

## تأثیر کاربرد کود زیستی فسفری و تراکم بوته بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی زنیان (*Trachyspermum copticum* L.)

عباس نیکوپور<sup>۱\*</sup>، کامکار جایمند<sup>۲</sup>، محمدتقی درزی<sup>۳</sup> و فرهاد رجالی<sup>۴</sup>

۱- نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناس ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن

پست الکترونیک: Abbas\_nikoupour@yahoo.com

۲- دانشیار، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۳- استادیار، گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن

۴- استادیار، گروه بیولوژی خاک، مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۱

تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۰

### چکیده

به منظور بررسی کارایی کود زیستی فسفری و تراکم بوته بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی زنیان (*Trachyspermum copticum* L.)، پژوهشی به صورت آزمایش فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در بهار سال ۱۳۸۹ در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل عامل کود زیستی فسفری در چهار سطح (شاهد (عدم تلقیح)، بذرمال، سرک و بذرمال و سرک) و عامل تراکم بوته در سه سطح (۲۵۰۰۰، ۱۲۵۰۰۰، ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار) بودند. صفات مورد بررسی شامل درصد اسانس، عملکرد اسانس، درصد تیمول، درصد ترینولون و درصد پارا-سیمن در روغن فرار بودند. نتایج نشان داد که تأثیر کود زیستی فسفری بر صفات مورد بررسی در سطح ۱٪ معنی دار شد، به طوری که بیشترین مقادیر درصد اسانس (۴/۳۴٪) و عملکرد اسانس (۱۴۳/۱۲ کیلوگرم در هکتار) در تیمار دو بار تلقیح (بذرمال و سرک) و درصد تیمول (۲۳/۹٪) در تیمار بذرمال، درصد ترینولون (۴۱/۵٪) در تیمار دو بار تلقیح (بذرمال و سرک) و درصد پارا-سیمن (۲۳/۲٪) در تیمار سرک بدست آمد. اثر تراکم بوته بر صفات مورد بررسی در سطح ۱٪ معنی دار شد. به طوری که بیشترین مقادیر درصد اسانس (۴/۱٪) در تیمار ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار، عملکرد اسانس (۱۰۴/۰۷ کیلوگرم در هکتار) در تیمار ۲۵۰۰۰ بوته در هکتار، درصد تیمول (۳۷/۴٪) در تیمار ۱۲۵۰۰۰ بوته در هکتار، درصد ترینولون (۴۴/۵٪) در تیمار ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار و درصد پارا-سیمن (۲۳/۹٪) در تیمار ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار بدست آمد. از طرفی اثرات متقابل معنی داری نیز بر درصد اسانس (۵/۳۷٪)، عملکرد اسانس (۱۴۹/۵ کیلوگرم در هکتار)، درصد تیمول (۴۰٪)، درصد ترینولون (۴۹/۱٪) و درصد پارا-سیمن (۲۵/۶٪) مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: زنیان (*Trachyspermum copticum* L.)، کود زیستی فسفری، تراکم بوته، اسانس، تیمول.

### مقدمه

خاک را به فسفر محلول و قابل جذب گیاه تبدیل کنند (آستارایی و کوچکی، ۱۳۷۵). این ریز جانداران با ترشح اسیدهای آلی و استفاده از آنزیم فسفاتاز، با کاهش موضعی pH خاک، فسفر را از فاز نامحلول به فاز محلول خاک وارد می‌کنند (Gyneshwar et al., 2002). همچنین مصرف کودهای زیستی نظیر ریز جانداران حل‌کننده فسفات در یک

استفاده از جانداران مفید خاکزی تحت عنوان کودهای زیستی به عنوان طبیعی‌ترین و مطلوب‌ترین راه حل برای زنده و فعال نگه داشتن سیستم حیاتی خاک مطرح می‌باشند (صالح راستین، ۱۳۸۰). ریز جانداران حل‌کننده فسفات از جمله کودهای زیستی هستند که می‌توانند فسفات نامحلول

سیستم مبتنی بر کشاورزی پایدار، ضمن حفظ سلامت محیط زیست، موجب افزایش کمیّت و کیفیت ماده مؤثره گیاهان دارویی می‌شود.

تراکم مطلوب بوته نیز در واحد سطح از عوامل زراعی مؤثر بر بهره‌برداری مناسب و از عوامل محیطی جهت افزایش رشد و بهبود عملکرد گیاهان دارویی می‌باشد (Narula et al., 2001). زنیان (*Trachyspermum copticum*) یک گیاه دارویی بوده که میوه آن بوی مطبوعی دارد که ناشی از وجود اسانس است و مهمترین ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس آن را تیمول و ترینولن تشکیل می‌دهد. امروزه از اسانس زنیان در صنایع داروسازی برای تهیه داروهای ضدنفخ، ضداسپاسم و خلط‌آور و در صنایع غذایی به‌عنوان طعم‌دهنده و معطرکننده استفاده می‌شود.

در ارتباط با تأثیر ریزجانداران حل‌کننده فسفات بر روی رشد، نمو و عملکرد گیاهان زراعی و گیاهان دارویی، مطالعات کمی انجام شده‌است. در همین رابطه، گزارش شده‌است که تلقیح بذره‌های رازیانه (*Foeniculum vulgare*) با باکتریهای *Bacillus* و *Azospirillum* باعث افزایش ترکیب‌های اسانس شد (Mahfouz & Sharaf-Eldin, 2007). همچنین در پژوهشی که با استفاده از یک گونه از باکتری حل‌کننده فسفات به نام *Bacillus polymyxa* همراه با مصرف تری‌کلسیم فسفات، بر روی گیاه دارویی علف لیمو (*Cymbopogon martini*) انجام شد، ملاحظه گردید که کیفیت اسانس بهبود یافت، به‌نحوی که درصد ژرانیول در اسانس در حدود ۲۷/۶٪ بیشتر از تیمار شاهد بود (Ratti et al., 2001). همچنین در پژوهشی که توسط Darzi و همکاران (۲۰۰۹) بر روی گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) انجام شد، مشخص گردید که استفاده از کود زیستی فسفوری منجر به افزایش اسانس دانه و عملکرد اسانس شد. در تحقیق دیگری که توسط Abdelaziz و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد، ملاحظه گردید که کود زیستی حل‌کننده فسفات مقدار و کیفیت اسانس رزماری (*Rosmarinus officinalis*) را بهبود بخشید. طبق تحقیق دیگری که در مورد تأثیر توأم ریزجانداران حل‌کننده فسفات و کمیوست بر روی نعناع (*Mentha arvensis*) انجام شد، مشاهده گردید که میزان اسانس افزایش معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد داشت و این اثر به افزایش تعداد غدد ترشحی اسانس ربط داده شد (Kumar & Singh, 2001). در تحقیق دیگری، تأثیر کودهای زیستی که ترکیبی از *Azospirillum*

و *Liboferum Azotobacter choroococcum* و کودهای شیمیایی که حاوی ۵۰٪ از مقدار توصیه شده NPK بود، روی مقدار میوه و ترکیب‌های اسانس رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بررسی شد و مشاهده گردید که بیشترین اسانس در گیاه زمانی بدست آمد که کود زیستی + نصف مقدار کود شیمیایی مصرف شد (Mahfouz & Sharaf-Eldin, 2007).

