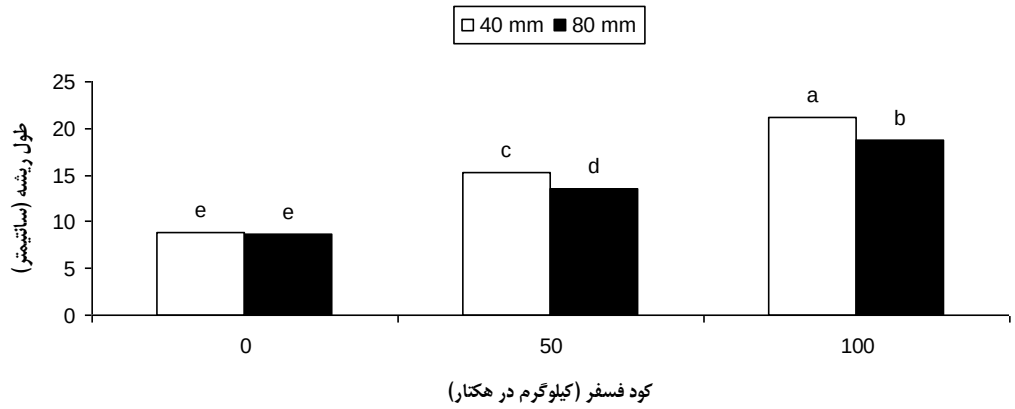
تعداد شاخه فرعی

اثر آبیاری و قارچ در سطح احتمال پنج درصد و کود فسفر در سطح احتمال یک درصد بر تعداد شاخه فرعی معنی‌دار شد، اما اثرات متقابل دوگانه و سه گانه فاکتورهای ذکر شده بر تعداد شاخه فرعی معنی‌دار نشد (جدول ۳). بیشترین و کمترین تعداد شاخه فرعی در سطوح آبیاری، بترتیب در تیمارهای آبیاری ٤٠ و ٨٠ میلیمتر تبخیر (بترتیب ٥/٠٥ و ٤/٨٨ شاخه) بدست آمد. بیشترین و کمترین تعداد شاخه فرعی در سطوح کود فسفر، بترتیب در تیمارهای ١٠٠ کیلوگرم و عدم مصرف کود فسفر (بترتیب ٥/٢٥ و ٤/٦٠ شاخه) بدست آمد. همچنین بیشترین و کمترین تعداد شاخه فرعی در سطوح مصرف قارچ، بترتیب در تیمارهای مصرف توأم قارچ و عدم استفاده از قارچ (بترتیب ٥/١٨ و ٤/٧٣ شاخه) مشاهده شد (جدول ٤). تحت شرایط افزایش فواصل آبیاری تعداد سلول‌های آغازین تشکیل شده جهت تولید انشعابات اولیه ساقه کاهش می‌یابد و در نتیجه به کاهش تعداد شاخه اصلی در بوته در گیاه می‌انجامد. گزارش شده است که شاخه‌دهی در گیاه نخود (*Cicer arietinum*) به شدت تحت تأثیر شرایط محیطی به ویژه خصوصیات فیزیکی خاک و یا تنش خشکی قرار دارد و شرایط محیطی می‌تواند سهم شاخه‌ها از عملکرد نهایی را تغییر دهد (گنجعلی و همکاران ٢٠٠٨).

طول ریشه

آنالیز واریانس نشان داد که تنها اثر ساده کود فسفر، قارچ در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل آبیاری و کود فسفر در سطح احتمال پنج درصد بر طول ریشه معنی‌دار شد (جدول ٣). بیشترین میزان طول ریشه (٢١/٢٥ سانتی‌متر) در تیمار آبیاری ٤٠ میلیمتر تبخیر و مصرف ١٠٠ کیلوگرم کود فسفر و کمترین میزان آن (٨/٦٢ سانتی‌متر) در آبیاری ٨٠ میلیمتر تبخیر و عدم مصرف کود فسفر بدست آمد. افزایش مصرف کود باعث افزایش طول ریشه گردید و در هر سطح کودی اعمال خشکی (آبیاری پس از ٨٠

