بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) با کاربرد کودهای زیستی

سیدمصطفی حسینی مزینانی[1*]، علیرضا هادی‌پور[2]

۱- عضو هیأت علمی، گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری، شهرری، ایران
۲- دانشجوی دکتری تخصصی باغبانی، عضو جهاددانشگاهی آذربایجان شرقی، تبریز، ایران
*آدرس مکاتبه: تهران، اتوبان تهران - قم، نرسیده به حرم مطهر امام خمینی (ره)، دانشگاه آزاد اسلامی شهرری
تلفن: ۰۹۱۲۳۲۳۷۱۰۷
پست الکترونیک: Mzhoseini@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۶/۳۰ **تاریخ تصویب:** ۹۲/۱۲/۲۱

چکیده

مقدمه: با توجه به اثرات مضر استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی، کودهای زیستی می‌تواند جایگزین مناسبی در تأمین مواد غذایی سالم، سلامت محیط زیست و سلامت انسان‌ها باشد.

هدف: بررسی تأثیر کودهای زیستی بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی همیشه بهار.

روش بررسی: این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری به مدت یک سال زراعی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی عبارت بودند از نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس، قارچ مایکوریزا، کود حیوانی، کود شیمیایی (NPK) و شاهد (بدون کود).

نتایج: کودهای زیستی بر عملکرد کیفی و همچنین اغلب پارامترهای مورد بررسی عملکرد کمی تأثیر معنی‌داری داشتند. مصرف کود زیستی بر عملکرد کمی شامل وزن خشک تک گل و عملکرد تر در هکتار ($p\leq ۰/۰۵$) و وزن تر تک‌گل و عملکرد اسانس در هکتار ($p\leq ۰/۰۱$) تأثیر معنی‌داری داشت. همچنین کودهای زیستی بر درصد مورولول و آلفاکادینول ($p\leq ۰/۰۱$) نیز تأثیر معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری: کودهای زیستی باعث بهبود اغلب صفات کمی و کیفی گیاه همیشه بهار شده و بیشترین عملکرد اسانس در تیمار نیتروکسین مشاهده شد.

گل‌واژگان: همیشه بهار، آزوسپیریلوم، ازتوباکتر، عملکرد کیفی، کود زیستی، میکوریزا

www.SID.ir

مقدمه

سیاست کشاورزی پایدار و توسعه پایدار کشاورزی، متخصصین را بر آن داشت که هر چه بیشتر از موجودات زنده در خاک به منظور تأمین نیازهای غذایی گیاه کمک بگیرند و بدین‌سان بود که تولید کودهای زیستی آغاز شد. کود بیولوژیک، ماده‌ای حاوی ریزجانداران (میکروارگانیسم‌ها) است و هنگامی که بر روی بذر، سطح ریشه و یا در خاک استفاده شود موجب تحریک محیط رشد ریشه یا خود گیاه می‌شود و از طریق افزایش قابلیت دسترسی مواد معدنی، باعث افزایش رشد گیاه می‌شود [۱]. معمولاً دو گروه اصلی میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌ها و قارچ میکوریزا به عنوان کود زیستی استفاده می‌شود. برخی از اثرات باکتری‌های افزاینده رشد عبارتند از افزایش رشد گیاه، تثبیت زیستی نیتروژن، توان تولید سیدروفور، تولید اتیلن در گیاه، تغییر مورفولوژی ریشه، حل فسفات‌های معدنی و آلی نامحلول، جذب عناصر غذایی و بهبود جوانه‌زنی بذور [۱۶ - ۱]. همچنین برخی از خواص مثبت قارچ‌های میکوریزا عبارتند از: اثرات تغذیه‌ای آن در گیاه میزبان، بهبود جذب آب، اختصاص مواد فتوسنتزی، بهبود واکنش‌های فیزیولوژیکی [۱۷، ۹].

گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) از خانواده Asteraceae و یکی از معروف‌ترین و پرکاربردترین گیاهان دارویی است. این گیاه به طور وسیعی به منظور استفاده از عصاره آن در طب سنتی و گیاه درمانی پرورش می‌یابد. عمده‌ترین مواد مؤثره همیشه‌بهار شامل ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، کومارین، کوییتون، اسانس، کارتنوئید و اسیدهای آمینه می‌باشد [۱۹، ۱۸]. عصاره همیشه‌بهار دارای اثرات دارویی از قبیل التیام زخم، ضدالتهاب، ضدباکتری، تحریک ایمنی، ضدتومور، ضدایدز و غیره است [۲۰]. اثرات ضدویروسی، ضدتوموری، آنتی‌موتاژنی و آنتی‌اکسیدانی گل‌های همیشه‌بهار نیز مشخص شده است. اما در حال حاضر، یکی از مهم‌ترین استفاده‌های آن، درمان بیماری‌های پوستی و التهابی می‌باشد [۲۱، ۱۸]. گل‌های همیشه‌بهار همراه با کاسبرگ و یا بدون آن، در برخی از فارماکوپه‌ها به عنوان دارو معرفی شده‌اند [۲۲]. بر اساس گزارش‌های موجود، عصاره فعال شده لیزری همیشه‌بهار، یک بازدارنده رشد مواد in vitro، برای چندین رشته سلول تومور است [۲۳]. کرم همیشه‌بهار (کالندولا) نیز در درمان سوختگی‌ها و خراشیدگی‌های خفیف مورد مصرف قرار می‌گیرد [۲٤]. علاوه بر این، مطالعات داروشناسی تأیید کرده است که گل همیشه‌بهار مقدار وسیعی اثرات بیولوژیکی و فعالیت‌های داروشناختی محافظ کبدی و ضداسپاسم دارد [۲۵]. کاروتنوئیدهای گل آذین همیشه‌بهار به عنوان محافظ نور عمل کرده و خطر آفتاب سوختگی‌ها، حساسیت به نور و حتی انواع سرطان پوست را کاهش می‌دهد [۲٦، ۱۸].

با توجه به مزایای کودهای زیستی، استفاده از آنها در پرورش گیاهان دارویی رایج شده است. نتایج تحقیقات شکرانی و همکاران [۲۷] درخصوص تأثیر کود زیستی بر رشد و عملکرد گیاه همیشه‌بهار، نشان داد که کود زیستی نیتروکسین بر روی وزن ساقه و قطر کاپیتول تأثیر معنی‌داری داشت. همچنین اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی نیتروکسین بر میزان اسانس، عملکرد گل و عملکرد اسانس در برداشت اول، دوم، سوم، چهارم، پنجم و عملکرد سالانه تأثیر معنی‌داری داشت. بیشترین عملکرد خشک گل (۲۷٤۲ کیلوگرم بر هکتار) از تیمار شاهد (آبیاری مطلوب) و ٦ لیتر بر هکتار نیتروکسین حاصل شد [۲۸]. نتایج استفاده از تیمارهای رقم و چهار سطح کودهای زیستی بر روی گل رز (*Rosa hybrida*) نشان داد که اثر اصلی رقم و اثر متقابل رقم و تیمار کودی بر پارامترهای تعداد گره، تعداد شاخه، زود گل‌دهی، عمر گل جا، سطح برگ و غلظت نیتروژن، پتاسیم و کلسیم در برگ در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر خالص تیمارهای کودی بر غلظت عناصر غذایی در برگ و سطح برگ در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. بررسی اثر متقابل رقم و تیمارهای کودی نشان داد که در اکثر ارقام تیمارهای تلقیح باعث افزایش غلظت نیتروژن در برگ نسبت به شاهد بدون تلقیح شد [۲۹]. ظفریان و همکاران [۳۰] تحقیقی را به منظور بررسی اثر رقم، کود زیستی، کود شیمیایی نیتروژنه و فسفره بر گیاه گلرنگ انجام دادند. نتایج نشان داد که بین سطوح مختلف کود نیتروژنه، فسفره و رقم و ترکیب‌های تیماری آنها برای صفات تعداد شاخه فرعی، تعداد

Archive of SID
www.SID.ir

غوزه در بوته، دانه در غوزه، عملکرد دانه، شاخص برداشت و درصد روغن دانه تفاوت آماری معنی‌داری وجود داشت. کودهای زیستی ازتوباکتر و فسفات بارور ۲، عملکرد و اجزای آن را در گیاه گلرنگ، نسبت به کود شیمیایی نیتروژنه و سوپر فسفات تریپل به طور معنی‌داری افزایش دادند. نتایج بررسی اثر کودهای زیستی بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) نشان داد که بیشترین ارتفاع بوته، تعداد چتر در بوته، وزن هزار دانه، عملکرد بیولوژیکی و عملکرد دانه در تلقیح با مایکوریزا حاصل شد اما شاخص برداشت در مقایسه با عدم تلقیح کاهش یافت. کود فسفات زیستی دارای تأثیر معنی‌داری بر روی تعداد چتر در بوته، وزن هزار دانه، شاخص برداشت و عملکرد دانه نبود ولی اثر معنی‌داری بر روی ارتفاع بوته و عملکرد بیولوژیک داشت به طوری که بیشترین مقدار آنها در سطح سوم به دست آمد [۳۱]. با توجه به اهمیت کودهای زیستی در تولید محصول و کاهش مصرف کودهای شیمیایی و نقش آن در عملکرد کمی و کیفی گیاه، در این تحقیق نیز تغییرات عملکرد و اجزای اسانس و عملکرد گل گیاه همیشه‌بهار تحت تأثیر کاربرد تیمارهای مختلف بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری به مدت یک سال زراعی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. مشخصات مزرعه در جدول شماره ۱ موقعیت جغرافیایی و در جدول شماره ۲ مشخصات خاک مزرعه ذکر شده است.