در خصوص بکارگیری تراکم مناسب بر میزان ماده مؤثره گیاهان، برومند رضازاده (۱۳۸۴) با بررسی اثر تراکم کاشت بر درصد اسانس گیاه دارویی زنیان (*Trachyspermum copticum*)، شاهد افزایش میزان اسانس بود. در این بررسی درصد اسانس از ۳/۱۴۹٪ در تیمار ۱۰ بوته در مترمربع به ۴/۴۸٪ در تیمار ۷۰ بوته در مترمربع رسید (۴۲/۲۷٪ افزایش). نقدی‌بادی و همکاران (۱۳۸۱)، در آزمایش خود در رابطه با اثر فاصله ردیف بر روی گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgairis*) مشاهده کردند که با کاهش فاصله ردیف و افزایش تراکم بوته، عملکرد اسانس افزایش پیدا کرد. Bali و همکاران (۱۹۹۲) تأثیر فاصله ردیف را بر درصد اسانس گیاه شوید (*Anethum graveolens*) مطالعه کرده و مشاهده نمودند که فاصله ردیف اثر معنی‌داری بر درصد اسانس بذر نداشت، اما با کاهش فاصله ردیف درصد اسانس بذر روند افزایشی از خود نشان داد. در این تحقیق همچنین مشخص گردید که افزایش تراکم باعث افزایش عملکرد اسانس شد. در آزمایشی که Bhati (۱۹۸۸) و Pop و همکاران (۲۰۰۷) انجام دادند مشخص شد که بیشترین میزان پلی‌فنول‌ها در گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*) در بالاترین سطح تراکم (۷۰ بوته در مترمربع) و کمترین میزان آن در کمترین سطح تراکم (۳۰ بوته در مترمربع) حاصل گردید. در تحقیقی دیگر آویشن در فواصل ۱۵، ۳۰ و ۴۵ سانتی‌متر روی ردیف‌هایی به فواصل ۶۰ سانتی‌متر کشت و مشخص شد که فواصل بوته کمتر به‌طور معنی‌داری سبب افزایش عملکرد اندام هوایی و میزان اسانس در واحد سطح شد (Shalaby & Razin, 1994). در گزارش حاج سیدهدادی و همکاران (۱۳۸۰) و Darzi و همکاران (۲۰۰۹) تراکم گیاهی تأثیر معنی‌داری بر مقدار اسانس گیاهان دارویی بابونه (*Matricaria recutita*) و رازیانه (*Foeniculum vulgare*) نداشت. همچنین در مقایسه تراکم‌های کاشت ۲۰×۲۵ و ۲۰×۵۰ در گیاه شوید

فسفات به نام *Pseudomonas putida* می‌باشد. جمعیت باکتریهای حل‌کننده فسفات  $10^7$  سلول در هر میلی‌لیتر (CFU) بوده‌است. کاشت زنیان (*Trachyspermum copticum*) در بهار بعد از مساعد شدن هوا انجام شد. پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل دو عاملی شامل فاکتور کود زیستی حل‌کننده فسفات در چهار سطح و فاکتور تراکم بوته در سه سطح، در قالب طرح پایه بلوکهای کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار و ۳ تکرار و مشتمل بر ۳۶ کرت انجام گردید. سطوح کود زیستی فسفری شامل: عدم تلقیح (شاهد)، تلقیح کود با بذر، محلول‌پاشی پای بوته و تلقیح با بذر به همراه محلول‌پاشی پای بوته (بعد از به ساقه رفتن بوته) بود. فاکتور تراکم شامل سه سطح (۲۵۰۰۰۰، ۱۲۵۰۰۰، ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار) در نظر گرفته شد.

#### آماده‌سازی زمین و بلوک‌بندی زمین

به منظور اجرای آزمایش قطعه زمینی به مساحت ۷۵۰ مترمربع در بهار سال ۱۳۸۹ تحت عملیات خاک‌ورزی و شخم قرار گرفت. پس از آماده‌سازی زمین و تسطیح آن اقدام به بلوک‌بندی زمین شد، به طوری که در هر بلوک ۱۲ واحد آزمایشی (کرت) قرار گرفت که جمعاً در ۳ بلوک، ۳۶ واحد آزمایشی احداث گردید. ابعاد هر واحد آزمایشی ۲×۳ متر، فاصله بین کرتها یک متر و فاصله بین تکرارها ۲ متر بود.

#### نحوه کاشت، آبیاری و اعمال تیمارها در پلات‌های آزمایشی

بذرها در همه تیمارها بجز شاهد و محلول‌پاشی به طور خاص با کود زیستی فسفری بذرمال شد و بلافاصله بعد از تلقیح در تاریخ ۸۹/۲/۲۹ در ۵ خط در هر کرت و به صورت خشکه‌کاری در عمق ۱ سانتی‌متری خاک کاشته شد. سیستم آبیاری به صورت مه‌پاش بود و بلافاصله بعد از کاشت آبیاری انجام شد.

در مرحله دوم، تلقیح کود زیستی فسفری به صورت سرک و هنگامی که ارتفاع بوته‌ها به ۱۵-۱۰ سانتی‌متر رسید به صورت رقیق شده با آب با نسبت ۱ به ۱۰ و به مقدار ۱۵cc پای بوته‌های مربوطه اضافه گردید. بعد از محلول‌پاشی به دلیل شسته نشدن کود تا ۲۴ ساعت از آبیاری خودداری نمودیم. آبیاری در ابتدای کاشت به علت سبکی خاک روزی یک‌بار و بعد از استقرار ریشه هر ۴-۵

*Anethum graveolens*) نشان داده شد که میزان اسانس در تراکم  $20 \times 50$  بیشتر بود (Bist et al., 2000). هدف از انجام این تحقیق مطالعه تأثیر روش کاربرد کود زیستی فسفری و تراکم بوته بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی زنیان (*Trachyspermum copticum*) می‌باشد.