میلیمتر تبخیر نسبت به ۴۰ میلیمتر) باعث کاهش میزان طول ریشه گردید (بجز شرایط عدم مصرف کود فسفر که سطوح آبیاری نتوانست تفاوت معنی‌داری بر طول ریشه داشته باشد) (شکل ۱). امیری ده مردی و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی تاثیر تنش خشکی بر برخی شاخص‌های مورفولوژیکی سه گیاه دارویی خار مریم (*Silybum marianum*)، همیشه بهار (*Calendula officinalis*) و سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) نشان دادند که بیشترین ماده خشک تولیدی، تعداد برگ، دانه، وزن هزاردانه در تک بوته، ساقه، برگ و طول ریشه در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و کمترین مقدار در تیمار ۲۵ درصد مشاهده شد.



شکل۱- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری آبیاری و کود فسفر برای طول ریشه نعناع فلفلی

(آبیاری در مقدار تبخیر به میلیمتر از تشتک تبخیر در دو سطح ۴۰ و ۸۰ میلیمتر
و کود سوپر فسفات تریپل در سه سطح ۰، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار)

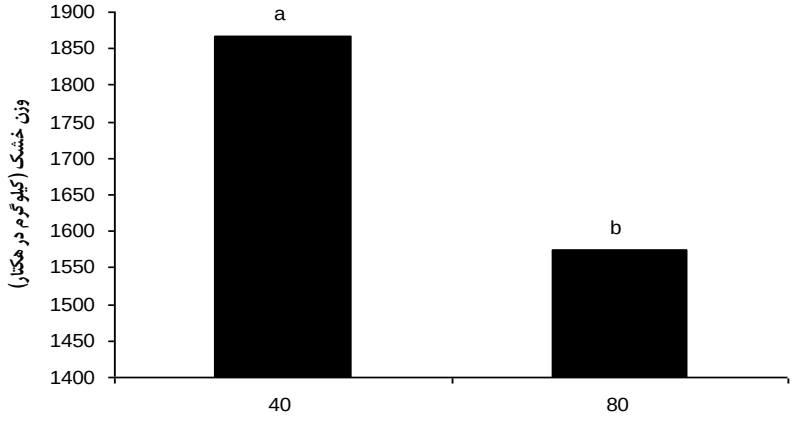
وزن خشک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر آبیاری در سطح احتمال پنج درصد، کود فسفر و قارچ در سطح احتمال یک درصد بر وزن خشک معنی-دار بودند. اما اثرات متقابل دوگانه و سه گانه فاکتورهای ذکر شده بر صفت یاد شده تأثیر معنی‌داری نداشتند (جدول ۳). بیشترین و کمترین میزان وزن خشک در سطوح آبیاری، بترتیب در تیمارهای آبیاری ۴۰ و ۸۰ میلیمتر تبخیر (بترتیب ۱۸۶۷/۶۴ و ۱۵۷۵/۳۵ کیلوگرم در هکتار) بدست آمد (شکل (a)۲). بیشترین و کمترین میزان وزن خشک در سطوح کود فسفر، بترتیب در تیمارهای مصرف ۱۰۰ کیلوگرم و عدم مصرف کود فسفر (بترتیب ۱۹۸۰ و ۱۴۶۳ کیلوگرم در هکتار) بدست آمد (شکل (b)۲). همچنین بیشترین و کمترین میزان وزن خشک در سطوح مصرف قارچ، بترتیب در تیمارهای مصرف توأم قارچ و عدم استفاده از قارچ (بترتیب ۱۸۲۴ و ۱۵۹۶ کیلوگرم در هکتار) بدست آمد (شکل (c)۲). استفاده از قارچ میکوریز تحت سطوح مختلف فسفر باعث افزایش شاخص‌های رشد گیاه مانند سطح برگ، ارتفاع گیاه و قطر ساقه (بیابانی و همکاران ۲۰۱۶) می‌شود.

