Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Crop Production

Print ISSN: 2008- 739x
Online ISSN: 2008- 7403

Iranian Society of Agronomy and Plant Breeding Sciences

The effect of water deficit, combined application of manure and chemical fertilizer on yield, and some morpho-physiological characteristics of *Arnica montana* L.

Afsaneh Badalzadeh[1], Mohammad Rafieiolhossaini[2*], Hossein Mokhtari Karchegani[3]

[1]MSc Graduated in Agronomy, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, Email: abadalzadeh65@gmail.com
[2]Associate Professor, Department of Agronomy, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, Email: m_rafiee_1999@yahoo.com
[3]PhD Student in Agrotechnology, Weed Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, Email: hossein.mokhtariii@gmail.com

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2021/07/24
Revised: 2021/09/07
Accepted: 2021/10/16

Keywords:
Flavonoid concentration
Irrigation regime
Medicinal plant
Nutrient management
Sustainable agriculture

ABSTRACT

Background and objectives: *Arnica montana* L. is a rare plant under strict protection in several European countries and similar to medicinal plants has high commercial value. Water is one of the environmental factors which has a high impact on the growth and the essential oil content of medicinal plants. Plants are faced with various environmental stresses during their growing period. Each of these stresses has different effects on growth, metabolism, and yield according to the sensitivity level and stage of the plant growth. Management of nutrients consumption along with water consumption management influences the quantitative and qualitative yield of crops and medicinal plants. Manure is one of the organic fertilizer sources whose application in the sustainable management system of soil is conventional. In this regard, organic sources combined with chemical fertilizer can lead to soil fertility and increase crop production, because this system provides most of the plant's nutritional needs and increases the efficiency of nutrient absorption by the crop. This investigation was conducted to The effect of water deficit, combined application of manure and chemical fertilizer on yield, and some morpho-physiological characteristics of *Arnica montana* L.

Materials and Methods: A factorial experiment was carried out in a randomized complete block design with three replications at the research greenhouse, Zist Exsir kemia Company of Esfahan in 2019. The first factor was 5 levels of manure application: 1) no amended fertilizer, 2) 25 percent urea + 75 percent manure 3) 50 percent urea + 50 percent manure 4) 100 percent urea and 5) 100 percent manure, while 4 levels of irrigation regimes: 100 percent, 75 percent, 60 percent and 50 percent of water requirement were used as the second factor. The water need of the other treatments was considered based on the water demand of control with the TDR (Temperature Dependent Resistor) humidity meter. Harvesting of the flowers from each pot was done once a week till the full flowering stage and the number of flowers per plant, dry flower yield, harvest index of the flower, biological yield, proline, electrolyte leakage, stomatal conductance, total chlorophyll, nitrogen uptake efficiency, phenol, and flavonoid content was studied.

Results: The results of the experiment showed that the effect of fertilizer, irrigation regimes, and their interaction was significant on all the characteristics. Means comparison of the interaction effect of fertilizer and

irrigation regimes showed that the maximum number of flowers per plant, dry flower yield, and biological yield in 100 percent manure with 100 percent plant water requirement, the maximum harvest index of flower in control with 75 percent plant water requirement, the maximum electrolyte leakage in 100 percent manure with 60 percent plant water requirement, the maximum stomatal conductance in 100 percent manure with 100 percent plant water requirement, the maximum total chlorophyll in 100 percent urea with 100 percent plant water requirement and the maximum phenol, flavonoid and proline contents were derived in 100 percent urea with 50 percent plant water requirement were obtained.

Conclusion: Based on the results obtained in this experiment, it can be concluded that the 100 percent plant water requirement caused a reduction in proline, electrolyte leakage, phenol and flavonoid content, and improved plant growth condition in most of the fertilizer treatments. Moreover, the application of manure (especially at high stress levels) could reduce the effects of drought stress to some extent. So, according to the findings of this study, in order to obtain the maximum plant yield in similar conditions, the application of 100 percent manure with full irrigation is recommended.

Cite this article: Badalzadeh, A., Rafieiolhossaini, M., Mokhtari Karchegani, H. 2022. The effect of water deficit, combined application of manure and chemical fertilizer on yield, and some morpho-physiological characteristics of *Arnica montana* L. *Crop Production Journal*, 15(3), 79-102.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/EJCP.2022.19273.2440
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تولید گیاهان زراعی
شاپا چاپی: ۷۳۹x-۲۰۰۸
شاپا الکترونیکی: ۷٤۰۳-۲۰۰۸
انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

اثر کم آبیاری، کاربرد تلفیقی کودهای دامی، شیمیایی بر عملکرد و برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی آرنیکا

افسانه بدل‌زاده[۱]، محمدرفیعی الحسینی[۲*]، حسین مختاری کرچگانی[۳]

۱.دانش‌آموخته کارشناسی ارشد در رشته زراعت، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، رایانامه:abadalzadeh65@gmail.com
۲.انشیار، گروه زراعت، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، رایانامه:m_rafiee_1999@yahoo.com
۳.دانشجوی دکتری در رشته آگروتکنولوژی – علوم علف‌های هرز، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران، رایانامه:hossein.mokhtariii@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۰۵/۰۲
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۰/۰٦/۱٦
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۰۷/۲٤

واژه‌های کلیدی:
رژیم آبیاری
غلظت فلاونوئید
کشاورزی پایدار
گیاه دارویی
مدیریت عناصر غذایی

چکیده

سابقه و هدف: آرنیکا با نام علمی (*Arnica montana* L.) گیاهی کم‌یاب است که در چندین کشور اروپایی تحت مراقبت بسیار قرار گرفته و مانند گیاهان دارویی دارای ارزش تجاری بالا می‌باشد. آب یکی از عوامل محیطی است که تأثیر عمده‌ای بر رشد و میزان مواد مؤثره گیاهان دارویی دارد. گیاهان در طی دوران رشد خود با تنش‌های متعدد محیطی مواجه می‌شوند. هر یک از این تنش‌ها می‌توانند بسته به میزان حساسیت و مرحله رشد گونه گیاهی، اثرات متفاوتی بر رشد، متابولیسم و عملکرد آن‌ها داشته باشند. مدیریت مصرف عناصر غذایی نیز از جمله عواملی است که در کنار مدیریت مصرف آب عملکرد کمی و کیفی گیاهان زراعی و دارویی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کود دامی یکی از منابع کود آلی است که استفاده از آن در سیستم مدیریت پایدار خاک مرسوم می‌باشد. در این میان منابع آلی در تلفیق با کودهای شیمیایی می‌توانند به حاصلخیزی خاک و افزایش تولید محصول منجر شوند، زیرا این سیستم اکثر نیازهای غذایی گیاه را تأمین کرده و کارآیی جذب مواد غذایی توسط محصول را نیز افزایش می‌دهد. بنابراین، این مطالعه به منظور بررسی اثر کم آبیاری، کاربرد تلفیقی کودهای دامی، شیمیایی بر عملکرد و برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی آرنیکا طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج سطح کود: ۱) عدم مصرف کود ۲) ۲۵ درصد کود اوره + ۷۵ درصد دامی ۳) ۵۰٪ کود اوره + ۵۰ درصد دامی ٤) ۱۰۰ درصد کود اوره و ۵) ۱۰۰ درصد کود دامی، به عنوان فاکتور اول و چهار سطح رژیم آبیاری: ۱۰۰، ۷۵، ٦۰ و ۵۰ درصد نیاز آبی به عنوان فاکتور دوم با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی شرکت زیست اکسیر کیمیا واقع در شهر اصفهان در سال ۱۳۹۸ انجام شد. نیاز آبی سایر تیمارها نیز براساس نیاز آبی تیمار شاهد به کمک دستگاه رطوبت‌سنج TDR در نظر گرفته شد. برداشت گل از هر گلدان هفته‌ای یک‌بار تا پایان دوره گلدهی انجام و تعداد گل در بوته، عملکرد گل خشک، شاخص برداشت گل، عملکرد بیولوژیک، پرولین، نشت الکترولیت، هدایت روزنه‌ای، کلروفیل کل، کارایی جذب نیتروژن، فنل و فلاونوئید مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج آزمایش نشان داد که اثر کود، رژیم آبیاری و اثر متقابل آن‌ها بر تمام صفات معنی‌دار بود. مقایسات میانگین اثر متقابل کود و رژیم آبیاری نشان داد که بیش‌ترین تعداد گل در بوته، عملکرد گل خشک و عملکرد بیولوژیک در تیمار ۱۰۰ درصد کود دامی + ۱۰۰ درصد نیاز آبی، بیش‌ترین شاخص

برداشت گل در تیمار شاهد + ۷۵ درصد نیاز آبی، بیش‌ترین نشت الکترولیت در تیمار ۱۰۰ درصد کود دامی + ٦۰ درصد نیاز آبی، بیش‌ترین هدایت روزنه‌ای در تیمار ۱۰۰ درصد کود دامی + ۱۰۰ درصد نیاز آبی، بیش‌ترین کلروفیل کل در تیمار ۱۰۰ درصد کود اوره + ۱۰۰ درصد نیاز آبی و بیش‌ترین محتـوای فنل، فلاونوئید و پرولین در تیمار ۱۰۰ درصد کود اوره + ۵۰ درصد نیاز آبی مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج به‌دست آمده در این آزمایش می‌توان بیان کرد که ۱۰۰ درصد نیاز آبی باعث کاهش میزان پرولین، نشت الکترولیت، فنل، فلاونوئید و بهبود شرایط رشد گیاه در اکثر تیمارهای کودی شده است. از طرفی با به کارگیری کود دامی (به‌ویژه در سطوح بالای تنش) می‌توان تا حـدی از بـروز اثرهای سوء تنش خشکی کاست. بنابراین، با توجه به نتایج این آزمایش به منظور دست‌یابی به حـداکثر میزان عملکرد گیاه در شرایط مشابه کاربرد ۱۰۰ درصد کود دامی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی توصیه می‌گردد.

استناد: بدل‌زاده، ا.، رفیعی الحسینی، م.، مختاری کرچگانی، ح. (۱٤۰۱). اثر کم آبیاری، کاربرد تلفیقی کودهای دامی، شیمیایی بر عملکرد و برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی آرنیکا. *مجله تولید گیاهان زراعی*، ۱۵ (۳)، ۱۰۲-۷۹.