#### مواد و روشها

##### محل انجام تحقیق و مبدأ بذر

این آزمایش در بهار ۱۳۸۹ در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور واقع در ۱۵ کیلومتری شمال غربی تهران با طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۱۰ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۴ درجه شمالی و ارتفاع ۱۳۲۰ متر از سطح دریا انجام شد. بذرها زنیان مورد استفاده از شرکت گیاه ایران اصفهان تهیه گردید. این توده یکساله با ارتفاع ۵۰ تا ۹۵ سانتی‌متر و دارای وزن هزاردانه ۰/۶ تا ۱ گرم بود.

بر اساس آمار سایت هواشناسی چیتگر وابسته به اداره کل هواشناسی استان تهران میزان بارندگی در منطقه ۲۵۱ میلی‌متر می‌باشد.

##### نوع خاک محل تحقیق

به منظور تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک قطعه زمین محل آزمایش، یک نمونه خاک مرکب از عمق ۳۰ سانتی‌متری خاک برداشته شد و طبق روشهای بین‌المللی متداول با دستگاه جذب اتمی نسبت به اندازه‌گیری عناصر ریز مغزی مانند آهن، روی، مس و منگنز (میکروالمنت‌ها) و اندازه‌گیری عناصر اصلی غذایی گیاه مانند فسفر و پتاسیم قابل جذب و ازت کل (ماکروالمنت‌ها) با دستگاه اسپکتروفتومتر و فلیم‌فتومتر و کج‌لدال اقدام گردید. اندازه‌گیری ساختمان بافت و تعیین میزان درصد شن، لای و رس با روش هیدرومتری و اندازه‌گیری واکنش قلیائیت یا اسیدی بودن با دستگاه pH متر و اندازه‌گیری شوری خاک با دستگاه EC متر انجام گردید. بافت خاک لومی شنی و pH خاک، ۷/۷ و درصد شن ۶۴، درصد لای ۲۱ و درصد رس ۱۵ بود (جدول ۱).

مشخصات کود زیستی فسفری و نوع فاکتورها و تیمارها کود زیستی فسفری مصرفی از مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه گردید. این کود شامل باکتریهای حل‌کننده

تجزیه دستگاهی و مشخصات دستگاه‌های کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)

به منظور جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس، از دستگاه‌های GC و GC/MS استفاده شد. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص‌های بازداری آنها و با تزریق هیدروکربنهای نرمال (C<sub>7</sub>-C<sub>25</sub>) در شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها و توسط برنامه کامپیوتری و به زبان بیسیک محاسبه شده است. همچنین، مقایسه آنها با منابع مختلف (Adams, 1989; Davies, 1990; Shibamoto, 1987) و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه GC/MS انجام شد.

کروماتوگراف گازی مدل Gas Chromatograph (Thermo-UFM) مجهز به دتکتور FID و داده‌پرداز با نرم‌افزار Chrom-card 2006، ستون Ph-5 (به طول ۱۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۴ میکرون) و برنامه‌ریزی حرارتی آن، از ۶۰ تا ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش دمای ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه بود. گاز حامل، هلیوم و فشار آن در ابتدای ستون برابر ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع، نسبت شکافت برابر ۱:۱۰۰، دمای قسمت تزریق و دمای آشکارساز ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به دستگاه طیف‌سنج جرمی مدل Varian 3400، با نرم‌افزار Saturn II، ستون همانند ستون دستگاه GC، فشار گاز سر ستون ۳۵ Psi و انرژی یونیزاسیون معادل ۷۰ الکترون ولت بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش ۴ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ترانسفر لاین ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری موجود SAS و Mstat-c استفاده گردید و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. و نمودارها بوسیله نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

روز یک‌بار براساس شرایط اقلیمی منطقه انجام شد. با توجه به جدول تجزیه خاک (جدول ۱)، ۴۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در هنگام کاشت براساس آنالیز خاک و نیاز گیاه و نیز ۴۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به صورت سرک پس از استقرار کامل گیاهچه‌ها مصرف گردید.

وجین علف‌های هرز و تنک کردن

به علت رشد کند و بطئی زنیان از زمان سبز شدن تا ساقه رفتن، مبارزه با علف‌های هرز در مزرعه ضروریست. به این منظور هر ۳-۴ روز یک‌بار وجین دستی، بین و روی ردیف‌ها انجام شد. علف‌های هرز غالب در مزرعه آزمایشی شامل پیچک صحرائی، اویارسلام و خرفه بودند. در ضمن به علت عدم وجود آفات و بیماریها در کرت‌های آزمایشی از سموم آفت‌کش استفاده نگردید. برای اطمینان از جوانه‌زنی و حفظ تراکم در حد مطلوب، در روی هر ردیف بذر با تراکم بیشتری کشت شد و بعد به منظور رسیدن به تراکم دلخواه پس از استقرار کامل بوته و در مرحله ۳-۴ برگگی تنک و براساس تراکم مورد نظر تنظیم شدند.

صفات مورد بررسی در مزرعه

صفات مورد بررسی در این پژوهش شامل درصد اسانس در دانه، عملکرد اسانس و اجزاء اسانس (درصد تیمول، درصد ترینولن و درصد پاراسیمن در اسانس) بودند. برای نمونه‌برداری و اندازه‌گیری ویژگی‌های مورد نظر پس از حذف اثر حاشیه هر کرت، از بوته‌های موجود در یک مترمربع استفاده گردید.

استخراج اسانس

استخراج اسانس به روش تقطیر با آب در سه تکرار انجام شد. نمونه‌های اسانس با اضافه نمودن مقدار کمی سولفات سدیم خشک، رطوبت‌گیری شدند و درصد اسانس در دانه محاسبه گردید. برای محاسبه عملکرد اسانس نیز از درصد اسانس و عملکرد دانه استفاده گردید. برای آنالیز اجزاء اسانس از دستگاه‌های GC و GC/MS استفاده شد. اسانس‌ها تا قبل از آنالیز توسط دستگاه‌های GC و GC/MS در شرایط خنک و تاریک داخل یخچال نگهداری شدند.