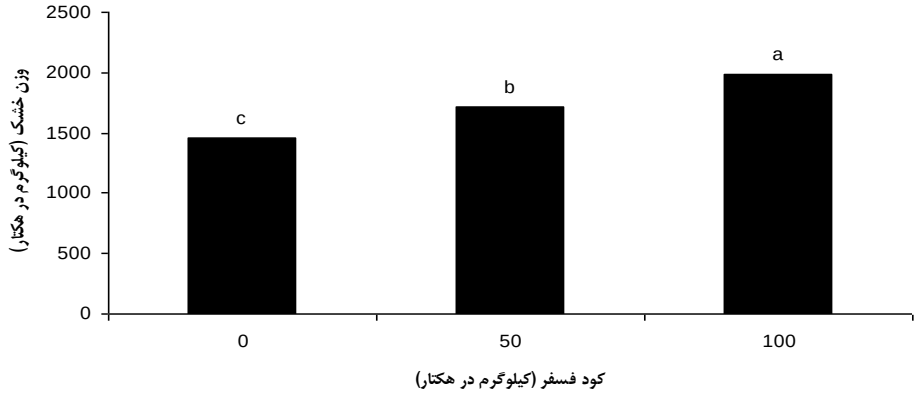
درصد اسانس

تنها اثر آبیاری در سطح احتمال پنج درصد بر میزان درصد اسانس معنی‌دار شد (جدول ۳). کمترین میزان اسانس (۱/۶۱٪) در تیمار آبیاری ۴۰ میلیمتر تبخیر و بیشترین آن (۲/۱۳٪) در ۸۰ میلیمتر تبخیر مشاهده شد (شکل ۳). در پژوهش احمدیان و همکاران (۲۰۱۰) نیز افزایش میزان اسانس با اعمال تنش خشکی در زیره سبز (*Cuminum cyminum*) گزارش شده است.

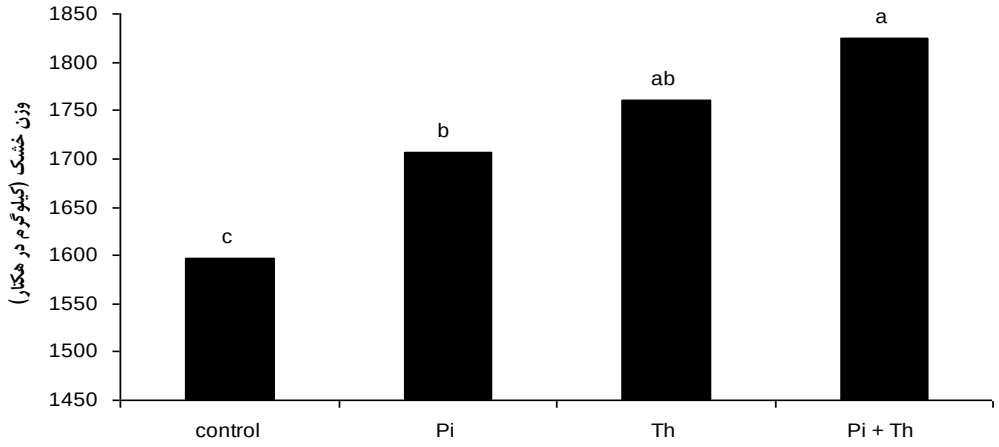
(a)



(b)