DOI: 10.22069/EJCP.2022.19273.2440

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

آرنیکا یا همیشه بهار کوهی با نام علمی (*Arnica montana* L.) از خانواده کاسنی گیاهی بادوام، معطر، علفی و چندساله با ساقه‌های بلند و کرک‌دار است که ارتفاع آن به ۲۰ تا ٦۰ سانتی‌متر می‌رسد. برگ‌های آن بیضی شکل، کرک‌دار و به رنگ سبز روشن است که نزدیک به زمین قرار می‌گیرند. گل‌های آن به رنگ زرد شبیه به گل آفتابگردان، معطر که از خرداد تا شهریور روی گیاه ظاهر می‌شوند. قطر گل ۳ تا ۵ سانتی‌متر است. گل‌های آرنیکا دارای اثرات دارویی است که عمدتاً به دلیل حضور سزکوئی‌ترپن لاکتون‌ها، فلاونوئید و اسیدهای فنولیک در گل‌های انتهایی گزارش شده است (۱). آرنیکا بومی مناطق معتدل و شرایط اسیدی و خاک فقیر را ترجیح می‌دهد، لذا عمدتاً در مراتع، مناطق و محیط‌های کوهستانی یافت می‌گردد (۲).

آب یکی از عوامل محیطی است که تأثیر عمده‌ای بر رشد و میزان مواد مؤثره گیاهان دارویی دارد. گیاهان در طی دوران رشد خود با تنش‌های متعدد محیطی مواجه می‌شوند. خشکی از مهم‌ترین عوامل محیطی کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی، باغی و دارویی به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا است. در طی بروز تنش خشکی گیاهان با ذخیره مواد تنظیم کننده اسمزی همانند اسیدهای آمینه، قندها، برخی از یون‌های معدنی، هورمون‌ها و پروتئین‌ها سعی در مقابله با تنش دارند. در این میان پرولین یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های اسمزی به شمار می‌رود که سبب تنظیم فشار اسمزی و کاهش از دست دادن آب از سلول و نگهداری آماس می‌شود (۳). محققان ضمن بررسی اثر تنش خشکی بر بابونه نشان دادند که میزان ماده تر در سطوح مختلف آبیاری (۹۰، ۷۰ و ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه) معنی‌دار شد (٤). بیش‌ترین و کمترین میزان ماده تر، به ترتیب در تیمارهای ۹۰ و ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه مشاهده گردید. مطالعه روی همیشه بهار نیز نشان داد که تنش خشکی در این گیاه سبب کاهش مقدار سطح برگ، کلروفیل، وزن خشک اندام هوایی و عملکرد می‌گردد، با این حال موجب افزایش مقدار پرولین و قندهای محلول نیز می‌شود (۵). دیگر محققان (٦) اذعان داشتند که تنش خشکی ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای میزان نسبی آب برگ و آب نسبی حفظ شده برگ آویشن را کاهش می‌دهد.

مدیریت مصرف عناصر غذایی نیز از جمله عواملی است که در کنار مدیریت مصرف آب عملکرد کمی و کیفی گیاهان زراعی و دارویی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این میان سیستم‌های تلفیقی و کشاورزی ارگانیک که در آن‌ها به ترتیب تکیه بر کاهش و حذف کاربرد نهاده‌های خارجی از جمله کودهای شیمیایی در مدیریت مصرف غذایی، سموم و ترکیبات شیمیایی جهت کنترل آفات و بیماری‌ها است، به دلیل اثری که بر ارتقای کیفیت گیاهان دارویی و فرآورده‌های آن دارند، از جایگاه ویژه‌ای برخوردارند. کود دامی نیز یکی از منابع کود آلی است که استفاده از آن در سیستم مدیریت پایدار خاک مرسوم می‌باشد. کودهای آلی به‌ویژه کودهای دامی در مقایسه با کودهای شیمیایی دارای مقادیر زیادی مواد آلی هستند و به عنوان منابع غنی از عناصر غذایی به خصوص نیتروژن، فسفر و پتاسیم به شمار می‌روند که این عناصر را به مرور در اختیار گیاهان قرار می‌دهند (۷). نتایج تحقیقات پژوهش‌گران مختلف نشان داد که کاربرد تلفیقی کودهای شیمیایی و دامی باعث افزایش درصد اسانس گیاه رازیانه شد (۸). بررسی تأثیر نظام‌های تغذیه‌ای گیاه بر کیفیت اسانس رازیانه هم بیان‌گر آن بود که بالاترین عملکرد اسانس با استفاده از کودهای شیمیایی، تلفیقی و آلی به‌ترتیب ۲٤، ۲٦، ۳٤ کیلوگرم در هکتار می‌باشد (۹).

از طرفی بررسی‌ها نشان داده‌اند که منابع زیستی (ارگانیک) مانند کود دامی در تلفیق با کود شیمیایی می‌تواند به حاصلخیزی و افزایش تولید محصول منجر شود، زیرا این سیستم اکثر نیازهای غذایی گیاه را تأمین کرده و کارایی جذب مواد غذایی توسط محصول را افزایش خواهد داد. در حال حاضر به منظور توسعه کشاورزی پایدار طی دوره گذار از کشاورزی متداول به کشاورزی پایدار، کاربرد تلفیقی کودهای شیمیایی و آلی به عنوان راهبردی در کشاورزی جایگزین جهت حفظ عملکرد در سطح قابل قبول مطرح است (۵). نتایج تحقیقات پژوهش‌گران مختلف نشان داد که کاربرد تلفیقی کودهای شیمیایی و دامی باعث افزایش درصد اسانس در گیاه رازیانه شد (۱۰). در آزمایشی دیگر نیز گزارش شد که میزان نیتروژن معدنی شده در تمامی سطوح کود تلفیقی به سطوح هم‌ارز آن‌ها از منابع کود اوره و گاوی بر این گیاه بیش تر بود (۱۱). بنابراین، با توجه به نتایج تحقیقات قبلی، این آزمایش به منظور بررسی واکنش گیاه دارویی آرنیکا در شرایط کمبود آب، ارزیابی عملکرد آن تحت این شرایط و واکنش آن به تیمارهای مختلف کودهای دامی و شیمیایی طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در گلخانه تحقیقاتی شرکت زیست اکسیر کیمیا واقع در شهر اصفهان به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سال ۱۳۹۸ با پنج سطح کود: ۱) عدم مصرف کود ۲) ۲۵ درصد کود اوره + ۷۵ درصد کود دامی ۳) ۵۰ درصد کود اوره + ۵۰ درصد کود دامی ٤) ۱۰۰ درصد کود اوره و ۵) ۱۰۰ درصد کود دامی، به‌عنوان فاکتور اول و چهار سطح رژیم آبیاری: ۱۰۰، ۷۵، ٦۰ و ۵۰ درصد نیاز آبی به عنوان فاکتور دوم در سه تکرار انجام شد. مقدار کود دامی مصرف شده در گلدان‌های ۱۰۰ درصد کود دامی ٦۲/۵ گرم بر مترمربع، ۵۰ درصد کود دامی ۳۱/۲۵ گرم بر مترمربع و ۷۵ درصد کود دامی ۲۰/۸۳ گرم بر مترمربع بود. طبق برآوردهای انجام شده نیز درصد آزادسازی نیتروژن کود دامی ۲۵ درصد می‌باشد که در سال اول از طریق محصول از خاک خارج می‌شود (۱۱). قبل از تهیه بستر بذر ابتدا خاک مورد نیاز از گلخانه تحقیقاتی شرکت زیست اکسیر کیمیا انتخاب و از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، از خاک مورد نظر نمونه‌برداری و در آزمایشگاه خاکشناسی مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۱).

میزان عناصر غذایی مورد نیاز نیز با توجه به آزمون خاک و نیاز گیاه آرنیکا همانند همیشه بهار (٤۰ تا ٦۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن، ٦۰ تا ۸۰ کیلوگرم در هکتار اکسید فسفر و ۸۰ تا ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار اکسید پتاسیم (۱۲) تأمین شد. نیتروژن کل خاک و کود دامی به روش کجلدال، فسفر و پتاسیم به ترتیب از روش اولسن و استات آمونیوم نرمال، آهن و روی قابل استفاده با روش DTPA-TEA و درصد کربن آلی نیز به روش والکلی و بلک تعیین شد (۱۳). کود دامی نیز از دامداری تهیه، طبق روش پیشنهادی سرورالدین و همکاران (۱۳) تجزیه و به خاک مورد آزمایش اضافه گردید. جداول ۱ و ۲ به‌ترتیب ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و کود دامی مورد استفاده را نشان می‌دهد.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان در زمان شروع آزمایش.

Table 1- Physical and chemical properties of the soil pot at the start of trial.

خصوصیات خاک (Soil Characters)	عمق خاک Depth soil(cm)	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) EC (dS m^{-1})	اسیدیته pH	کربن آلی (درصد) OC	مواد خنثی شونده (درصد) T.N.V	نیترات(درصد) N	پتاسیم(میلی گرم بر کیلوگرم) K	فسفر(میلی گرم بر کیلوگرم) P	روی(میلی گرم بر کیلوگرم) Zn	منگنز(میلی گرم بر کیلوگرم) Mn	آهن(میلی گرم بر کیلوگرم) Fe	مس(میلی گرم بر کیلوگرم) Cu
				%			mg kg^{-1}					
	0-300	0.746	7.44	0.409	36	0.034	259	12.1	0.53	9.21	3.44	1.11

جدول ۲- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی کود دامی در زمان شروع آزمایش.

Table 2- Physical and chemical properties of manure at the start of trial.