## نتایج

### درصد اسانس در دانه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) تأثیر تراکم بوته و کود زیستی فسفری و نیز اثر متقابل بین دو عامل بر روی درصد اسانس در دانه در سطح ۱٪ معنی دار گردید. مقایسه میانگین‌ها در بین سطوح تراکم بوته حکایت از آن داشت که اختلاف معنی داری در میان آنها وجود دارد، به نحوی که تراکم بوته ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار بیشترین درصد اسانس در دانه (۴/۱۱٪) را دارا بود و کمترین درصد اسانس نیز در تراکم بوته ۲۵۰۰۰۰ بوته در هکتار (۳/۲۵٪) مشاهده گردید (شکل ۱). همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین درصد اسانس در دانه در تیمار بذرمال و سرک (۴/۳۴٪) بدست آمد و کمترین درصد اسانس در دانه در تیمار شاهد (۳/۰۲٪) بدست آمد (شکل ۲). البته مقایسه میانگین اثر متقابل بین دو عامل مورد بررسی، تفاوت معنی داری را با هم نشان می‌دهند، به طوری که بیشترین درصد اسانس مربوط به تیمار تراکم ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار و استفاده همزمان کود زیستی فسفری به صورت بذرمال و محلول پاشی با میانگین ۵/۳۷٪ حاصل گردید. کمترین درصد اسانس مربوط به تراکم‌های ۲۵۰۰۰۰ بوته در هکتار و ۱۲۵۰۰۰ بوته در هکتار با عدم مصرف کود زیستی فسفری (شاهد) به ترتیب با میانگین ۲/۹۴٪ و ۲/۹۶٪ بود (شکل ۳).

### عملکرد اسانس

اطلاعات حاصل از تجزیه واریانس حکایت از آن داشت که تأثیر تراکم بوته و کود زیستی فسفری و نیز اثر متقابل بین این دو عامل بر روی عملکرد اسانس در سطح ۱٪ معنی دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین عملکرد اسانس ۱۶۱/۸۲ کیلوگرم در هکتار به تراکم بوته ۲۵۰۰۰۰ بوته در هکتار اختصاص دارد و کمترین عملکرد اسانس به تراکم بوته ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار (۱۰۴/۰۷ کیلوگرم در هکتار) مربوط می‌شود (شکل ۴). در ضمن بین تراکم‌های ۱۲۵۰۰۰ بوته در هکتار و ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار اختلاف معنی داری وجود نداشت. همچنین در خصوص کاربرد کود زیستی فسفری، مقایسه میانگین‌ها بیانگر آنست که مصرف همزمان کود زیستی فسفری به صورت بذرمال و محلول پاشی دارای بیشترین عملکرد اسانس (۱۴۳/۰۸ کیلوگرم در هکتار) بود و کمترین عملکرد

اسانس (۸۵/۷۷ کیلوگرم در هکتار) مربوط به سطح شاهد بود (شکل ۵).

مقایسه میانگین اثر متقابل بین دو عامل مورد بررسی، تفاوت معنی داری را با هم نشان می‌دهند، به طوری که در تراکم ۲۵۰۰۰۰ بوته در هکتار و با مصرف همزمان کود زیستی (بذرمال و محلول پاشی) بیشترین عملکرد اسانس با میانگین ۱۴۹/۵ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. در حالی که کمترین عملکرد اسانس مربوط به تراکم ۱۲۵۰۰۰ بوته در هکتار با عدم مصرف کود زیستی فسفری با میانگین ۸۳/۲ کیلوگرم در هکتار و تراکم ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار با عدم مصرف (شاهد) و مصرف به صورت محلول پاشی کود زیستی فسفاته بدست آمد که نشان‌دهنده اینست که این سه با هم دارای اختلاف معنی داری نیستند (شکل ۶).

### درصد تریپنولن در اسانس

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر عوامل تراکم و کود زیستی فسفری و اثر متقابل بین آنها در سطح ۱٪ بر درصد تریپنولن در اسانس معنی دار گردید. مقایسه میانگین بین سطوح تراکم دارای اختلاف معنی دار بودند، به طوری که بیشترین مقدار تریپنولن در اسانس مربوط به تراکم ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار (۴۴/۵٪) بود و کمترین مقدار تریپنولن در اسانس مربوط به تراکم ۱۲۵۰۰۰ بوته در هکتار (۳۵/۸٪) بود، در ضمن بین تراکم‌های ۱۲۵۰۰۰ بوته در هکتار و ۲۵۰۰۰۰ بوته در هکتار اختلاف معنی داری وجود نداشت (شکل ۷). مقایسه میانگین‌ها در بین سطوح کود زیستی فسفری نیز دارای اختلاف معنی داری بود. به طوری که بیشترین درصد تریپنولن (۴۱/۵٪) متعلق به تیمار بذرمال همراه با محلول پاشی پای بوته و کمترین درصد تریپنولن (۳۷/۱٪) متعلق به تیمار شاهد بود (شکل ۸).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های اثر متقابل سطوح مختلف تراکم و کود زیستی فسفری نشان داد که بیشترین درصد تریپنولن اسانس مربوط به تراکم ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار با مصرف کود زیستی فسفری به صورت بذرمال و مصرف همزمان (بذرمال و محلول پاشی) به ترتیب با میانگین ۴۷/۶۳٪ و ۴۹/۱۳٪ حاصل گردید که باهم دارای اختلاف معنی دار نیستند و کمترین آن مربوط به تراکم‌های ۲۵۰۰۰۰ بوته در هکتار و ۱۲۵۰۰۰ بوته در هکتار به ترتیب با مصرف

کمترین آن مربوط به تراکم ۲۵۰۰۰۰ بوته در هکتار با عدم مصرف کود زیستی فسفوری (شاهد) و همچنین در تراکم ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار به ترتیب با محلول پاشی و مصرف همزمان کود زیستی فسفوری بدست آمد (شکل ۱۲).

#### درصد پارا-سیمن در اسانس

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر عامل تراکم در سطح ۱٪ و اثر عامل کود زیستی فسفوری در سطح ۵٪ بر درصد پارا-سیمن در اسانس معنی دار گردید. همچنین اثر متقابل بین تراکم و کود زیستی فسفوری بر درصد پارا-سیمن در اسانس در سطح ۱٪ معنی دار گردید. مقایسه میانگین بین سطوح تراکم دارای اختلاف معنی داری بود. به طوری که بیشترین مقدار پارا-سیمن در اسانس مربوط به تراکم ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار (۲۳/۹٪) بود و کمترین مقدار پارا-سیمن در اسانس نیز مربوط به تراکم ۱۲۵۰۰۰ بوته در هکتار (۲۱/۱٪) بود (شکل ۱۳). مقایسه میانگین‌ها در بین سطوح کود زیستی فسفوری نیز دارای اختلاف معنی داری بود، به طوری که بیشترین درصد پارا-سیمن (۲۳/۳٪) متعلق به تیمار محلول پاشی پای بوته بود (شکل ۱۴).