تیمارهای مورد بررسی عبارت بودند از نیتروکسین، سوپر نیتروپلاس، قارچ میکوریزا، کود حیوانی، کود شیمیایی (NPK) و شاهد (بدون کود). مشخصات تیمارها به شرح زیر می‌باشد: کود بیولوژیک نیتروکسین حاوی مجموعه‌ای از مؤثرترین سوش‌های باکتری‌های تثبیت کننده از جنس *Azospirillum*/ *Azotobacter* و حل‌کننده فسفات از جنس *Pseudomonas* می‌باشد و تعداد سلول زنده در هر گرم (CFU) 10^8 از هر یک از جنس‌های باکتری، کود بیولوژیک سوپرنیتروپلاس مجموعه‌ای از جنس‌های مختلف باکتری‌های تثبیت کننده ازت، کنترل کننده عوامل بیماری‌زای خاکزی و باکتری‌های محرک رشد شامل *Azospirillum*، *Pseudomonas*، *Bacillus* است و غلظت باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت و محرک رشد در کود بیولوژیک سوپرنبتروپلاس 10^8 در هر گرم یا میلی‌لیتر و 10^8 اسپور و سلول زنده *Bacillus* می‌باشد، قارچ میکوریزا *Glomus intraradaices*، کود حیوانی از نوع گاوی کاملاً پوسیده (کود بیولوژیک نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس از شرکت پاکان بذر و قارچ مایکوریزا از بخش بیولوژی مؤسسه خاک و آب تهران تهیه شد).

جدول شماره ۱ - مشخصات اقلیمی منطقه مزرعه تحقیقاتی

بارندگی سالیانه (میلی‌متر)	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	میانگین دمای سالیانه (درجه سانتی‌گراد)
۲٤٥/۸	۳۵ درجه و ۳۰ دقیقه	۵۱ درجه و ۸ دقیقه	۱۱۲۰	۱۸

جدول شماره ۲ – خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه تحقیقاتی

عمق خاک (سانتی‌متر)	بافت خاک	EC (dS m-1)	pH	O.C %	N (mg kg-1)	P (mg kg-1)	K (mg kg-1)
۱۵ – ۰	لوم رسی	۳	۷/۵	۳	۲۰	٤٥	٤۷۰
۳۰ – ۱۵	لوم رسی	۲/۵	۷/۸	۲	۲۵	۳۰	٤۷۰

Archive of SID
www.SID.ir

عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم، دیسک و ماله به نحو مطلوب قبل از کاشت صورت گرفت. پس از ایجاد خطوط کشت، نقشه آزمایش روی زمین پیاده شد. هر کرت آزمایشی از ٦ ردیف کاشت به فاصله ۵۰ سانتی‌متر و به طول ٦ متر و فاصله بوته‌ها بر روی ردیف نیز ۲۰ سانتی‌متر و تراکم ۱۰۰ هزار بوته در هکتار در نظر گرفته شد. قبل از عملیات کاشت ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود فسفات آمونیوم، ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم و همچنین ٦۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره که یک سوم آن در هنگام کاشت و دو سوم باقیمانده پس از تنک نهایی و قبل از گلدهی به صورت سرک فقط به تیمار مربوطه داده شد [۲۲]. کود دامی نیز به مقدار ۲۰ تن در هکتار به خوبی با خاک تیمار مربوطه مخلوط شد. تلقیح بذرهای همیشه‌بهار با کودهای زیستی در شرایط عدم وجود نور و قبل از کاشت انجام شد. برای تلقیح بذور با نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس با توجه به اینکه این مایه‌ها به صورت مایع بودند، به نحوی بذور با این مایه مخلوط شدند تا یک پوشش کاملاً یکنواخت روی سطح آنها تشکیل شود. از صمغ عربی نیز برای چسبندگی بهتر بذرها با مایه تلقیح قارچ میکوریزا (با توجه به اینکه این مایه تلقیحی به شکل پودر می‌باشد) استفاده شد [۳۲]. پس از مدت زمان ۱۰ دقیقه و اطمینان کافی از اختلاط بذرها با مایه‌های تلقیحی، به مدت یک ساعت در سایه خشک شدند و پس از خشک شدن کامل بذور، بلافاصله کاشت بذور روی خطوط کاشت با توجه به ریز بودن بذرها در عمق یک سانتی‌متری در محل داغ آب انجام شد و کلیه عملیات زراعی از قبیل آبیاری، واکاری، وجین، تنک کردن و مبارزه با آفات و بیماری‌ها به طور همزمان و به نحو مطلوب در کلیه کرت‌های آزمایشی انجام شد. در ادامه صفات تعداد گل، وزن تر و خشک تک گل، عملکرد تر و خشک گل، عملکرد اسانس و ترکیبات اصلی اسانس گل مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