اسیدیته pH	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) EC (dS m^{-1})	نیترات (درصد) N	فسفات (درصد) P_2O_5	پتاسیم(درصد) K_2O	کربن C	کلسیم (درصد) Ca	منیزیم (درصد) Mg	رطوبت (درصد) Moisture	روی(میلی گرم بر کیلوگرم) Zn	آهن(میلی گرم بر کیلوگرم) Fe	منگنز(میلی گرم بر کیلوگرم) Mn	مس(میلی گرم بر کیلوگرم) Cu
		%							mg kg^{-1}			
7.7	10.95	0.38	0.29	1.28	13.34	1.31	0.18	3.81	102	128	96	36

بذر آرنیکا از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و ۱۰ عدد از آن‌ها، در هر یک از گلدان‌هایی که با پنج کیلوگرم خاک مزرعه پر شده بود، کشت شدند. سپس از مرحله چهار برگی اقدام به تنک بوته‌های اضافی گردید، به‌طوری‌که در هر گلدان چهار بوته باقی ماند. میزان رطوبت خاک نیز در طول دوره اعمال تیمارهای تنش در تیمار شاهد (۱۰۰ درصد نیاز آبی) به کمک دستگاه رطوبت‌سنج TDR و سایر تیمارهای تنش با توجه به مقدار آب مصرف شده برای تیمار شاهد، متناسب با سطوح تنش، اعمال گردید. برداشت گل از هر گلدان هفته‌ای یک‌بار تا پایان دوره گلدهی انجام و تعداد گل در بوته، عملکرد گل خشک، شاخص برداشت گل، عملکرد بیولوژیک، پرولین، نشت الکترولیت، هدایت روزنه‌ای، کلروفیل کل، کارایی جذب نیتروژن، فنل و فلاونوئید مورد بررسی قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری تعداد گل در بوته، پس از شروع گلدهی تعداد گل‌ها تا پایان دوره گلدهی شمارش گردید. برداشت گل از هر گلدان هفته‌ای یک‌بار تا پایان دوره گلدهی انجام شد. خشک کردن گل‌ها و سایر اجزای بوته در آون و دمای ثابت ۷۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت انجام و مجموع گل خشک تولیدی طی فصل گلدهی از حاصل جمع وزن خشک گل در طی مراحل برداشت برای هر گلدان به‌دست آمد. گل‌های برداشت شده بعد از توزین، به‌مدت سه هفته در محیط سایه قرار داده شدند تا کاملاً خشک شوند. سپس، گل‌ها با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شده و وزن خشک گل برای هر تکرار در هر تیمار ثبت و عملکرد

گل خشک محاسبه گردید (۱۴). شاخص برداشت گل از رابطه ۱ به دست آمد (۱۵).

رابطه ۱:

شاخص برداشت =۱۰۰× (عملکرد بیولوژیکی/عملکرد اقتصادی)

در پایان دوره رشد گیاه نیز، بوته‌های موجود در هر گلدان برداشت شده و داخل پاکت قرار گرفتند. سپس در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک، با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند و عملکرد بیولوژیک گیاه به‌دست آمد (۱۵). مقدار پرولین نیز مطابق با روش پیشنهادی بتیس و همکاران (۲۰۰۸) اندازه‌گیری شد (۱۶). در نهایت با استفاده از رسم منحنی استاندارد، مقدار پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم محاسبه شد. میزان نشت الکترولیت‌ها از بافت برگ به عنوان شاخصی از میزان پایداری غشای سلولی (CMS) اندازه‌گیری گردید (۱۷). به این صورت که از هر گلدان دو برگ کاملاً توسعه یافته انتخاب و روی یخ به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه اقدام به تهیه ۱۰ دیسک از هر نمونه گردید و سپس دیسک‌ها داخل فالکون‌های ۵۰ میلی‌لیتری به همراه ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد. فالکون‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار داده شدند و پس از آن EC محلول اندازه‌گیری (EC_1) شد. سپس نمونه‌ها به دستگاه اتوکلاو منتقل و پس از بیرون آوردن نمونه‌ها و سرد شدن آن‌ها مجدداً EC نمونه‌ها اندازه گرفته شد (EC_2). در نهایت به منظور تعیین میزان نشت الکترولیت‌ها (EL) از بافت برگ از رابطه ۲ استفاده گردید.

رابطه ۲: $EL = (EC_1/EC_2)*100$

به منظور اندازه‌گیری میزان هدایت روزنه‌ای از دستگاه پرومتر مدل SC-1 و با استفاده از روش فیشر (۱۹۹۸) انجام شد (۱۸). اندازه‌گیری در ساعت ۱۱ صبح و در شدت نور معادل ۱۴۰۰-۱۲۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه ۱۲ ساعت پس از آبیاری و مرحله گلدهی از برگ‌های انتهایی صورت گرفت. جهت ارزیابی غلظت کلروفیل برگ از روش پیشنهادی آرنون (۲۰۰۹) استفاده شد (۱۹). اپتیکال دانسیته عصاره برگ با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت و در نهایت غلظت کلروفیل کل، موجود در برگ با استفاده از رابطه ۳ محاسبه گردید.

رابطه ۳:

$$Chl_T\,(mg\ g^{-1}) = [20.2(OD_{645}) - 8.02(OD_{663})]\ [V/(1000.W)]$$

که در آن، Chl_T میزان کل کلروفیل برگ، OD_{663} و OD_{645} به‌ترتیب اپتیکال دانسیته عصاره در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر، V: حجم نهایی عصاره در استون ۸۰ درصد و W: وزن نمونه بر حسب گرم می‌باشد. کارایی جذب نیتروژن با استفاده از رابطه ۴ محاسبه گردید:

رابطه ۴: $NRE\ (\%) = BNY_f .100 / N_f$

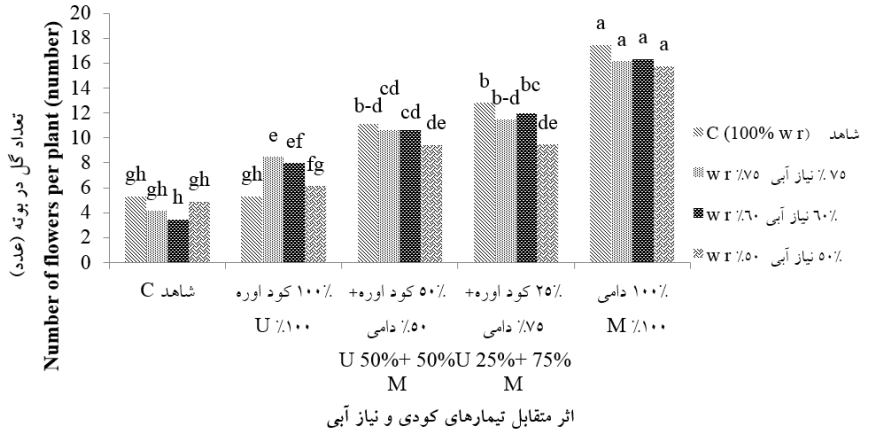
در این رابطه NRE: کارایی جذب یا بازیافت نیتروژن (درصد)، BNY_f: میزان نیتروژن در بیوماس گیاه گلدان کود داده شده (گرم بر مترمربع) و N_f: میزان کود نیتروژن استفاده شده (گرم بر مترمربع) می‌باشد (۳۱). مقدار فنل‌های کل با معرف فولن-سیکالتو تعیین و منحنی استاندارد توسط غلظت‌های مختلفی (۵۰۰-۰ میلی‌گرم بر لیتر) از اسید گالیک در متانول تهیه و منحنی با نرم افزار Excel رسم شد، سپس معادله خط y = bx+a به‌دست آمد. جذب‌های خوانده شده از نمونه‌ها به جای y قرار و x یا همان غلظت محاسبه گردید (۱۷). برای سنجش فلاونوئیدها نیز از روش پیشنهادی کریزیک و همکاران (۲۰۱۰) استفاده گردید (۲۰). در نهایت محاسبات آماری شامل تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C

براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که کود، رژیم آبیاری و اثر متقابل آن‌ها بر تمام صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بود (جداول ۳، ٤ و ٥).

تعداد گل در بوته: مقایسه میانگین اثر متقابل کود و رژیم آبیاری بر تعداد گل در بوته نشان داد که بیش‌ترین تعداد گل به ترتیب در تیمار ۱۰۰ درصد کود دامی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۱۷/۵ عدد و کم‌ترین آن در تیمار شاهد (بدون کود) با ٦۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۳/۵ عدد بود (شکل ۱). در مطالعه دیگر محققان نیز بالاترین تعداد گل در بوته همیشه بهار نیز در تیمار ۱۰۰ درصد کود دامی مشاهده شد (۲۱). آن‌ها اظهار داشتند که کودهای آلی باعث افزایش معنی‌دار مواد آلی خاک می‌شود و این موضوع می‌تواند در طی مواجهه گیاهان با تنش‌های محیطی از جمله خشکی نقش بسیار مهمی در بهبود اجزای عملکرد آن‌ها داشته باشد. همچنین، آن‌ها بیان کردند که تنش خشکی به‌دلیل کاهش آب در خاک و فعال نمودن فرآیندهای مختلف در گیاه که با مصرف انرژی همراه می‌باشد، روی صفات کمی و کیفی گیاه تأثیر می‌گذارد. بنابراین، از آنجایی که گیاه ظرفیت مقصد خود را متناسب با ظرفیت مبدا تنظیم می‌نماید، احتمالاً بر اثر وقوع تنش شدید در مرحله رویشی ظرفیت منبع (رشد رویشی) کاهش یافته و گیاه برای ایجاد تعادل بین مبدا و مقصد تعداد گل‌های تولیدی خود را کاهش می‌دهد.

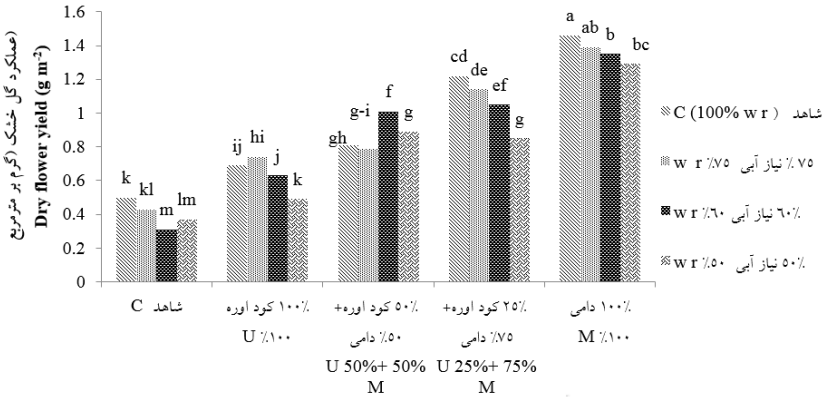


شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مورد بررسی بر تعداد گل در بوته (C: شاهد، U: کود اوره، M: کود دامی، W r: نیاز آبی).
میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Figure 1- Means comparison of the evaluated treatments interaction on the number of flowers per plant (C: Control, U: Urea, M: Manure, W r: Water requirement).
Means having the same letter have no statistically significant difference at 5% level based on LSD test.