کود زیستی فسفوری به صورت بذرمال و عدم مصرف بود که این دو هم با هم دارای اختلاف معنی دار نیستند (شکل ۹).

#### درصد تیمول در اسانس

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر عوامل تراکم و کود زیستی فسفوری و اثر متقابل بین آنها در سطح ۱٪ بر درصد تیمول در اسانس معنی دار گردید. مقایسه میانگین بین سطوح تراکم دارای اختلاف معنی داری بود، به طوری که بیشترین مقدار تیمول در اسانس مربوط به تراکم ۱۲۵۰۰۰ بوته در هکتار (۳۷/۴٪) و کمترین آن (۲۴/۸٪) متعلق به تراکم ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار بود (شکل ۱۰). مقایسه میانگین‌ها در بین سطوح کود زیستی فسفوری نیز دارای اختلاف معنی داری بود، به طوری که بیشترین درصد تیمول (۳۳/۹٪) متعلق به تیمار بذرمال بود (شکل ۱۱).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های اثر متقابل سطوح مختلف تراکم و کود زیستی فسفوری نشان داد که بالاترین درصد تیمول در تراکم ۲۵۰۰۰۰ بوته در هکتار و با مصرف همزمان کود زیستی فسفوری (بذرمال و محلول پاشی) و همچنین در تراکم ۱۲۵۰۰۰ بوته در هکتار و تیمار عدم مصرف و تیمار بذرمال کود زیستی فسفوری بدست آمد.

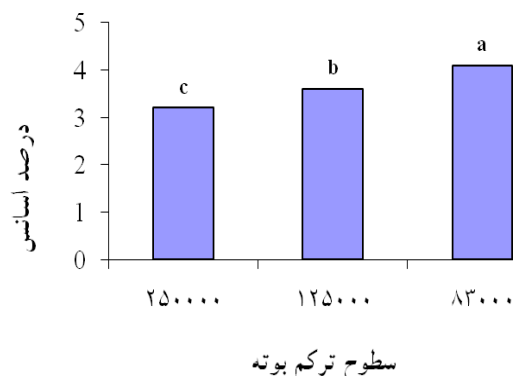
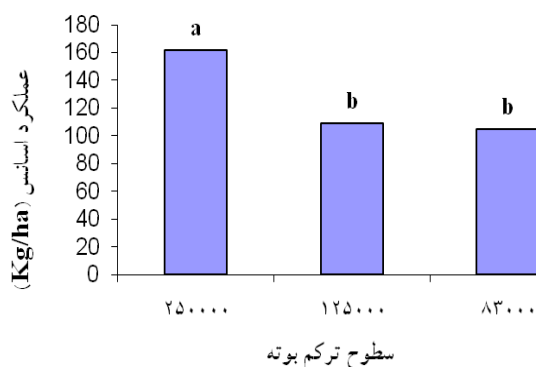
جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Ma mgkg <sup>-1</sup>	Cu mgkg <sup>-1</sup>	Zn mgkg <sup>-1</sup>	Fe mgkg <sup>-1</sup>	K(ava)	P(ava)	%total N	O.C	%T.N. V	pH	dsm <sup>-1</sup>	S.P	بافت لومی شنی	B mgkg <sup>-1</sup>
۸/۹	۰/۷۴	۰/۷	۴/۵	۳۰۰	۲	۰/۰۳۵	۰/۳۶	۴	۷/۷	۲/۰۴	۲۶		۱/۰۵

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی

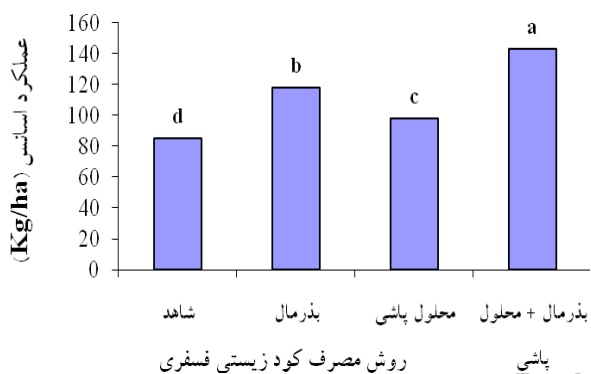
میانگین مربعات (ms)					درجه آزادی	صفات
پارا-سیمن اسانس %	تریپنولن اسانس %	تیمول اسانس %	عملکرد اسانس	درصد اسانس		
۰/۰۴ ns	۰/۴۶ ns	۰/۰۸ ns	۳۶/۰۶ ns	۰/۰۶۹ ns	df = ۲	تکرار
۲۳/۲۸ **	۲۵۶/۷۷ **	۴۸۳/۳۸ **	۹۹۳/۵ **	۲/۴۱ **	df = ۲	تراکم
۲/۱۰ *	۳۲/۵۴ **	۳۴/۴۶ **	۵۶۵/۰۶ **	۳/۰۸ **	df = ۳	کود زیستی فسفوری
۱۴/۳۴ **	۸۴/۳۱ **	۱۶۲/۵۸ **	۲۱۱/۲۹ **	۰/۴۳ **	df = ۶	تراکم × کود زیستی فسفوری
۰/۴۵	۴/۸۵	۱/۰۷	۴۲/۴۲	۰/۰۲	df = ۲۲	خط
%۲/۹۸	%۵/۶۲	%۳/۲۶	%۵/۸۶	%۴/۶۷		c.v

ns, \*, \*\*, به ترتیب بیانگر عدم تفاوت معنی دار و معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪ می باشد.