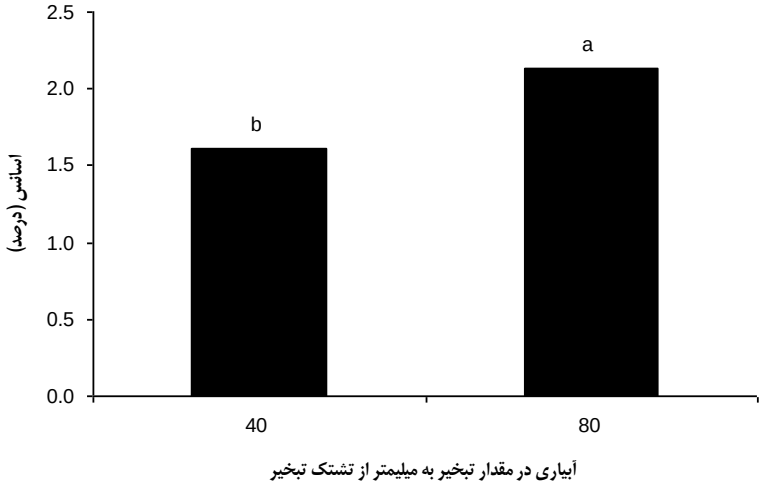
(c)



شکل ۲- اثر سطوح آبیاری (a)، کود فسفر (b) و تیمارهای قارچ (c) بر وزن خشک نعناع فلفلی

ستون‌های دارای حروف مشترک در هر نمودار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ ٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

(آبیاری در مقدار تبخیر به میلیمتر از تشتک تبخیر در دو سطح ۴۰ و ۸۰ میلیمتر؛ کود فسفر در سه سطح ۰، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل و قارچ در چهار سطح control، Pi، Th و Pi+Th، بترتیب شامل عدم کاربرد، *پریفورموسپورا*، *تریکودرما* و کاربرد توأم دو قارچ)



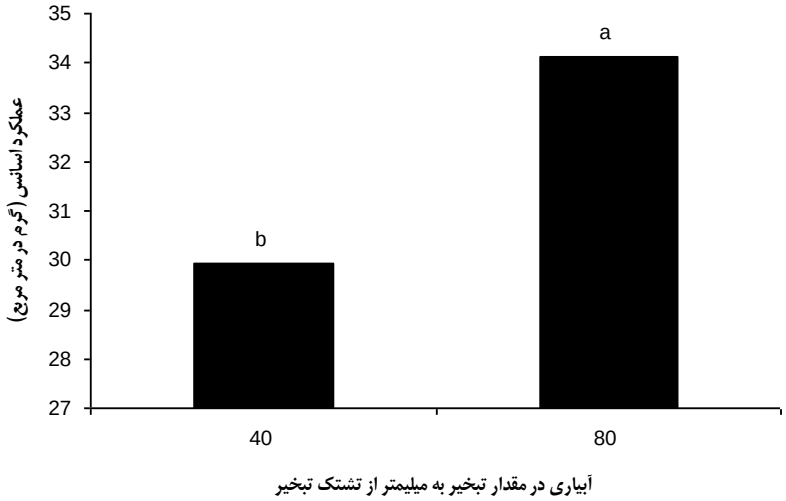
شکل ۳- اثر سطوح آبیاری بر میزان درصد اسانس نعناع فلفلی

ستون‌های دارای حروف مشترک در هر نمودار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ ٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