عملکرد گل خشک: مقایسه میانگین اثر متقابل کود و رژیم آبیاری بر عملکرد ماده خشک نشان داد که بیش‌ترین عملکرد گل به ترتیب در تیمارهای ۱۰۰ درصد کود دامی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۱/۵ گرم در بوته و کم‌ترین آن در تیمار شاهد (بدون کود) با ٦۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۰/۳ گرم در بوته به‌دست آمد (شکل۲). مطالعه حاضر با تحقیقات روی بابونه آلمانی هم‌سو بود (۲۲). آن‌ها بیان نمودند که افزایش

عملکرد گل در طی استفاده از کودهای دامی در سطح بالای تنش می‌تواند مربوط به تأثیر آن در بهبود خلل و فرج خاک، افزایش عناصر غذایی و فراهم آوردن قابلیت جذب آن‌ها توسط گیاه باشد که کارایی جذب عناصری مانند فسفر که موجب تحریک رشد زایشی می‌شود را افزایش می‌دهد. در واقع کود دامی به علت افزایش نفوذپذیری خاک، افزایش ظرفیت نگهداری آب در خاک، افزایش فعالیت میکروبی و مواد غذایی خاک منجر به افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه و رشد رویشی بیشتر می‌شود. از طرفی کود دامی حاوی عناصر کلسیم، منیزیم، آهن، روی، مس و گوگرد می‌باشد و اضافه کردن کود دامی به زمین باعث افزایش غلظت این عناصر در خاک شده و امکان استفاده از عناصر برای گیاه فراهم می‌گردد. همچنین، تنش خشکی در مرحله رشد رویشی از طریق کاهش شاخص سطح برگ باعث کاهش تولید ماده خشک در گل‌ها و کاهش عملکرد گیاه می‌شود. تحت تأثیر تنش چون تعداد بوته‌ها کاهش می‌یابد و رشد آن‌ها کم می‌شود، وزن خشک گل‌ها در هر بوته نیز کاهش می‌یابد، بنابراین، به نظر می‌رسد که کاهش سطح برگ و انتقال مواد آسیمیلاتی به سمت گل‌ها سبب کاهش وزن آن‌ها شده است (۲۳). نتایج همبستگی صفات مورد بررسی نیز نشان‌دهنده آن است که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عملکرد گل خشک با تعداد گل در بوته (r=۰/۹۵) در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ٦).



اثر متقابل تیمارهای کودی و نیاز آبی

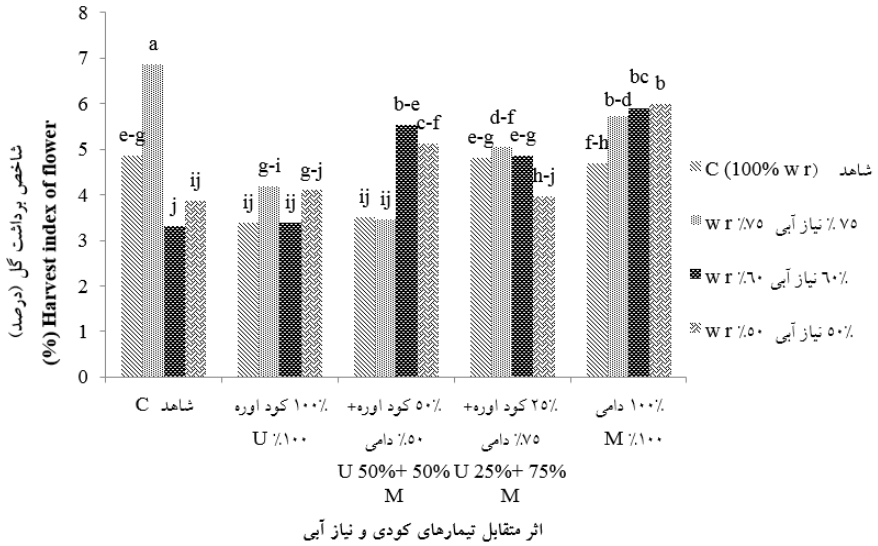
Interaction effect between fertilizer and water requirement treatments

شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مورد بررسی بر عملکرد گل خشک (C: شاهد، U: کود اوره، M: کود دامی، W r: نیاز آبی).
میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Figure 2- Means comparison of the evaluated treatments interaction on the dry flower yield (C: Control, U: Urea, M: Manure, W r: Water requirement).
Means having the same letter have no statistically significant difference at 5% level based on LSD test.

شاخص برداشت گل: مقایسه میانگین اثر متقابل کود و رژیم آبیاری بر شاخص برداشت گل نشان داد که بیش‌ترین تعداد گل به ترتیب در تیمار شاهد (بدون کود) با ۷۵ درصد نیاز آبی به مقدار ٦/۸ درصد و کم‌ترین آن در تیمار شاهد (بدون کود) با ٦۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۳/۳۲ درصد به‌دست آمد (شکل۳). نتیجه مطالعه با تحقیقات روی همیشه بهار هم‌خوانی داشت (۲٤). آن‌ها بیان نمودند که کود نیتروژن تأثیر منفی بر شاخص برداشت گل در شرایط کم آبیاری دارد. همچنین، بیان نمودند که کودهای زیستی به سبب بهبود عملکرد گیاه و کمک به توسعه رشد زایشی نسبت به کودهای شیمیایی که بیش‌تر سبب

بهبود رشد رویشی می‌شود، شاخص برداشت گل را افزایش می‌دهد. نتایج همبستگی صفات مورد بررسی نیز نشان داد که شاخص برداشت گل همبستگی مثبت و معنی‌داری با تعداد گل در بوته (r=۰/۳۵) و عملکرد گل خشک (r=۰/٤۳) در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ٦).



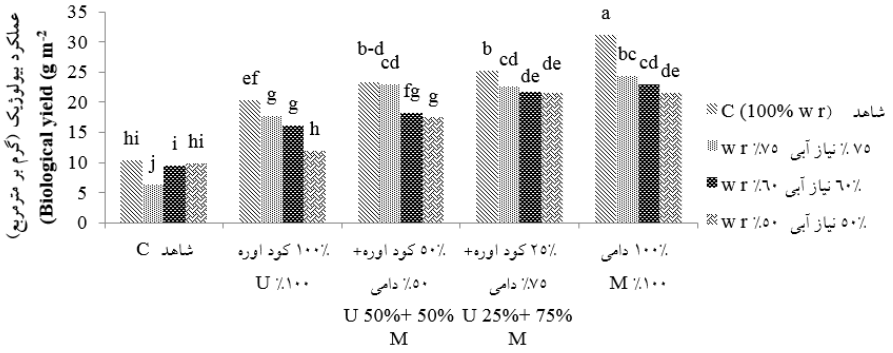
شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مورد بررسی بر شاخص برداشت گل (C: شاهد، U: کود اوره، M: کود دامی، W r: نیاز آبی).
میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Figure 3- Means comparison of the evaluated treatments interaction on the harvest index of flower (C: Control, U: Urea, M: Manure, W r: Water requirement).
Means having the same letter have no statistically significant difference at 5% level based on LSD test.

عملکرد بیولوژیک: مقایسه میانگین اثر متقابل کود و رژیم آبیاری بر عملکرد بیولوژیک نشان داد که بیش‌ترین میزان صفت در تیمار ۱۰۰ درصد کود دامی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۳۲/۲ گرم در مترمربع و کم‌ترین آن در تیمار شاهد (بدون کود) با ۷۵ درصد نیاز آبی به مقدار ٦/۳ گرم در مترمربع به‌دست آمد (شکل٤). در تحقیقی دیگر نیز بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک در تیمار کود دامی روی به لیمو مشاهده شد (۲۵). آن‌ها بیان کردند که استفاده از کود دامی در شرایط کمبود رطوبت موجب نگهداری رطوبت در خاک شده که این عامل موجب رشد بهتر گیاه و در نهایت عملکرد بیش‌تر آن در شرایط تنش می‌شود.

همچنین، کاربرد کود نیتروژن به صورت تلفیقی می‌تواند مقابله با تنش رطوبتی را افزایش داده که این امر به علت نگهداری آب در کود دامی می‌باشد. از نتایج نیز چنین استنباط می‌شود که در صورت وجود کمبود آب، بهتر آن است که حداقل کود نیتروژن مصرف گردد؛ زیرا به علت کمی آب در دسترس، نیتروژن بیش‌تر جذب گیاه نخواهد شد. از طرفی کاهش ارتفاع گیاه دلیلی است بر این‌که تنش خشکی باعث کاهش تقسیمات سلولی گردیده، رشد گیاه را کاهش داده و این امر سبب کاهش مواد فتوسنتزی می‌گردد. در واقع با کاهش مواد فتوسنتزی عملکرد بیولوژیکی نیز کاهش می‌یابد و افزایش ماده خشک تولیدی در گیاهان تحت شرایط آبیاری مطلوب می‌تواند به‌دلیل گسترش بیش‌تر سطح برگ و نیز دوام آن باشد که با ایجاد منبع فیزیولوژیکی کارآمد جهت استفاده هر چه بیش‌تر از نور دریافتی باعث افزایش تولید ماده خشک می‌شود. به عبارت دیگر، افزایش رقابت درون گیاهی و بین گیاهی برای آب و مواد

غذایی، که به وسیله تنش خشکی القا شده بود، باعث گردید که گیاهان نتوانند عملکرد بیولوژیکی حداکثر را تولید نمایند (۲۵). نتایج همبستگی صفات مورد بررسی نیز نشان داد که عملکرد بیولوژیک همبستگی مثبت و معنی‌داری با تعداد گل در بوته (r=۰/۸٤) و عملکرد گل خشک (r=۰/۸٦) در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ٦).



اثر متقابل تیمارهای کودی و نیاز آبی

Interaction effect between fertilizer and water requirement treatments

شکل ٤- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مورد بررسی بر عملکرد بیولوژیک (C: شاهد، U: کود اوره، M: کود دامی، W r: نیاز آبی).
میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Figure 4- Means comparison of the evaluated treatments interaction on the biological yield (C: Control, U: Urea, M: Manure, W r: Water requirement).
Means having the same letter have no statistically significant difference at 5% level based on LSD test.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد بررسی بر تعداد گل در بوته، عملکرد گل خشک، شاخص برداشت و عملکرد بیولوژیک آرنیکا.