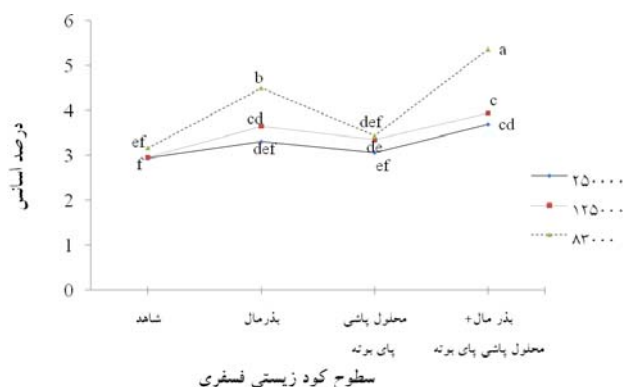
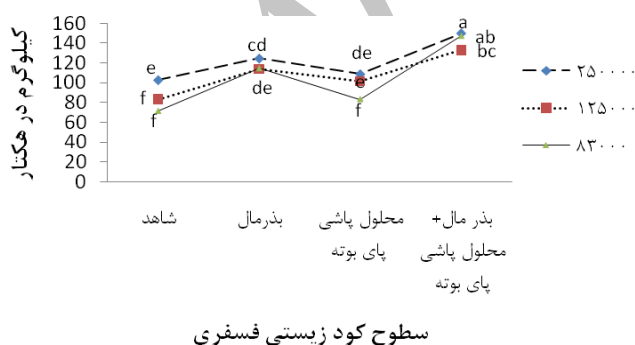
شکل ۴- مقایسه میانگین اثر سطوح تراکم بر عملکرد اسانس براساس آزمون دانکن ۵٪

شکل ۱- مقایسه میانگین اثر تراکم بر درصد اسانس براساس آزمون دانکن ۵٪



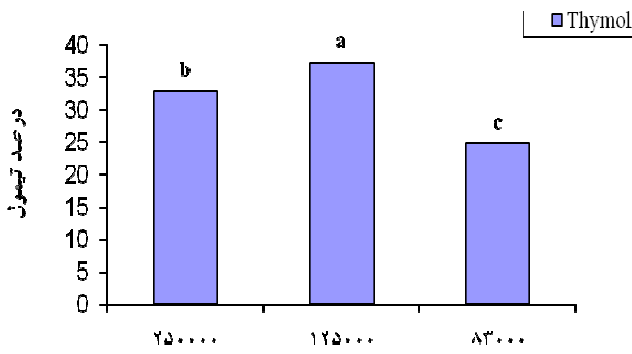
شکل ۵- مقایسه میانگین اثر روش مصرف کود زیستی فسفری بر عملکرد اسانس براساس آزمون دانکن ۵٪

شکل ۲- مقایسه میانگین اثر روش مصرف کود زیستی فسفری بر درصد اسانس براساس آزمون دانکن ۵٪

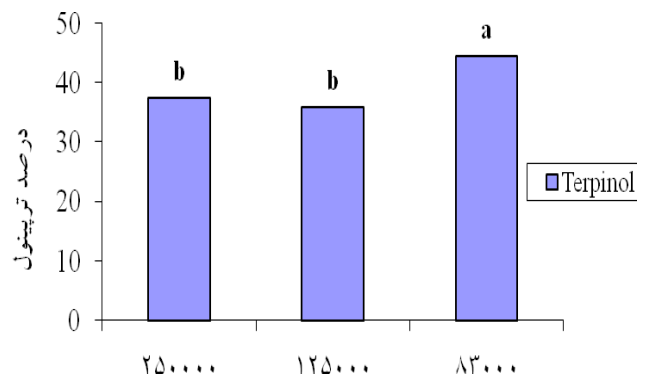


شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل تراکم در کود زیستی فسفری بر عملکرد اسانس براساس آزمون دانکن ۵٪

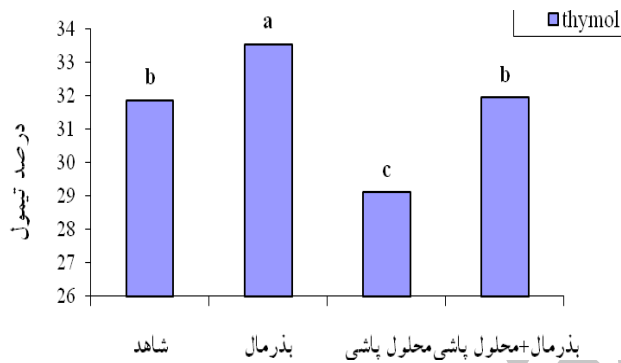
شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تراکم در کود زیستی فسفری بر درصد اسانس براساس آزمون دانکن ۵٪



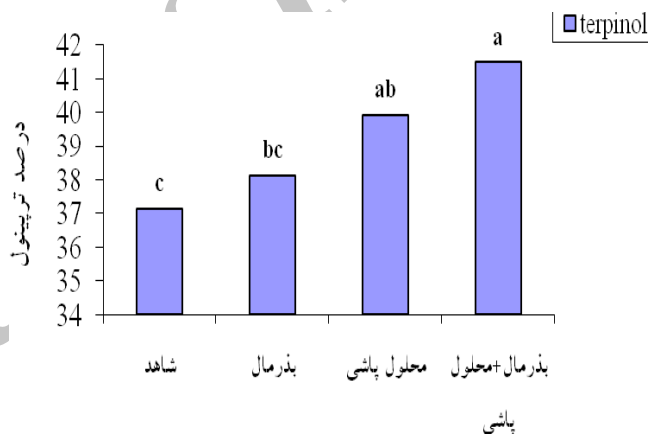
شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر تراکم بر درصد تیمول براساس آزمون دانکن ۵٪



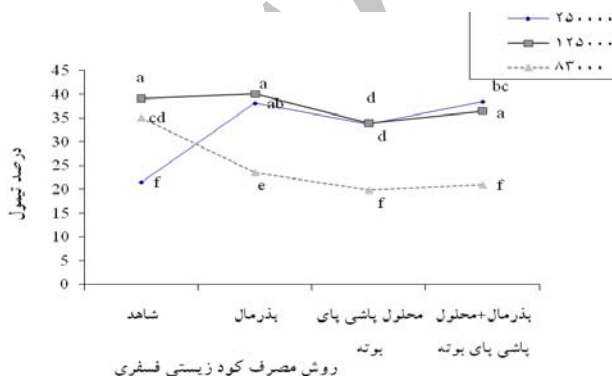
شکل ۷- مقایسه میانگین اثر تراکم بر درصد ترپینول براساس آزمون دانکن ۵٪



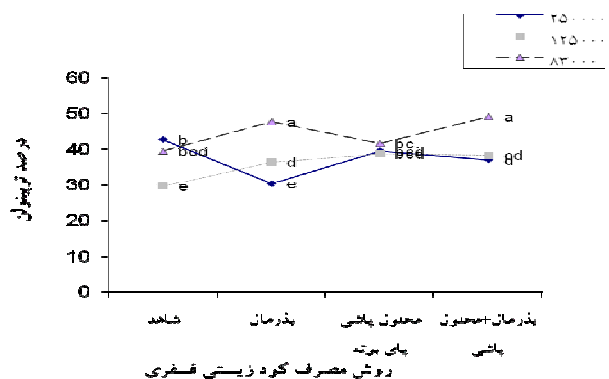
شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر کود زیستی فسفری بر درصد تیمول براساس آزمون دانکن ۵٪