در طول دوره رشد هشت بار برداشت گل صورت گرفت و در هر برداشت نیز وزن تر و خشک تک گل، تعداد گل، عملکرد تر و خشک گل با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت بالا اندازه‌گیری شد. پس از هر برداشت و برای جلوگیری از تغییر رنگ گل‌ها در مجاورت آفتاب، نمونه‌های جمع‌آوری شده بلافاصله در سایه خشک شد. در آخر فصل و پس از اتمام برداشت‌ها، ۱۰۰ گرم از هر نمونه به آزمایشگاه پژوهشکده گیاهان دارویی منتقل شد. در آزمایشگاه با استفاده از دستگاه کلونجر و به مدت چهار ساعت اسانس‌گیری صورت گرفت [۳۳]. برای اندازه‌گیری صفات کیفی و ترکیبات اسانس از دستگاه GC و GC/MS استفاده شد.

مشخصات دستگاه GC: دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Younglin Acme6000 با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع BP5 بود. برای شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، نمونه که توسط n- هگزان رقیق شده بود به مقدار ۱ میکرولیتر به دستگاه GC تزریق شد. برنامه دمایی ستون به صورت ذیل تنظیم شد: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲٤۰ درجه سانتی‌گراد و سپس با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۳ دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ ۷۵ دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد به صورت split ۱ به ۲۵ بود، دمای شناساگر FID ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد [۳۵، ۳٤].

مشخصات دستگاه GC-MS: دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع BPX5 بود. برای شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، نمونه که توسط n- هگزان رقیق شده بود به مقدار ۱ میکرولیتر به دستگاه GC/MS تزریق شد. برنامه دمایی ستون به صورت ذیل تنظیم شد: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲٤۰ درجه سانتی‌گراد و سپس با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۳ دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ ۷۵ دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد به صورت split ۱ به ۵۰ بود و از گاز

Archive of SID
www.SID.ir

هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. محدوده اسکن مس‌ها از ٤٠ تا ٥٠٠ تنظیم شد. نرم‌افزار مورد استفاده Chemstation بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت [۳۵، ۳٤].

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS، مقایسه میانگین تیمارها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج

عملکرد کمی

نتایج نشان داد که استفاده از کود زیستی در مقایسه با تیمار شاهد، کود شیمیایی و دامی تأثیر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) بر تیمار وزن خشک تک گل داشت (جدول شماره ۳). تیمارهای کود زیستی نیتروکسین، میکوریزا، کود شیمیایی و کود دامی به ترتیب با میانگین‌های ۰/۱۵۰، ۰/۱٤۸، ۰/۱٤٦ و ۰/۱٤۳ گرم دارای بیشترین وزن خشک بودند. تیمار شاهد با میانگین ۰/۱۳۱ دارای کمترین وزن خشک بوده و با چهار تیمار قبلی تفاوت معنی‌داری داشت (جدول شماره ٤). اثر کلیه تیمارها بر وزن تر تک گل گیاه ($p\leq$۰/۰۱) معنی‌دار بود (جدول شماره ۳). نتایج نشان داد که کود زیستی نیتروکسین با میانگین ۰/۸۷٤ گرم دارای بیشترین وزن تر تک گل بود که با تیمارهای کود زیستی سوپرنیتروپلاس، کود دامی و کود شیمیایی به ترتیب با میانگین‌های ۰/۸۲۰، ۰/۸۲٦ و ۰/۸٤۹ تفاوت معنی‌داری نداشت ولی با تیمارهای میکوریزا و شاهد دارای تفاوت معنی‌داری بود. کمترین وزن تر تک گل نیز در تیمار شاهد با میانگین ۰/۷۰٤ گرم حاصل شد (جدول شماره ٤). نتایج بیان نمود که تأثیر تیمار کودهای زیستی، شیمیایی و دامی بر تعداد گل در واحد سطح معنی‌دار نبود (جدول شماره ۳). با این حال بیشترین تعداد گل در تیمار سوپرنیتروپلاس (۱۳۸۵) و کمترین آن نیز در تیمار شاهد (۱۱۰٤) مشاهده شد (جدول شماره ٤). تمام تیمارها تأثیر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) بر عملکرد خشک گل در هکتار داشتند (جدول شماره ۳). نتایج آزمون مقایسه میانگین نشان داد که کود زیستی نیتروکسین با میانگین ۱۷۷۳ کیلوگرم گل خشک در هکتار دارای بیشترین عملکرد بود. تیمارهای کود شیمیایی، کود دامی و سوپرنیتروپلاس به ترتیب با میانگین‌های ۱٦۱۰، ۱٦۰۸ و ۱۵۸۰ کیلوگرم گل خشک در هکتار دارای عملکرد کمتری بودند ولی با تیمار نیتروکسین تفاوت معنی‌داری نداشتند. تیمار شاهد با میانگین ۱۳۷۱ کیلوگرم گل خشک در هکتار دارای کمترین عملکرد بوده و با بقیه تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بود (جدول شماره ٤). بر اساس جدول تجزیه واریانس مشاهده شد که اثر تیمار کودهای زیستی بر عملکرد تر گل در هکتار معنی‌دار نبود (جدول شماره ۳). با این حال بیشترین عملکرد تر در تیمار نیتروکسین (۲٦۸۷٤ کیلوگرم) و کمترین عملکرد تر نیز در تیمار شاهد (۲۳۱۷٤ کیلوگرم) مشاهده شد (جدول شماره ٤).