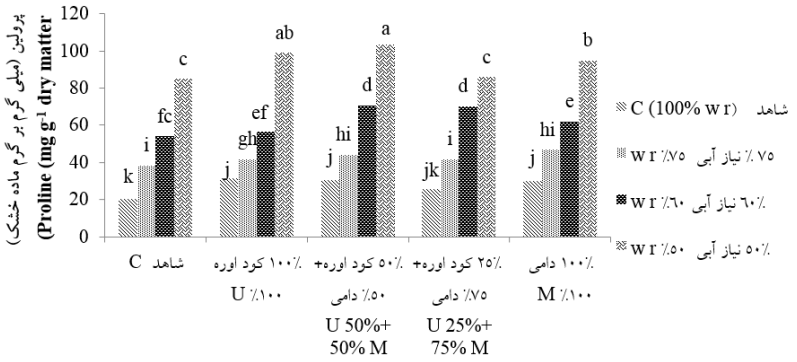
Table 3- Results of variance analysis of the effect of evaluated treatments on number of flowers per plant, dry flower yield, harvest index of flower and biological yield of *Arnica monata* L.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (Mean Square)			
		تعداد گل در بوته Number of flowers per plant	عملکرد گل خشک Dry flower yield	شاخص برداشت گل Harvest index of flower	عملکرد بیولوژیک Biological yield
بلوک (Block)	2	0.85 ^{ns}	0.008 ^{ns}	0.22 ^{ns}	0.79 ^{ns}
کود (Fertilizer)	4	250.38**	1.69**	4.46**	474.28**
رژیم آبیاری (Irrigation regime)	3	4.65*	0.06**	1.63**	87.43 **
اثر متقابل کود× رژیم آبیاری (Fertilizer × Irrigation regime)	12	3.3*	0.02**	2.8**	13.09**
خطا (Error)	38	1.53	0.004	0.23	1.74
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	12.44	7.59	10.5	7.03

^{ns}، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

$^{ns, *, **}$: shows non-significant, significant at 5 and 1 percent level of probability, respectively.

پرولین: مقایسه میانگین اثر متقابل کود و رژیم آبیاری بر پرولین نشان داد که بیشترین میزان صفت در تیمار ۵۰ درصد کود اوره + ۵۰ درصد کود دامی با ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه به مقدار ۱۰۳/٤ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و کم‌ترین آن در تیمار شاهد (بدون کود) با ۱۰۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۲۰/٤ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک به دست آمد (شکل ۵). مطالعه دیگر محققان بر روی بادرشبو نیز حاکی از این بود که پرولین در تیمار تلفیقی کود دامی و اوره بیش‌ترین مقدار را نشان داد (۲٦). بدل زاده و همکاران (۱۳۹٦) علت این امر را در رابطه با تعادل بین منبع و مخزن در شرایط تنش خشکی عنوان کردند. به این صورت که در شرایط تنش به علت پایین آمدن میزان پروتئین و تمایل گیاه برای افزایش میزان پرولین و به دنبال آن نیاز به دریافت جذب نیتروژن سریع، گیاه با شرایط سازگار می‌شود. همچنین، در شرایط تنش خشکی، گیاه برای تجمع پرولین و سایر اسید آمینه‌ها در تنظیم اسمزی نیاز به نیتروژن بیش‌تری داشته که علت این موضوع را تحریک فعالیت آنزیم بیوسنتزی پرولین و مهار آنزیم کاتابولیکی (پرولین دهیدروژناز) عنوان کرده‌اند. همچنین، بیان نمودند که تنش خشکی سبب افزایش نسخه‌برداری mRNA ژن کنترل‌کننده آنزیم‌های مسیر بیوسنتز و در نهایت افزایش میزان پرولین می‌شود. از طرفی بیان کردند که عمده ترکیبات تشکیل دهنده پرولین و کربوهیدرات‌ها دارای ساختار نیتروژنی هستند، از این‌رو، استفاده از نیتروژن می‌تواند تا حد زیادی باعث افزایش مقدار آن‌ها در گیاه شود. در واقع کود شیمیایی به دلیل پویایی عناصری مانند نیتروژن در آن‌ها، می‌تواند به آسانی نیتروژن و سایر عناصر لازم را در اختیار گیاهان قرار دهد (۲٦).



اثر متقابل تیمارهای کودی و نیاز آبی

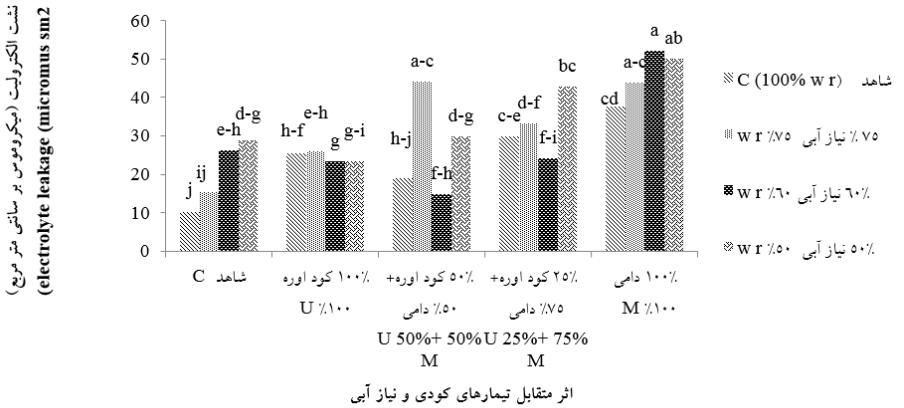
Interaction effect between fertilizer and water requirement treatments

شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مورد بررسی بر پرولین (C: شاهد، U: کود اوره، M: کود دامی، W r: نیاز آبی).
میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Figure 5- Means comparison of the evaluated treatments interaction on the proline (C: Control, U: Urea, M: Manure, W r: Water requirement).
Means having the same letter have no statistically significant difference at 5% level based on LSD test.

نشت الکترولیت: مقایسه میانگین اثر متقابل کود و رژیم آبیاری بر نشت الکترولیت نشان داد که بیش‌ترین میزان صفت در تیمار ۱۰۰ درصد کود دامی با ٦۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۵۲/۲ میکروموس بر سانتی‌متر و کم‌ترین آن در تیمار شاهد (بدون کود) با ۱۰۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۱۰/۳ میکروموس بر سانتی‌متر مشاهده شد (شکل ٦). نتیجه حاصل از این پژوهش با تحقیقات محققی دیگر روی مریم گلی سهندی هم‌خوانی داشت (۲۷). به شکلی که در شرایط عدم تنش، گیاه صرف انرژی اساسی را در

جهت توسعه گسترش خود قرار می‌دهد، اما در شرایط تنش خشکی بخش عمده‌ای از مصرف انرژی برای مقابله با تنش از طریق مقاوم سازی دیواره و غشای سلولی صورت پذیرفت. همچنین، دریافتند که با افزایش شدت تنش، از مقدار متوسط به شدید، میزان هدایت‌الکتریکی کاهش یافت، که می‌توان استنباط نمود که گیاه هنگام مواجه شدن با تنش خشکی، با افزایش پایداری غشای سلولی می‌تواند تحمل به خشکی را افزایش دهد. همچنین، این محققان علت تخریب دیواره سلولی را چنین بیان کردند که، در شرایط کمبود آب در گیاه بسته شدن روزنه‌ها باعث کاهش تثبیت دی اکسید کربن خواهد شد، در حالی که واکنش‌های نوری و انتقال الکترون در مقادیر طبیعی صورت خواهد گرفت. تحت چنین شرایطی، مقدار محدودی NADP برای پذیرش الکترون وجود خواهد داشت. بنابراین اکسیژن می‌تواند به‌عنوان یک گیرنده الکترون جایگزین عمل کند و این امر منجر به تجمع گونه‌های سمی اکسیژن نظیر رادیکال‌های سوپر اکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال‌های هیدورکسیل می‌گردد (۲۷). نتایج همبستگی صفات مورد بررسی نیز نشان داد که نشت الکترولیت به‌ترتیب همبستگی مثبت و معنی‌داری با تعداد گل در بوته (r=۰/٦٤)، عملکرد گل خشک (r=۰/٦۲) و عملکرد بیولوژیک (r=۰/٥٦) در سطح احتمال یک درصد و همبستگی مثبت و معنی‌داری با پرولین (r=۰/۲٥) در سطح احتمال پنج درصد داشت (جدول ٦).

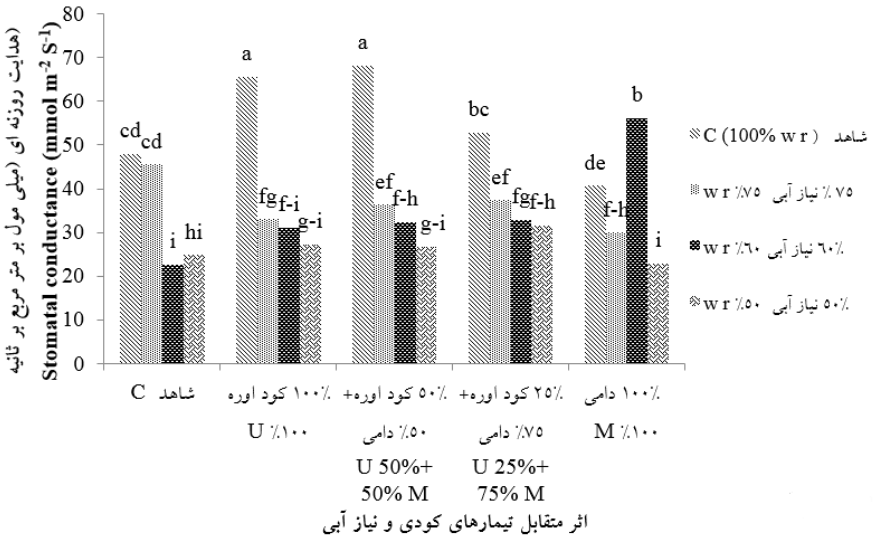


شکل ٦- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مورد بررسی بر میزان نشت الکترولیت (C: شاهد، U: کود اوره، M: کود دامی، W r: نیاز آبی).
میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Figure 6- Means comparison of the evaluated treatments interaction on the electrolyte leakage (C: Control, U: Urea, M: Manure, W r: Water requirement).
Means having the same letter have no statistically significant difference at 5% level based on LSD test.