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر روش مصرف کود زیستی فسفری بر درصد ترپینول براساس آزمون دانکن ۵٪



شکل ۱۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تراکم در کود زیستی فسفری بر درصد تیمول براساس آزمون دانکن ۵٪



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر متقابل تراکم در کود زیستی فسفری بر درصد ترپینول براساس آزمون دانکن ۵٪

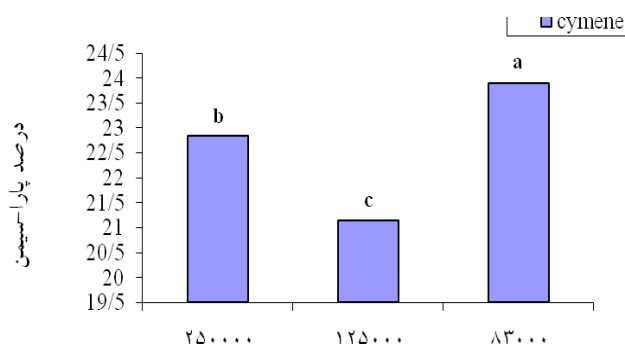


مصرف کود زیستی فسفری به صورت محلول پاشی و همچنین در تراکم ۲۵۰۰۰۰ بوته در هکتار و تیمار عدم مصرف کود زیستی فسفری (شاهد) بدست آمد. کمترین آن مربوط به تراکم ۱۲۵۰۰۰ بوته در هکتار با تیمارهای عدم مصرف کود زیستی فسفری (شاهد) و بذرمال و همچنین مصرف همزمان کود زیستی فسفری (بذرمال و محلول پاشی) بدست آمد (شکل ۱۵)

**بحث**

در مورد اثر تراکم بر درصد اسانس دانه به نظر می رسد که در اختیار بودن فضای کافی برای گیاه زنیان، موجب دسترسی بهتر آن به عوامل محیطی نظیر آب و عناصر غذایی گردیده که این موضوع سبب بهبود زیست توده گیاه و متعاقب آن افزایش درصد اسانس در دانه می گردد. گزارشهای متعددی حکایت از تأثیر تراکم بر میزان ماده مؤثره گیاهان دارویی دارد (Shalaby & Ghosh et al., 1981; Razin, 1994). برومند رضازاده (۱۳۸۴) با بررسی اثر تراکم بر خصوصیات مورفولوژیک و درصد اسانس گیاه دارویی زنیان (*Trachyspermum copticum*)، به این نتیجه رسید که تأثیر تراکم بوته بر درصد اسانس معنی دار است. Bali و همکاران (۱۹۹۲) تأثیر فاصله ردیف را بر درصد اسانس گیاه شوید (*Anethum graveolens*) مطالعه کرده و مشاهده نمودند که فاصله ردیف اثر معنی داری بر درصد اسانس بذر نداشت. Bist و همکاران (۲۰۰۰) در پژوهش خود عنوان کردند که تراکم کم بوته (۲۰ × ۵۰) در مقایسه با تراکم زیاد بوته (۲۰ × ۲۵) در گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens*) موجب افزایش میزان اسانس گردید که با نتیجه تحقیق حاضر هماهنگی دارد.

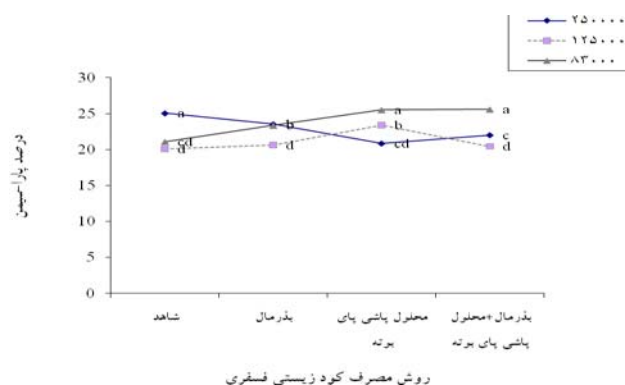
در مورد اثر کود فسفات زیستی بر درصد اسانس دانه از آنجایی که عنصر فسفر نقش اساسی در ساخت اجزاء تشکیل دهنده اسانس دارد، بنابراین می توان انتظار داشت که مصرف همزمان کود زیستی فسفری از طریق فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه به ویژه فسفر موجب بهبود میزان اسانس گردد. یافته های Darzi و همکاران (۲۰۰۶) نیز نشان داد که کاربرد کود زیستی فسفری بیشترین درصد اسانس دانه را در گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) در پی داشته است. همچنین طبق تحقیق دیگری که در مورد تأثیر ریزجانداران و کمپوست بر روی نعناع (*Mentha arvensis*)



شکل ۱۳- مقایسه میانگین اثر تراکم بر درصد پارا-سیمن براساس آزمون دانکن ۵٪



شکل ۱۴- مقایسه میانگین اثر کود زیستی فسفری بر درصد پارا-سیمن براساس آزمون دانکن ۵٪



شکل ۱۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تراکم در کود زیستی فسفری بر درصد پارا-سیمن براساس آزمون دانکن ۵٪

نتایج حاصل از مقایسه میانگین های اثر متقابل سطوح مختلف تراکم و کود زیستی فسفری نشان داد که بالاترین درصد پارا-سیمن در تراکم ۸۳۰۰۰ بوته در هکتار و با

انجام شد، مشاهده گردید که درصد اسانس افزایش معنی داری در مقایسه با تیمار شاهد یافت و این اثر افزایشی به افزایش تعداد غدد ترشحاتی اسانس ربط داده شد (Kumar & Singh, 2001). توکلی صابری (۱۳۶۶) نیز در پژوهش خود بر روی گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens*) به نتایج مشابهی دست یافت.