جدول شماره ۳- تجزیه واریانس ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه همیشه‌بهار تحت تأثیر کودهای زیستی

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی	وزن خشک تک گل	وزن تر تک گل	تعداد گل	عملکرد خشک گل	عملکرد تر گل	عملکرد اسانس	Muurolol (epi-alpha)	alpha-Cadinol
بلوک	۲	۰/۰۰۰۰٤۸٤ ns	۰/۰۰۰۰۲۲ ns	٤۸٦٤۸/۲ ns	۱۳٦۰۵/۷۵ ns	۷۷۱۵۷۰۵ ns	۰/۰۳٦٦ ns	۲۵/٦٦**	۲۲۱/۲۸**
تیمار کودی	۵	۰/۰۰۰۱۳٤*	۰/۰۱۰۵**	۲۵۹۵۱/۵ ns	۵۰۷۸٤/٦۲*	٤۵۳۸۹۹۰ ns	۲/۰۳۵۸ **	۱/۷۲ **	۱۳/۳۲ **
خطا	۱۰	۰/۰۰۰۰۳۸٦	۰/۰۰۱۱۲	۲۱۳۳۷/۸	۱٤۰۹۷/۱	۱۰۲٤۸۹٦۵	۰/۰۲۹٦	۰/۰۷	۰/۵٤٤
ضریب تغییرات		٤/۳۳	٤/۱۲	۱۱/۵۷	۷/۵۲	۱۲/۸٤	۹/۱۷	٤/٤۹	٤/۲۵

**، * و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ٤- مقایسه میانگین اثر کودهای زیستی بر صفات کمی و کیفی همیشه بهار

تیمار	وزن خشک تک گل (گرم)	وزن تر تک گل (گرم)	تعداد گل در متر مربع	عملکرد خشک گل در هکتار (کیلوگرم)	عملکرد تر گل در هکتار (کیلوگرم)	عملکرد اسانس در هکتار (کیلوگرم)	Muurolol (epi-alpha) (%)	alpha-Cadinol (%)
نیتروکسین	۰/۱۵۰ a	۰/۸۷٤ a	۱۲۸۳/۷ a	۱۷۷۳/۱٦ a	۲٦۸۷٤ a	۳/٥٤٦۳ a	٦/۰۱۳ b	۱۷/٦۱۱ b
سوپرنیتروپلاس	۰/۱٤۲ ab	۰/۸۲۰ ab	۱۳۸٥/۰ a	۱٥۸۰/۱۱ abc	۲٥۲٦۳ a	۱/٥۸۰۰ b	٦/٦۹۹ a	۱۷/۱۷۲ b
میکوریزا	۰/۱٤۸ a	۰/۷۹٥ b	۱۲۸۰/۰ a	۱٥۳۱/٦۲ bc	۲٥۲۹٦ a	۱/٥۳۱۳ b	٥/۳۲۷ c	۱٤/۷۹٤ c
کود دامی	۰/۱٤۳ a	۰/۸۲٦ ab	۱۲۹٦/۷ a	۱٦۰۸/۱۹ ab	۲٤۳۰۸ a	۱/٦۰۸۳ b	٦/۳۱۸ ab	۱۹/۱٤۱ a
کود شیمیایی	۰/۱٤٦ a	۰/۸٤۹ ab	۱۲۲٦/۳ a	۱٦۱۰/۱۷ ab	۲٤٦٦٦ a	۱/٦۱۰۳ b	٦/٤۰۳ ab	۲۰/۱٥۸ a
شاهد	۰/۱۳۱ b	۰/۷۰٤ c	۱۱۰٤/۳ a	۱۳۷۱/۹٤ c	۲۳۱۷٤ a	۱/۳۷۱۷ b	٤/٦۹۰ d	۱٥/۲۳۳ c

حروف متفاوت در هر ستون نشانگر وجود تفاوت معنی‌دار است (آزمون دانکن)