هدایت روزنه‌ای: مقایسه میانگین اثر متقابل کود و رژیم آبیاری بر هدایت روزنه‌ای نشان داد که بیش‌ترین میزان صفت در تیمار ۱۰۰ درصد کود اوره با ۱۰۰ درصد نیاز آبی و تیمار ۵۰ درصد کود اوره + ۵۰ درصد کود دامی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی به‌ترتیب به مقدار ٦۵/٦ و ٦۸/۲ میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه و کم‌ترین آن در تیمار شاهد (بدون کود) با ۷۵ درصد نیاز آبی و ۱۰۰ درصد کود دامی با ۵۰ درصد نیاز آبی به ترتیب به مقدار ۲۲/۷ و ۲۲/۹ میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه به دست آمد (شکل ۷). محققی دیگر نیز روی

مریم گلی سهندی همین نتیجه را گزارش نمود (۲۷). در این پژوهش که روند تأثیر افزایش کاربرد نیتروژن بر میزان هدایت روزنه‌ای در سطوح مختلف آبیاری تا حدود زیادی با تأثیر آن بر میزان فتوسنتز خالص هم‌سو بود. این هم‌سویی می‌تواند نشان‌دهنده آن باشد که تنش کمبود آب به ویژه در سطح آبیاری با تأثیر بر قطر دهانه روزنه سبب کاهش دسترسی سلول‌های فتوسنتز کننده به دی اکسید کربن و به دنبال آن کاهش میزان فتوسنتز می‌شود. بروز اثر منفی ازدیاد نیتروژن به میزان فتوسنتز در سطوح آبیاری پایین ممکن است به تشدید رشد رویشی و تسریع در بروز کمبود آب برگردد. همچنین در شرایط تنش، چون گیاه مجبور به حفظ آب خود می‌باشد، بنابراین، هدایت روزنه‌ای کاهش می‌یابد. زیرا با توجه به افزایش هورمون اسید آبسیزیک در شرایط تنش گیاهی و با علم به این‌که این هورمون، اثر بازدارندگی دارد و مهم‌ترین وظیفه آن القای بسته شدن روزنه‌هاست، پس کاهش هدایت روزنه‌ای را در شرایط خشکی به دنبال دارد. نتایج همبستگی صفات مورد بررسی نیز نشان داد که هدایت روزنه‌ای همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد بیولوژیک (r=۰/۲٦) در سطح احتمال پنج درصد و همبستگی منفی و معنی‌داری با پرولین (r=-۰/٦٤) در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ٦). نتایج مطالعه روی بادرشبو نیز نشان داد که پرولین همبستگی معنی‌داری با هدایت روزنه‌ای داشت (۲٦).



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مورد بررسی بر هدایت روزنه‌ای (C: شاهد، U: کود اوره، M: کود دامی، W r: نیاز آبی).
میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Figure 7- Means comparison of the evaluated treatments interaction on the stomatal conductance (C: Control, U: Urea, M: Manure, W r: Water requirement).
Means having the same letter have no statistically significant difference at 5% level based on LSD test.

جدول ٤- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد بررسی بر پرولین، نشت الکترولیت و هدایت روزنه‌ای آرنیکا.

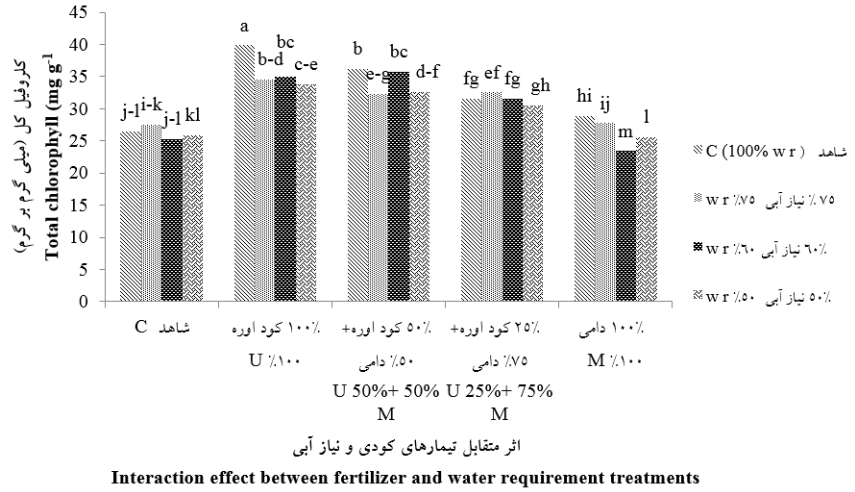
Table 4- Results of variance analysis of the effect of evaluated treatments on proline, electrolyte leakage and stomatal conductance of *Arnica montana* L.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (Mean Square)		
		پرولین Proline	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance
بلوک (Block)	2	5.96 ns	2.74 ns	13.56 ns
کود (Fertilizer)	4	271**	1184.38**	52.03 ns
رژیم آبیاری (Irrigation regime)	3	12067.14**	246.2**	2164.28**
اثر متقابل کود× رژیم آبیاری (Fertilizer × Irrigation regime)	12	68.29**	159.91**	321.85**
خطا (Error)	38	16.61	30.63	21.34
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	7.16	17.95	12.07

ns ، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns, *,**: shows non-significant, significant at 5 and 1 percent level of probability, respectively.

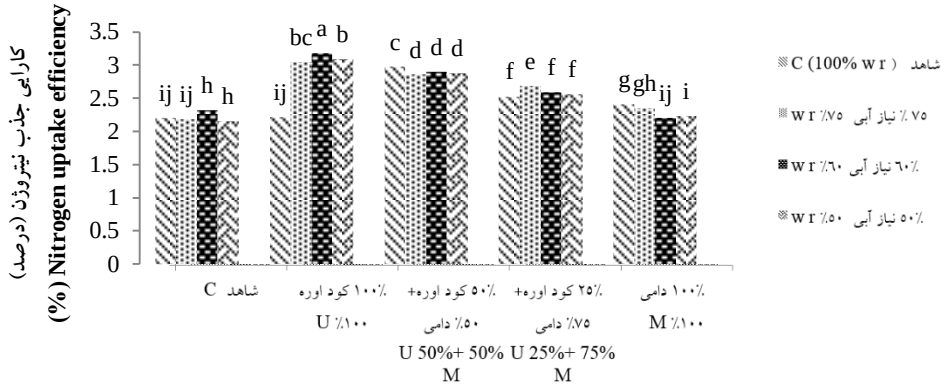
کلروفیل کل: مقایسه میانگین اثر متقابل کود و رژیم آبیاری بر کلروفیل کل برگ نشان داد که بیش‌ترین میزان صفت در تیمار ۱۰۰ درصد کود اوره با ۱۰۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۳۹/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و کم‌ترین آن در تیمار شاهد (بدون کود) با ٦۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۲۳/٤ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک به‌دست آمد (شکل ۸). تحقیقات محققان روی زیره سبز نیز چنین نتایجی را نشان داد (۲۸). آن‌ها علت کاهش مقادیر کلروفیل برگ در شرایط عدم استفاده از نیتروژن در گیاه، را به‌دلیل کاهش رشد گیاه و پیری زودرس برگ‌ها دانستند. همچنین، شرایط تنش خشکی در این گیاه می‌تواند در اثر تخریب کلروپلاست توسط گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد شده باشد. از طرفی کاهش در میزان آسیمیلاسیون گاز کربنیک به هنگام تنش شدید می‌تواند به دلیل کاهش مقدار کلروفیل، میزان آنزیم روبیسکو و انتقال ضعیف الکترون فتوسنتزی باشد. در واقع کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش مربوط به افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن در سلول است که این ماده سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه رنگیزه در برگ می‌شوند (۲۸). نتایج همبستگی صفات مورد بررسی نیز نشان داد که کلروفیل کل به ترتیب همبستگی منفی و معنی‌داری با شاخص برداشت گل (r=-۰/٤۰) در سطح احتمال یک درصد، همبستگی منفی و معنی‌داری با نشت الکترولیت (r=-۰/۳۵) در سطح احتمال پنج درصد و همبستگی مثبت و معنی‌داری با هدایت روزنه‌ای (r=۰/۲۵) در سطح احتمال پنج درصد داشت (جدول ٦).



شکل ٨- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مورد بررسی بر میزان کلروفیل کل (C: شاهد، U: کود اوره، M: کود دامی، W r: نیاز آبی).
میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ٥ درصد می‌باشند.

Figure 8- Means comparison of the evaluated treatments interaction on the total chlorophyll content (C: Control, U: Urea, M: Manure, W r: Water requirement).
Means having the same letter have no statistically significant difference at 5% level based on LSD test.

کارایی جذب نیتروژن: مقایسه میانگین اثر متقابل کود و رژیم آبیاری بر کارایی جذب نیتروژن نشان داد که بیش‌ترین میزان صفت در تیمار ١٠٠ درصد کود اوره با ٧٥ درصد نیاز آبی به مقدار ٣/٢ درصد و کم‌ترین آن در تیمار شاهد (بدون کود) با ٥٠ درصد نیاز آبی به مقدار ٢/٢ درصد به‌دست آمد (شکل ٩). نتیجه حاصل از آزمایش با پژوهش انجام شده روی ذرت شیرین هم‌خوانی دارد (٢٩). آن‌ها بیان نمودند که در شرایط تنش خشکی به دلیل دنیتریفیکاسیون و انتشار گازی کارایی جذب نیتروژن کاهش می‌یابد. همچنین، آن‌ها محدودیت در توسعه ماده خشک را علت کاهش کارایی جذب نیتروژن در شرایط کم آبی گزارش کردند. از طرفی با مصرف کود در اثر تجزیه تدریجی، نیتروژن معدنی شده افزایش می‌یابد. در نتیجه نیتروژن برای گیاه قابل دسترس می‌باشد و احتمالاً آزاد سازی تدریجی این عنصر، منجر به غلظت کم‌تر آن در مقایسه با کود اوره شده است. نتایج همبستگی صفات مورد مطالعه نیز نشان داد که کارایی جذب نیتروژن به ترتیب همبستگی منفی و معنی‌داری با شاخص برداشت گل (r=-٠/٤٦) در سطح احتمال یک درصد، همبستگی منفی و معنی‌داری با نشت الکترولیت (r=-٠/٢٢) در سطح احتمال پنج درصد و همبستگی مثبت و معنی‌داری با کلروفیل کل (r=٠/٩١) در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ٦).