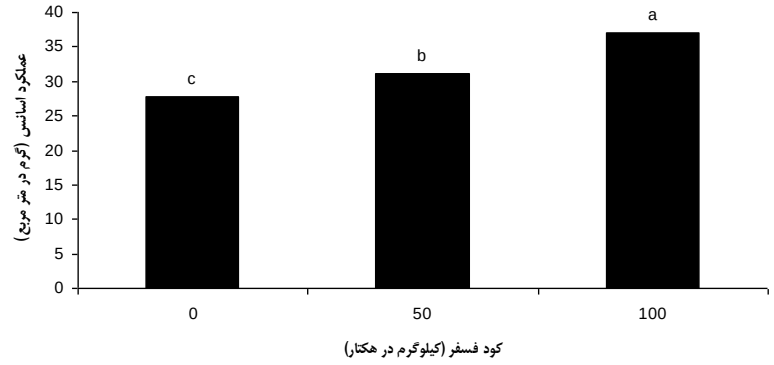
عملکرد اسانس

اثر آبیاری و کود فسفر در سطح احتمال یک درصد و قارچ در سطح احتمال پنج درصد بر عملکرد اسانس معنی‌دار شد، اما اثرات متقابل دوگانه و سه گانه فاکتورهای ذکر شده بر صفت یاد شده تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۳). بیشترین و کمترین میزان عملکرد اسانس در سطوح آبیاری، بترتیب در تیمارهای آبیاری ۸۰ و ٤٠ میلیمتر تبخیر (بترتیب ۳٤/۱۱ و ۲۹/۹٤ گرم بر متر مربع) بدست آمد (شکل ٤(a)). بیشترین و کمترین میزان عملکرد اسانس در سطوح کود فسفر، بترتیب در تیمارهای مصرف ۱۰۰ کیلوگرم و عدم مصرف کود فسفر (بترتیب ۳۷/۰۹ و ۲۷/۸۲ گرم بر متر مربع بدست آمد (شکل ٤(b)). همچنین بیشترین و کمترین میزان عملکرد اسانس در سطوح مصرف قارچ، بترتیب در تیمارهای مصرف توأم قارچ و عدم استفاده از قارچ (بترتیب ۳٤/۱۵ و ۲۹/٤۰ گرم بر متر مربع) مشاهده شد (شکل ٤(c)). با توجه به نتایج آزمایش حاضر می توان گفت علیرغم کاهش وزن خشک نعناع فلفلی، عدم تاثیر پذیری عملکرد اسانس نعناع فلفلی در سطح آبیاری ۸۰ میلیمتر تبخیر ناشی از افزایش درصد اسانس در این سطح آبیاری است. خالوندی و همکاران (۲۰۱۷) نیز بیان نمودند که تلقیح گیاه نعناع فلفلی با قارچ *P. indica* سبب کاهش آثار منفی شوری بر عملکرد اسانس و وزن خشک این گیاه شده است.

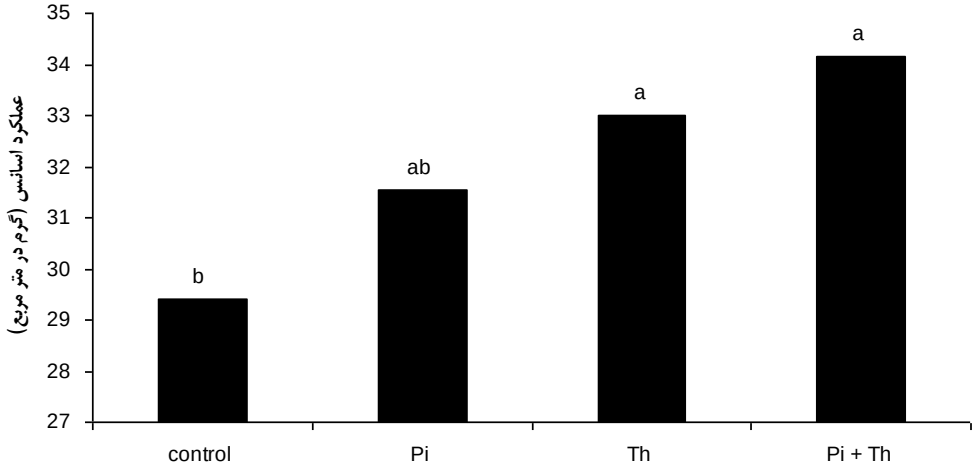
(a)



(b)



(c)



شکل ۴- اثر سطوح آبیاری (a)، کود فسفر (b) و تیمارهای قارچ (c) بر عملکرد اسانس نعناع فلفلی

ستون‌های دارای حروف مشترک در هر نمودار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ ٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