عملکرد کیفی

نتایج نشان داد که تیمار کودهای زیستی تأثیر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) بر عملکرد اسانس در هکتار داشتند (جدول شماره ۳). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که کود زیستی نیتروکسین با میانگین ۳/۵۵ لیتر در هکتار دارای بیشترین عملکرد اسانس بوده و با بقیه تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بود. تمام تیمارهای باقیمانده در گروه دوم آماری قرار داشته و با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول شماره ٤). در ارتباط با درصد مورولول در اسانس گیاه، اثر تیمار کودهای زیستی معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) شد (جدول شماره ۳). بیشترین درصد مورولول در تیمار سوپرنیتروپلاس (٦/٦۹۹ درصد) و کمترین درصد آن نیز در تیمار شاهد (٤/٦۹۰ درصد) مشاهده شد (جدول شماره ٤). نتایج نشان داد که کلیه تیمارها تأثیر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) بر درصد آلفا کادینول داشتند (جدول شماره ۳). به طوری که بیشترین درصد آن در تیمار کود شیمیایی (۲۰/۱٥۸ درصد) و کود دامی (۱۹/۱٤۱ درصد) بوده و کمترین درصد آن نیز در تیمار میکوریزا (۱٤/۷۹٤ درصد) و شاهد (۱٥/۲۳۳ درصد) بود (جدول شماره ٤).

بحث

در مجموع نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از کودهای زیستی بر عملکرد کمی و کیفی همیشه‌بهار تأثیر معنی‌داری داشتند. نقدی و همکاران [۳٦] گزارش کردند که افزایش کود زیستی و همچنین مصرف کود شیمیایی فسفاته بر عملکرد کمی و کیفی سنبل‌الطیب تأثیر معنی‌داری دارد. همچنین بیشترین مقدار وزن خشک ریشه در تیمار کاربرد توأم کود ازتوباکتر و کود شیمیایی فسفاته به دست آمد.

احتمالاً استفاده از کودهای زیستی اثرات تشدید کنندگی بر فعالیت میکروبی خاک داشته و متعاقباً با افزایش سهل‌الوصول شدن عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم و احتمالاً گوگرد موجود در خاک برای گیاه و همچنین برقراری تعادل این عناصر با فاز فیزیکی و شیمیایی خاک، عملکرد گیاه را بهبود بخشیده‌اند. در تحقیق حاضر بالاترین مقدار عملکرد کمی همیشه‌بهار مربوط به تیمارهای کود زیستی نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس و میکوریزا بود که با تحقیقات شکرانی و همکاران [۲۷] مطابقت دارد. نتایج استفاده از ورمی کمپوست و کودهای زیستی بر گیاه ریحان نشان داد که بیشترین ارتفاع گیاه، ساقه فرعی در گیاه، تعداد گل در گیاه، تعداد چرخه گل در گیاه، تعداد دانه در هر چرخه، وزن هزار دانه، و وزن دانه در گیاه در تیمار ورمی کمپوست + نیتروکسین به دست آمدند. اما تفاوت آن با تیمار ورمی کمپوست + نیتروکسین + بیوفسفر جز در ساقه فرعی در گیاه معنی‌دار نبود. بیشترین عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک در تیمار ورمی کمپوست + نیتروکسین + بیوفسفر حاصل شد [۳۷]. خرم‌دل و همکاران [۳۲] گزارش نمودند که مصرف

Archive of SID

www.SID.ir

کودهای بیولوژیک در گیاه سیاهدانه باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه، شاخص سطح برگ، حداکثر تجمع ماده خشک و سرعت رشد محصول در مقایسه با شاهد شد. بیشترین اثر مثبت از تیمار ترکیبی آزوسپیریلوم و میکوریزا حاصل شد.

در گیاهان دارویی افزایش عملکرد اسانس و افزایش مواد مؤثره دارویی از اهمیت بالایی برخوردار است و افزایش عملکرد کمی زمانی معنی پیدا می‌کند که با افزایش عملکرد کیفی همراه باشد. در این آزمایش علیرغم اینکه درصد بالای مورولول و کادینول در تیمارهای کود دامی و کود شیمیایی مشاهده شد ولی با توجه به عملکرد بالای اسانس در تیمار نیتروکسین، بیشترین عملکرد مواد موثره در واحد سطح در این تیمار حاصل شده است. رحیمی و همکاران [۳۸] بیان نمودند که تیمارهای کود زیستی + ۳۷/۵ کیلوگرم نیتروژن و ۷۵ کیلوگرم نیتروژن بدون تلقیح کود زیستی به طور معنی‌داری باعث افزایش ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، وزن خشک کل، عملکرد میوه، درصد اسانس، عملکرد اسانس بر گیاه، محتوای لینالول در اسانس و عملکرد لینالول گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) در مقایسه با شاهد شد. در تمام صفات بالاترین مقادیر توسط تیمار کود زیستی و نیتروژن حاصل شد. در تحقیقی دیگر، نتایج حاصل از مصرف کود زیستی در گیاه زنیان نشان داد که کود زیستی تأثیر معنی‌داری بر کلیه صفات داشت. بیشترین عملکرد بیولوژی، عملکرد بذر، محتوای اسانس و عملکرد اسانس در تیمار تلقیح بذور + محلول‌پاشی روی گیاه در مرحله طویل شدن ساقه حاصل شد [۳۹]). کاپور و همکاران [٤٠] نیز اشاره کردند که دو قارچ میکوریزای آربوسکولار *Glomus macrocarpum* و *Glomus fasciculatum* به طور معنی‌داری باعث افزایش عملکرد اسانس رازیانه شد. همچنین استفاده همزمان از قارچ مایکوریزا و کود فسفر باعث افزایش رشد، جذب فسفر و محتوای اسانس در مقایسه با استفاده جداگانه آنها شد. نتایج GC آشکار نمود که میزان آنتول بذر در تیمار میکوریزا به طور معنی‌داری افزایش یافت.