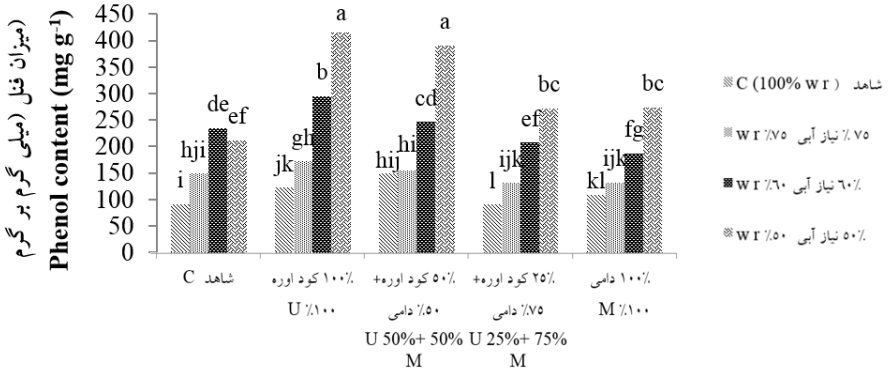
اثر متقابل تیمارهای کودی و نیاز آبی

Interaction effect between fertilizer and water requirement treatments

شکل ۹- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مورد بررسی بر میزان کارایی جذب نیتروژن (C: شاهد، U: کود اوره، M: کود دامی، W r: نیاز آبی).
میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Figure 9- Means comparison of the evaluated treatments interaction on the nitrogen uptake efficiency (C: Control, U: Urea, M: Manure, W r: Water requirement).
Means having the same letter have no statistically significant difference at 5% level based on LSD test.

فنل: مقایسه میانگین اثر متقابل کود و رژیم آبیاری بر فنل نشان داد که بیش‌ترین میزان صفت در تیمار ۱۰۰ درصد کود اوره با ۵۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۴۱۵/۷ میلی‌گرم بر گرم و کم‌ترین آن در تیمار ۲۵ درصد کود اوره + ۷۵ درصد کود دامی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۹۰ میلی‌گرم بر گرم به‌دست آمد (شکل ۱۰). پژوهش انجام شده روی کاسنی نیز چنین نتیجه‌ای را نشان داد (۳۰). در کاسنی کودهای زیستی علاوه بر افزایش جذب عناصر غذایی در گیاه، با بیوسنتز هورمون‌های گیاهی، کنترل پاتوژن‌های گیاهی و همچنین برخی مکانیسم‌های دیگر سبب بهبود رشد و عملکرد گیاه شدند. همچنین، افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان تحت شرایط خشکی بخشی از مکانیسم تعدیل فشار اسمزی باشد. نقش دیگری که برای متابولیت‌های ثانویه گیاهان تعریف شده، نقش دفاعی این ترکیبات است. حضور مقادیر بالای این ترکیبات تحت شرایط تنش ممکن است یک انتخاب طبیعی به منظور افزایش مقاومت به آفات و بیماری‌ها باشد. از طرفی، ارزش غذایی گیاهان برای حشرات افزایش یافته و تحت شرایط خشکی و کمبود مواد غذایی، قابلیت گیاهان برای آلودگی‌های قارچی افزایش و در نتیجه گیاهان با تولید متابولیت‌های ثانویه خود را از این حملات محافظت می‌نمایند (۳۰). نتایج همبستگی صفات مورد بررسی نیز مؤید این مطلب بود که فنل همبستگی منفی و معنی‌داری با عملکرد گل خشک (r=-۰/۲۳) و عملکرد بیولوژیک (r=-۰/۳۱) در سطح احتمال پنج درصد، همبستگی منفی و معنی‌داری با هدایت روزنه‌ای (r=-۰/۵۶) در سطح احتمال یک درصد، همبستگی مثبت و معنی‌داری با پرولین (r=۰/۸۶) در سطح احتمال یک درصد و همبستگی مثبت و معنی‌داری با کارایی جذب نیتروژن (r=۰/۲۹) در سطح احتمال پنج درصد داشت (جدول ۶).



اثر متقابل تیمارهای کودی و نیاز آبی

Interaction effect between fertilizer and water requirement treatments

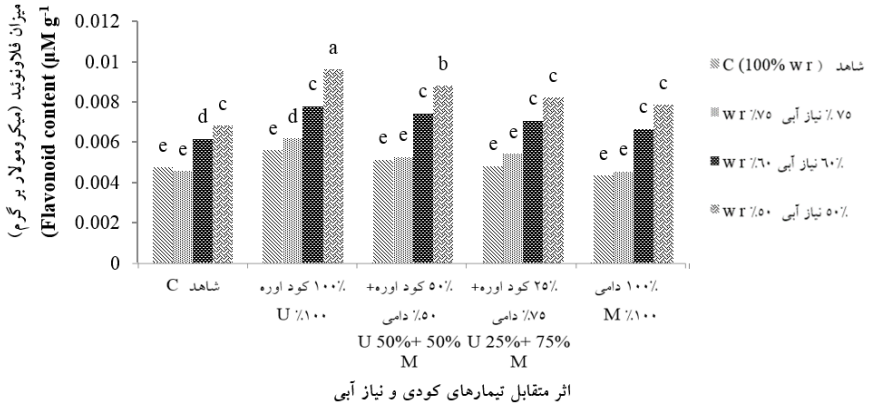
شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مورد بررسی بر میزان فنل (C: شاهد، U: کود اوره، M: کود دامی، W r: نیاز آبی).

میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Figure 10- Means comparison of the evaluated treatments interaction on the phenol content (C: Control, U: Urea, M: Manure, W r: Water requirement).

Means having the same letter have no statistically significant difference at 5% level based on LSD test.

فلاونوئید: مقایسه میانگین اثر متقابل کود و رژیم آبیاری نیز بر فلاونوئید نشان داد که بیش‌ترین میزان صفت در تیمار ۱۰۰ درصد کود اوره با ۵۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۰/۰۰۹۶ میکرومولار بر گرم و کم‌ترین آن در تیمار ۱۰۰ درصد کود اوره با ۱۰۰ درصد نیاز آبی به مقدار ۰/۰۰۴۳ میکرومولار بر گرم به‌دست آمد (شکل ۱۱). پژوهش‌های دیگر نیز روی کاسنی نشان داد که بیش‌ترین مقدار فلاونوئید در تیمار کود اوره مشاهده شده است (۳۰). آن‌ها بیان کردند که فلاونوئیدها از جمله متابولیت‌های ثانویه هستند که مسیر بیوسنتزی و مقدار آن‌ها تحت تأثیر شرایط محیطی و عناصر غذایی به‌خصوص نیتروژن قرار می‌گیرد؛ به‌طوری‌که این میزان در برخورد با دماهای بالا و کاهش دسترسی به عناصر غذایی افزایش و همچنین، در اثر تحت تأثیر قرار دادن گیاه در تنش خشکی مقدار فلاونوئید آن به عنوان متابولیت ثانویه افزایش یافت (۳۰). از طرفی، فلاونوئیدها به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی خود به‌طور مستقیم با وارد شدن در واکنش‌های احیایی و به‌طور غیرمستقیم به وسیله شلاته کردن آهن مانع تنش اکسیداتیو می‌شوند و مانند بسیاری دیگر از پلی‌فنل‌های جمع‌کننده رادیکال‌های آزاد هستند، زیرا به عنوان گروه‌های قوی الکترون دهنده و پروتون دهنده عمل می‌کنند. در واقع فلاونوئیدها با شناسایی تعداد و موقعیت گروه‌های OH فنلی حاضر، کار پاکسازی رادیکالی را انجام می‌دهند و این در شرایط تنش می‌تواند به گیاه کمک نماید (۳۱). نتایج همبستگی صفات مورد مطالعه نیز نشان داد که فلاونوئید به ترتیب همبستگی منفی و معنی‌داری با عملکرد بیولوژیک (r=-۰/۲۲) در سطح احتمال پنج درصد، همبستگی منفی و معنی‌داری با هدایت روزنه‌ای (r=-۰/۵۰) در سطح احتمال یک درصد، همبستگی مثبت و معنی‌داری با پرولین (r=۰/۸۸) و فنل (r=۰/۹۳) در سطح احتمال یک درصد و همبستگی مثبت و معنی‌داری با کارایی جذب نیتروژن (r=۰/۳۱) در سطح احتمال پنج درصد داشت (جدول ٦).



شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مورد بررسی بر میزان فلاونوئید (C: شاهد، U: کود اوره، M: کود دامی، W r: نیاز آبی).
میانگین‌های دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Figure 11- Means comparison of the evaluated treatments interaction on the flavonoid content (C: Control, U: Urea, M: Manure, W r: Water requirement).
Means having the same letter have no statistically significant difference at 5% level based on LSD test.

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد بررسی بر کلروفیل کل، کارایی جذب نیتروژن، فنل و فلاونوئید آرنیکا.

Table 5- Results of variance analysis of the effect of evaluated treatments on total chlorophyll, nitrogen uptake efficiency, phenol and flavonoid contents of *Arnica montana* L.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (Mean Square)			
		کلروفیل کل Total chlorophyll	کارایی جذب نیتروژن Nitrogen uptake efficiency	فنل Phenol	فلاونوئید Flavonoid
بلوک (Block)	2	0.88 ^{ns}	0.009 ^{ns}	780.56 ^{ns}	0.00000027 ^{ns}
کود (Fertilizer)	4	233.51**	76.80**	17677.24**	0.0000055**
رژیم آبیاری (Irrigation regime)	3	23**	0.05**	121131.06**	0.000037**
اثر متقابل کود× رژیم آبیاری (Fertilizer× Irrigation regime)	12	8.25**	0.05**	4234.29**	0.0000003**
خطا (Error)	38	1.32	0.007	286.88	0.00000008
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	3.72	2	8.3	4.44

^{ns} ، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

$^{ns, *,**}$: shows non-significant, significant at 5 and 1 percent level of probability, respectively.

جدول ٦- ضرایب همبستگی خطی (r) صفات مورد مطالعه، تحت تأثیر تیمارهای مورد بررسی.

Table 6- Correlation coefficients of the studied traits under the effect of evaluated treatments.