(آبیاری در مقدار تبخیر به میلیمتر از تشتک تبخیر در دو سطح ۴۰ و ۸۰ میلیمتر؛ کود فسفر در سه سطح ۰، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل و قارچ در چهار سطح control، Pi، Th و Pi+Th، بترتیب شامل عدم کاربرد، *پریفورموسپورا*، *تریکودرما* و کاربرد توأم دو قارچ)

نتیجه‌گیری

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که می‌تواند به دلایل مختلفی در گیاهان دیده شود. اثر این تنش در گیاهان مختلف متفاوت است و می‌تواند سبب کاهش رشد اندام‌های هوایی و ریشه و یا افزایش مواد مؤثره در گیاهان شود. یافته‌های این تحقیق حاکی از آن بود که تنش خشکی (آبیاری پس از ۸۰ میلیمتر تبخیر) سبب کاهش تمامی صفات مورفولوژیک مورد مطالعه شده است. هم‌چنین تمامی این صفات در تیمارهای کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم کود فسفر در هکتار و کاربرد توأم دو قارچ دارای بیشترین مقدار خود بودند. در شرایط آبیاری پس از ۸۰ میلیمتر تبخیر، ۱۰۰ کیلوگرم کود فسفر در هکتار و کاربرد منفرد و توأم دو قارچ Pi و Th، بیشترین میزان عملکرد اسانس را تولید کردند.

منابع مورد استفاده

Ahmadian A, Ghanbari A, Galavi M, Siasar B and Arazmjou A, 2010. Effect of irrigation regimes and manure on the nutrient content, chemical composition and essential oil of cumin. Journal of Crop and Weeds Ecophysiology, 16: 83- 94.

Amiri deAhmadi SR, Rezvani Moghadam P and Ehyahi HR, 2012. Effect of drought stress on some morphological indices of three herb medicines in greenhouse conditions. Iranian Journal of Field Crops Research. 10 (1): 116-124.

Biabani A, Kavousi F, Gholizadeh A, Ghollarata M and Doaiy F, 2016. The impact of mycorrhiza inoculation, phosphor application and water salinity on morphological traits and phosphor concentration in alfalfa. 2 (2): 75-88

Bloem E, Haneklaus SM, Paulsen J, Schnug E and Selmar D, 2014. Stress-induced changes of bioactive compounds in *Tropaeolum majus*. Industrial Crops and Products. 60: 349–359.

Dalp Y. 1993. Vesicular Arbuscular Mycorrhiza. Canadian Society of Soil Science, Lewis Pub. pp. 287-301.

Dashti M, Kafi M, Tavakoli H and Mirza M, 2015. Study of some morphological indices of the neovascular medicinal plant under conditions of water deficit stress. Iranian Journal of Agricultural Research. 13 (2): 298-307. (In Persian).

Ebrahimi M, Zamani G and Alizadeh Z, 2016. Qualitative Characteristics and *Calendula officinalis* L. Performance Analysis during Growth Period of this Plant under Drought Stress. Environmental stresses in crop science 10 (2): 293-306.

Ganjali A, Parsa M and Khatib M, 2008. Germination response of chickpea genotypes (*Cicer arietinum*) under the influence of temperature regimes and drought stress. Agricultural Research: Water, Soil and Plant in Agriculture. 8 (1): 77-88.

Ghaderi A, Fakheri B and Mehdi Nejad N, 2015. Effect of different levels of drought stress and jasmonic acid on chlorophyll content, essential oil content and proline volume of Peppermint Medicinal Plant. 1st National Conference on Herbs and Medicine. 28 May. Tehran, Shahid-Beheshti University. (In Persian). https://www.civilica.com/Paper-BPCONF01-BPCONF01_106.html

Ghobadi M, Movahhedi Dehnavi M, Parvizi K, Zafari D and Yadavi A, 2018. Interaction of mycorrhizal inoculation and phosphorus on growth characteristics, production of mini-tuber and nutrients uptake of potato. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 28(1), 97-107. (In Persian).