نتیجه‌گیری

تکمیل مراحل رشدی برای هر گیاه در مناطق آب و هوایی مختلف یکسان نمی‌باشد و مسلماً واکنش گیاهان به مصرف کود زیستی نیز متغیر خواهد بود. گیاهانی که در شرایط مطلوب آب و هوایی و تغذیه‌ای مناسب رشد می‌کنند، عکس‌العمل کندتری نسبت به افزایش میزان کود و دیگر افزودنی‌های شیمیایی به بستر خاک نشان می‌دهند. در حالی‌که گیاهانی که در شرایط غیرمطلوب آب و هوایی و تغذیه‌ای نامناسب رشد و پرورش پیدا می‌کنند، عکس‌العمل سریع‌تر و مطلوب‌تری در افزودن کود زیستی به خاک نشان می‌دهند. در این تحقیق به خوبی روشن شد که کودهای زیستی سبب افزایش صفات کمی و کیفی گیاه همیشه‌بهار می‌شود و نیز با تنظیم هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در تقسیم سلولی و تولید مواد فتوسنتزی داشته و افزایش عملکرد تر و خشک گل، عملکرد اسانس و درصد مواد مؤثره اسانس را در پی دارد.

Archive of SID

منابع

1. Vessey JK. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*. 2003; 255: 571 – 86.

2. Zahir AZ, Arshad M and Frankenberger WF. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy* 2004; 81: 97 - 168.

3. Glick BR. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiol.* 1995; 41: 109 – 17.

4. Guerinot ML. Iron uptake and metabolism in the rhizobia/legume symbioses. *Plant and Soil*. 1991; 130: 199 - 209.

www.SID.ir

5. Fallik E, Sarig S and Okon Y. Morphology and physiology of plant roots associated with *Azospirillum. In* Azospirillum/plant associations. Ed. Y Okon. CRC Press Boca Raton, FL. 1994, pp: 77 – 86.

6. Khan AA, Jilani G, Akhtar MS, Saqlan Naqvi SM and Rasheed M. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J. Agric. Biol. Sci*., 2009; 1 (1): 48 - 58.

7. Molla MAZ and Chowdhury AA. Microbial mineralization of organic phosphate in soil. *Plant and Soil* 2001; 78: 393 – 9.

8. Dalal RC. Soil organic phosphorus. *Adv. Agron*. 1977; 29: 83 - 117.

9. Illmer P and Schinner F. Solubilization of inorganic calcium phosphates--solubilization mechanisms. *Soil Biology & Biochem.* 1995; 27 (3): 257 - 63.

10. Kloepper JW, Scher FM, Labiret EM and Tipping B. Emergence promoting rhizobacteria: descriptions and implications for agriculture. In: Iron, sidrophores and plant disease, Swinburne, T.R. ed. Plenume, New York. 1986, pp: 155 - 64.

11. Sharma AK. Biofertilizers for sustainable agriculture. Agrobios, India. 2004, p: 407.

12. Rodriguez H and Fraga R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotech*. 1999; 17: 319 - 39.

13. Hajiloo M, Salimi H, Asghari H and Khavazi K. Use of PGPR as biofertilizer in stable ecosystems. First Congress of Fertilizer Challenge in Iran, Tehran, Iran. 2010.

14. Khosravi H and Asadi Rahmani H. Application of PGPRs inoculations in Iran. First Congress of Fertilizer Challenge in Iran, Tehran, Iran. 2010.

15. Rasooli Sadaghiani MH. Investigation the role of phytosedorfers and mycorhiza in iron and zinc uptake by Wheat. PhD Thesis, Agriculture Faculty, Tarbiat Modaress University. 2005.

16. Ramezanian A. Introduce of rhizobacteria as PGPR. First National Congress of Legums, University of Mashhad, Mashhad, Iran. 2005.