صفات Traits	تعداد گل در بوته Number of flowers per plant	عملکرد گل خشک Dry flower yield	شاخص برداشت گل Harvest index of flower	عملکرد بیولوژیک Biological yield	پرولین Proline	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance	کلروفیل کل Total chlorophyll	کارایی جذب نیتروژن Nitrogen uptake efficiency	فنل Phenol	فلاونوئید Flavonoid
تعداد گل در بوته Number of flowers per plant	1										
عملکرد گل خشک Dry flower yield	0.95**	1									
شاخص برداشت گل Harvest index of flower	0.35**	0.43**	1								
عملکرد بیولوژیک Biological yield	0.84**	0.86**	-0.03 ns	1							
پرولین Proline	-0.02 ns	-0.06 ns	0.07 ns	-0.20 ns	1						
نشت الکترولیت Electrolyte leakage	0.64**	0.62**	0.16 ns	0.56**	0.25*	1					
هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance	0.08 ns	0.11 ns	-0.05 ns	0.26*	-0.64**	-0.15 ns	1				
کلروفیل کل Total chlorophyll	-0.17 ns	-0.11 ns	-0.40**	0.16 ns	-0.10 ns	-0.35*	0.25*	1			
کارایی جذب نیتروژن Nitrogen uptake efficiency	-0.17 ns	-0.14 ns	-0.46**	0.13 ns	0.04 ns	-0.22*	0.13 ns	0.91**	1		
فنل Phenol	-0.18 ns	*-0.23	-0.04 ns	-0.31 *	0.86 **	0.01 ns	-0.56**	0.10ns	0.29*	1	
فلاونوئید Flavonoid	-0.13 ns	-0.17 ns	-0.08 ns	-0.22*	0.88 **	0.08 ns	-0.50**	0.13 ns	0.31*	0.93**	1

ns ، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns, *,**: shows non-significant, significant at 5 and 1 percent level of probability, respectively.

نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج به‌دست آمده در این آزمایش می‌توان بیان کرد که ۱۰۰ درصد نیاز آبی باعث کاهش میزان پرولین، نشت الکترولیت، فنل و فلاونوئید شد که شاید به دلیل افزایش میزان پروتئین و تغییر در میزان آنزیم‌ها و هورمون‌های گیاهی بوته در شرایط تنش و بهبود شرایط رشد گیاه در اکثر تیمارهای کودی (۵۰ درصد کود اوره + ۵۰ درصد کود دامی، ۱۰۰ درصد کود دامی و ۱۰۰ درصد کود اوره) باشد. از طرفی با به کارگیری کود دامی (به‌ویژه در سطوح بالای تنش (۵۰ درصد نیاز آبی) می‌توان تا حدی از بروز اثرهای سوء تنش خشکی کاست. زیرا کودهای آلی سبب کاهش وزن مخصوص ظاهری و افزایش نگه‌داری آب در خاک می‌شوند. کود دامی یکی از منابع کود آلی است که استفاده از آن در سیستم مدیریت پایدار خاک مرسوم می‌باشد. کودهای آلی به‌ویژه کودهای دامی در مقایسه با کودهای شیمیایی دارای مقادیر زیادی مواد آلی هستند و به‌عنوان منابع غنی از عناصر غذایی به‌خصوص نیتروژن، فسفر و پتاسیم به‌شمار می‌روند که این عناصر را به مرور در اختیار گیاهان قرار می‌دهند. بنابراین، با توجه به نتایج این آزمایش به منظور دست‌یابی به حداکثر میزان عملکرد گیاه در شرایط مشابه کاربرد ۱۰۰ درصد کود دامی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مساعدت‌های شرکت زیست اکسیر کیمیا جهت همکاری در اجرای این پروژه تقدیر و تشکر می‌نماییم.

References

1. Sugier, D. 2015. Yield and chemical composition of mountains arnica (*Arnica montana* L.) raw material in relation to the method of plantation establishment and the harvesting time of flower heads. Ann UMCS Agric. 68: 3. 51-62.
2. Kowalski, R., Sugier, D., Sugier, P. and Kołodziej, B. 2015. Evaluation of the chemical composition of essential oils with respect to the maturity of flower heads of *Arnica montana* L. and *Arnica chamissonis* Less. cultivated for industry. Ind Crops Prod. 76: 857-865.
3. Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. and Vivekanandan, M. 2010. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. J Plant Physiol. 161: 1189-1202.
4. Arazmjo, A., Heidari, M., Ghanbari, A., Siahsar, B. and Ahmadian, A. 2015. Effects of three types of fertilizers on essential oil, photosynthetic pigments, and osmoregulators in chamomile under drought stress. Environ Stress Crop Sci. 1: 3. 23-33. (In Persian)
5. Rahmani, N., Valadabadi, S.A., Daneshian, J. and Bigdeli, M. 2017. The effects of water deficit stress and nitrogen on oil yield of (*Calendula officinalis* L.). Ir J Med Arom Plant. 24: 1. 101-108. (In Persian)
6. Askary, M., Behdani, M.A., Parsa, S., Jamialahmadi, M. and Mahmoodi, S. 2017. Effects of water stress and manure on stomatal conductance, relative water content, photosynthetic pigments and quantitative and qualitative yield of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. Ir J Med Aromat Plant. 33: 5. 793-811. (in Persian)
7. Karla, A. 2009. Organic cultivation of medicinal and aromatic plants. A hope for sustainability and quality enhancement. J Org Prod Med Aron. Dye-Yielding Plants.
8. Safaei, L., Afiuni, D. and ZeinaLi, H. 2013. Correclation relationships and path coefficient analysis between essential oil and essential oil components in 12 genotypes of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). Ir J Med Arom Plant. 29: 1. 187-200. (In Persian)

9.Sharifi Ashoorabadi, E., Matin, A., Lebaschi, M.H. and Abbaszadeh, B. 2016. Effects of nitrogen application methods on yield of Melissa (*Melissa officinalis*). Ir J Med Aromat Plant Res. 20: 3. 369-376. (In Persian)
10.Moradi, R. 2013. The effect of application of organic and biological fertilizers on yield, yield components and essential oil of *Foeniculum vulgare* (Fennel). Dissertation of MSc Master's degree, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian)
11.Porazizi, M. 2011. The impact of integrated and conventional methods of fertilization on soil nitrogen mineralization, quantitiative and qualitative characteristics of *Sorghum Sudonese*. M.Sc Thesis. Faculty of Agriculture. Shahrekord University. (In Persian)
12.Kriplani, P., Guarve, K. and Bagharl, U. 2017. *Arnica montana* L. a plant of healing: review. J Pharm Pharmacol. 69: 8. 925-945.
13.Savareddin, M.H., Sharifi Maghsudi, M. and Pakaniya, S. 2000. Chemical analysis of water, soil and fertilizers in agriculture. Amidi Press. 210 p. (In Persian)
14.Varnaseri ghandali, V., Rezvani Moghaddam, P. and Khorramdel, S. 2019. Investigation of growth indices, grain yield and yield components of canary seed (*Phalaris canariensis*) in Response to the different levels of Irrigation organic and chemical fertilizers. Agroecol. 11: 1. 123-135. (In Persian)
15.Karimi, M. and Azizi, M. 1997. Basic growth analysis: plant growth analysis for beginners. Ferdowsi of University Publication. 198 p. (In Persian)
16.Bates, L., Waldren, R.P. and Tear, I.P. 2008. Rapid determination of free proline for water stress studies. Soil Sci. Plant Nut. 39: 205-207.
17.Borojerdnia, M., Bihamta, M., Alamisiad, K. and Abdossi, V. 2016. Effect of drought tension on proline content, soluble carbohydrates, electrolytes leakage and relative water content of bean (*Phaseolus valgaris* L.). Crop Physiol J. 8: 29. 23-41. (In Persian)
18.Fischer, R.A., Rees, D., Sayre, K.D., Lu, Z.M., Candon, A.G. and Saavedra, A.L. 1998. Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. Crop Sci. 38: 1467-1475.
19.Arnon, D.I. 2009. Physiological principles of dry land crop production. In, Physiological aspects of dry land farming. Gupta U.S. (Eds), Oxford Press.
20.Krizek, D.T., Kramer, G.F., Upadyaya, A. and Mirechi, R.M. 2010. UV-B response of cucumber seedling grown under metal halide and high pressure sodium/deluxe lamps. J Plant Physiol. 88: 350-358.
21.Pirmania, A., Mirmahmoodi, T. and Yazdanseta, S. 2019. Effect of irrigation intervals and different nitrogen fertilizer rates on yield, tield components, essential oil and essence of pot marigold (*Calendula officinalis* L.). Environ stress crop Sci. 12: 2. 445-457. (In Persian)
22.Tohidi nejad, E. and Rastegari, F. 2019. Effects of biological and organic fertilizers on morphological parameters and chamazulene yield of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) under drought stress condition. Ir J Med Plant. 34: 6. 949-962. (In Persian)
23.Pirzad, A., Alyai, H., Shakiba, M.R, Zehtab, S. and Mohammadi, A. 2016. Essential oil content and composition of German chamomile at different irrigation regimes. J Agron. 5: 3. 451- 455.
24.Feizollahi, A., Daneshian, J. and Maleki, A. 2019. The effect of nitrogen fertilizer and zinc sulfate fertilizer application on yield of *Calendula officinalis* L. Res Agric. 11: 1. 48-68. (In Persian)
25.Shadkam, Z. and Mohajeri, F. 2019. The interaction between irrigation interval with manure and vermicompost on vegetative characteristics and yield of lemon verbena (*Lippa citriodora* L.). Bi-Quaterly J Plant Prod. 9: 1. 67-82. (In Persian)
26.Badalzadeh, A., Danesh shahraki, A., Rafieiolhossaini, M. and Ghobadinia, M. 2018. The effects of solitary and combined application of cattle manure

and chemical fertilizer on essential oil and some physiological characteristics of moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) under water deficit stress conditions. Water Soil Sci. 28: 3. 155-168. (In Persian)

27. Parvanak, K. 2020. Investigate the effects of drought stress on some physiological parameters, percentage and yield of essential oil of *Saliva sahendica*. Environ Stress Crop Sci. 12: 4. 1237-1249. (In Persian)
28. Ahmadian, A., Ghanbari, A. and Golvi, M. 2017. The interaction effect of water stress and animal manure on yield components, essential oil and chemical composition of *Cumium cyminum*. Ir J Field Crop Sci. 1: 40. 173-180. (In Persian)
29. Hassanzaseh Ghortepeh, A., Amirnia, R. and Heydarzadeh, S. 2020. The effect of manure application on physiological traits if *Cichorium intybus* L. in Response to drought stress. Agri. Sci. Sustain Prod. 30: 3. 133-146. (In Persian)
30. Ameri, A.A., Nasiri Mahalati, M. and Rezvani Moghadam, P. 2015. Effects of different nitrogen levels and plant density on flower essential oils and extract production and nitrogen use efficiency of marigold (*Calendula officinalis*). Ir. J. Field Crops Res. 5: 2. 315-326. (In Persian)