Gupta ML, Prasad A, Ram M and Kumar S, 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crop of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. Bioresource Technology. 81: 77-9.

Hermosa R, Viterbo A, Chet I and Monte E, 2012. Plant-beneficial effects of Trichoderma and of its genes. Microbiology. 158: 17-25.

Izadi Z, Ahmadvand G, Dushani Ashishi M, Piri Kh and Davoudi P, 2010. Biochemical and antimicrobial activity of essential oils of marmalade and peppermint. Armaghan-e-Danesh. 15(1): 19-29. (In Persian).

Kaefer E, 1977. Meiotic mitotic recombination in *Aspergillus* and its chromosomal aberration. Advances in Genetics. 19: 33-131.

Khalavandi M, Amerian MR, Paradishti H, Baradaran Firouzabadi M and Gholami A, 2017. The effect of *Piriformospora indica* fungus on the amount of essential oil and some physiological traits of peppermint herb in salinity stress. Iranian Plant Biology, 9 (2): 1-20. (In Persian).

Khorasani Nejad S, Hemati H and Soltanlou H, 2015. Effect of salinity stress on growth, quantity and quality of essential oil in Mentha piperita L. peppermint. The first national conference on agricultural science with an emphasis on non-economic stresses, Naghdeh, Payame Noor University of Naghadeh. (In Persian). pp: 1-15. https://www.civilica.com/Paper-NCASPNU01-NCASPNU01_035.html

Khorasani Nejad S, Soltanlou H, Ramezanpour SS, Hadian J and Atashi P, 2016. Effect of drought stress on some morphological characteristics, quantity and essence quality of lavender. Journal of Horticultural Science. 30(2): 209-216.

Leport L, Turner NC, French RJ, Barr MD, Duda R, Davies SL, Tennant D and Siddique KHM, 1999. Physiological responses of chickpea genotypes to terminal drought in a mediterranean-type environment. European Journal of Agronomy, 11: 279-291.

Lotfi M, Abbaszadeh B and Mirza M, 2012. Effect of drought stress on morphological traits, proline, soluble sugars and tarragon yield (*Artemisia dracunculus* L.). Bimonthly Scientific-Research Institute of Iranian Medicinal and Aromatic Plants, 30 (1): 19-29.

Mirashkari M, Ainali A and Valizadeh J, 2017. Physiological and biochemical responses of Sour Tea (*Hibiscus sabdariffa*) to drought stress in the presence of salicylic acid hormone. Iranian Plant Biology, 9 (2): 21-38. (In Persian).

Nasrollahzade Asl V, Yusefi M, Ghosemi A and Bandehhagh A, 2017. Grain yield, yield components and relative water content in Maize (*Zea mays* L.) under water deficit stress and two mycorrhizal fungi. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 27(4): 81-92. (In Persian).

Philips JM and Hayman DS. 1970. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. The British Mycological Society, 55: 158-161.

Rabbani J and Emam Y, 2012. Yield response of maize hybrids to drought stress at different growth stages. Journal of Crop Production and Processing, 1: 65-78.

Salari Mirie F, Alaei H and Mohammadi AS, 2016 Effect of dry and Trichoderma fungi on some growth indices of carvings (*Carum copticum* L.). Third Conference on New Findings in the Environment and Agricultural Ecosystems, Tehran, New Energy and Environment Institute of Tehran University. (In Persian).

Salimi Tamali N, Seraj F, Pirdeshti H and Yaqubian Y, 2014. The Effect of Seed Biopriming with *Piriformospora indica* and *Trichoderma virens* on Growth, Morphological and Physiological Components of Green Mushroom Seedlings (*Vigna radiata* L.). Seed Science and Research, 1(2): 67-78. (In Persian).

Tadayyon A, Soltanian M. 2016. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on root colonization and phosphorus uptake of linseed (*Linum ussitatissimum* L.) under drought stress conditions. Journal of Plant Process and Function, 5 (15) :147-156. (In Persian).