17. Khalvati MA, Mozafar A and Schmidhalter U. Quantification of water uptake by arbuscular mycorhizal hyphae and its significance for leaf growth, water relations, and gas exchange of barley subjected to drought stress. *Plant Biology Stuttgart* 2005; 7: 706 - 12.

18. Muley BP, Khadabadi SS and Banarase NB. phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* Linn (Asteraceae): A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Res.* 2009; 8 (5): 455 - 65.

19. Butnariu M and Zepa Coradini C. Evaluation of biologically active compounds from *Calendula officinalis* flowers using spectrophotometry. *Butnariu and Coradini Chemistry Central J.* 2012; 6 (35): 1 - 7.

20. Azzaz NA, Hassan EA and Elemarey FA. Physiological, anatomical, and biochemical studies on pot marigold (*Calendula officinalis* L.) plants. *African Crop Science Conference Proceedings* 2007; 8: 1727 - 38.

21. Kalvatchev Z, Walder R and Garzaro D. Anti-HIV activity of extracts from *Calendula officinalis* flowers. *Biomed & Pharmacother*. 1997; 51: 176 - 80.

22. Omidbaigi R. Approaches to Production and Processing of Medicinal Plants. Beh Nashr Press. Iran. 2008, Vol. 1 & 2.

23. Jiménez-Medina E, Garcia-Lora A, Paco L, Algarra I, Collado A and Garrido F. A new extract of the plant *Calendula officinalis* produces a dual in vitro effect: cytotoxic antitumor activity and lymphocyte activation. *BMC Cancer* 2006; 6 (119): 1 - 14.

24. Pintea A, Bele C, Andrei S and Socaciu C. HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers. *Acta Biologica Szegediensis* 2003; 47 (1 - 4): 37 - 40.

Archive of SID

www.SID.ir

25. Okoh OO, Sadimenko AP, Asekun OT and Afolayan A.J. The effects of drying on the chemical components of essential oils of *Calendula officinalis* L. *African Journal of Biotechnol.* 2008; 7 (10): 1500 - 2.

26. Roveroni-Favaretto LHD, Bortolin Lodi L and Dias Almeida, J. Topical *Calendula officinalis* L. successfully treated exfoliative cheilitis: a case report. *Cases Journal* 2008; 2 (9077): 1 - 3.

27. 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. *African Journal of Biotechnol*. 2012a; 11 (21): 4795 - 802.

28. Shokrani F, Pirzad A, Zardoshti MR and Darvishzadeh R. effect of biological nitrogen on the yield of dried flower and essential oil of *Calendula officinalis* L. under end season water deficit condition. *International Research Journal of Applied and Basic Sci.* 2012b; 3 (1): 24 - 34.

29. Mohseni Nik N, Zabihi H and Asgharzadeh A. Investigation the effect of biofertilizers on Rose flowers in hydroponic system. *Knowledge and Techniques of Greenhouse Culture*, 2012; 2 (8): 57 - 69.

30. Zafarian L, Eivazi A and Jalili F. Effect of phosphate and nitrogen biofertilizer on yield and yield components of *Carthamus tinctorius* L. *Journal of Research in Agronomy* 2012; 3 (12): 29 - 40.

31. Darzi MT, Ghalavand A, Rejali F and Sefidkon, F. Effect of biofertilizers application on quantitative and qualitative yield of Fennel (*foeniculum vulgare*). *Journal of Medicinal and Aromatic Plants of Iran Res.* 2006; 22 (4): 276 - 92.

32. Koramdel S, Kochaki A, Nasiri-Mahalati M and Ghorbani R. Application of biofertilizer on *Nigella sativa* L. *Iranian Journal of Res.* 2008; 6 (20): 285 - 94.

33. British Pharmacopoeia. London, UK: Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency (MHRA), 2008, vol. 3.

34. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Corporation Carol Stream, IL. 2001.

35. McLafferty FW and Stauffer DB. The Wiley/Nbs registry of mass spectral data. New York: Wiley. 1989.

36. Naghdi Badi H, Lotfizad M, Ghavami N, Mehrafarin A and Khavazi K. Response of Quantity and Quality Yield of Valerian (*Valeriana officinalis* L.) to Application of Phosphorous Bio/Chemical Fertilizers. *Journal of Medicinal Plants* 2012; 12 (2): 25 - 37.

37. Rezaei Moadab A and Nabavi Kalat M. Application of vermycompost and biofertilizers on seed yield and yield components of *Ocimum basilicum* L. *Journal of Plants Ecophysiol.* 2012; 6 (2): 157 - 70.

38. 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 Science and Biotechnol.* 2009; 3 (2): 82 - 4.

39. 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 Journal of Scientific Research* 2013; 14 (11): 1508 - 12.

40. Kapoor R, Giri B and Mukerji K. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill. on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technol.* 2004; 93: 307 – 11.

Archive of SID

www.SID.ir