در مورد تیمارهای اثر متقابل کود زیستی فسفری و تراکم با کاهش تراکم و با مصرف همزمان کود زیستی فسفری به صورت بذرمال و محلول پاشی درصد اسانس افزایش یافت، در صورتی که با افزایش تراکم و استفاده جداگانه و یا بدون استفاده از کودهای زیستی فسفری درصد اسانس کاهش یافت. بنابراین می توان نتیجه گرفت که یکی از عوامل مهم تأثیرگذار بر درصد اسانس تراکم بوته در واحد سطح است که در تراکم پایین، بوته ها در رقابت کمتری برای منابع مورد نیاز خود هستند و می توانند بالاترین قابلیت تولیدی خود را بروز دهند؛ و از طرفی نقش فسفر در افزایش سنتز ترکیب های ثانویه توسط گیاه حیاتی می باشد و بالاترین درصد اسانس در نتیجه بیشترین میزان مصرف عنصر فسفر در مصرف همزمان آن (بذرمال و محلول پاشی) بدست آمد.

در رابطه با تأثیر تراکم بر عملکرد اسانس، هر چند درصد اسانس در تراکم بالاتر کاهش پیدا کرد اما افزایش عملکرد دانه در تراکم های بالاتر این کاهش را جبران نمود. بر همین اساس نقدی بادی و همکاران (۱۳۸۱)، در آزمایش خود در رابطه با اثر فاصله ردیف بر روی گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgairis*) مشاهده کردند که با کاهش فاصله ردیف و افزایش تراکم بوته، عملکرد اسانس افزایش پیدا کرد. همچنین Bali و همکاران (۱۹۹۲) تأثیر فاصله ردیف را بر گیاه شوید (*Anethum graveolens*) مطالعه کرده و مشاهده نمودند که افزایش تراکم باعث افزایش عملکرد اسانس شد. در تحقیقی دیگر که توسط Shalaby و Razin (۱۹۹۴) بر روی آویشن (*Thymus vulgairis*) انجام شد، مشخص شد که فواصل بوته کمتر به طور معنی داری سبب افزایش میزان عملکرد اسانس در واحد سطح گردید.

در رابطه با اثر متقابل کود زیستی فسفری و تراکم بر عملکرد اسانس نتایج بدست آمده نشان داد که با بیشترین سطح استفاده از کود زیستی فسفری به صورت مصرف همزمان (بذرمال و محلول پاشی) بالاترین عملکرد اسانس حاصل شد و از طرفی با کاهش تراکم، عملکرد اسانس کاهش یافت. بنابراین می توان نتیجه گرفت، با توجه به نتایج بدست آمده در رابطه با عملکرد دانه، که بیشترین آن در تراکم بالا حاصل گردید و بالاترین عملکرد اسانس نیز مربوط به این تراکم بود؛ که نشان دهنده این است که بین عملکرد دانه و عملکرد اسانس همبستگی مثبتی وجود داشت. زیرا عملکرد اسانس حاصل ضرب عملکرد دانه و میزان اسانس است.

در رابطه با اثر تراکم بر درصد ترپینولن اسانس باید توجه داشت به علت افزایش تنفس گیاهی در تراکم های بالاتر ذخیره سازی مواد فتوسنتزی کاهش یافته اما در تراکم

در مورد تیمارهای اثر متقابل کود زیستی فسفری و تراکم با کاهش تراکم و با مصرف همزمان کود زیستی فسفری به صورت بذرمال و محلول پاشی درصد اسانس افزایش یافت، در صورتی که با افزایش تراکم و استفاده جداگانه و یا بدون استفاده از کودهای زیستی فسفری درصد اسانس کاهش یافت. بنابراین می توان نتیجه گرفت که یکی از عوامل مهم تأثیرگذار بر درصد اسانس تراکم بوته در واحد سطح است که در تراکم پایین، بوته ها در رقابت کمتری برای منابع مورد نیاز خود هستند و می توانند بالاترین قابلیت تولیدی خود را بروز دهند؛ و از طرفی نقش فسفر در افزایش سنتز ترکیب های ثانویه توسط گیاه حیاتی می باشد و بالاترین درصد اسانس در نتیجه بیشترین میزان مصرف عنصر فسفر در مصرف همزمان آن (بذرمال و محلول پاشی) بدست آمد.

در رابطه با تأثیر تراکم بر عملکرد اسانس، هر چند درصد اسانس در تراکم بالاتر کاهش پیدا کرد اما افزایش عملکرد دانه در تراکم های بالاتر این کاهش را جبران نمود. بر همین اساس نقدی بادی و همکاران (۱۳۸۱)، در آزمایش خود در رابطه با اثر فاصله ردیف بر روی گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgairis*) مشاهده کردند که با کاهش فاصله ردیف و افزایش تراکم بوته، عملکرد اسانس افزایش پیدا کرد. همچنین Bali و همکاران (۱۹۹۲) تأثیر فاصله ردیف را بر گیاه شوید (*Anethum graveolens*) مطالعه کرده و مشاهده نمودند که افزایش تراکم باعث افزایش عملکرد اسانس شد. در تحقیقی دیگر که توسط Shalaby و Razin (۱۹۹۴) بر روی آویشن (*Thymus vulgairis*) انجام شد، مشخص شد که فواصل بوته کمتر به طور معنی داری سبب افزایش میزان عملکرد اسانس در واحد سطح گردید.

در رابطه با تأثیر کود زیستی فسفری بر عملکرد اسانس، از آنجایی که اسانس ها ترکیب های ترپنوییدی بوده که واحدهای سازنده آنها نظیر ایزوپنتیل پیروفسفات و دی متیل

این گیاه دارویی شده است. لازم به تذکر است که در بحث تولید گیاهان دارویی، ارزش واقعی به کیفیت محصول یعنی میزان ماده مؤثر داده می‌شود و در تحقیقاتی هم که با استفاده از کودهای زیستی فسفری در این زمینه بعمل آمده نیز مشاهده شده که حداکثر ماده مؤثره در چنین شرایطی حاصل می‌شود (Adams, 1989؛ Kapoor et al., 2002؛ Ratti et al., 2001). در همین رابطه در پژوهشی که بر روی گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) انجام شد، مشاهده گردید که کاربرد کود زیستی فسفری موجب بهبود کمیّت و کیفیت اسانس رازیانه (*Foeniculum vulgare*) در مقایسه با تیمار شاهد گردید، به طوری که باعث افزایش درصد آنتول در اسانس بیشتر از تیمار شاهد بود (Darzi و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین Ratti و همکاران (۲۰۰۱) بیان داشت که مصرف باکتریهای حل‌کننده فسفات روی علف لیمو (*Cymbopogon martini*) موجب شد که درصد ژرانیول در اسانس در حدود ۲۷/۶٪ بیشتر از تیمار شاهد شود.

در رابطه با اثر تراکم بر درصد تیمول اسانس باز هم باید توجه داشت که به علت افزایش تنفس گیاهی در تراکم‌های بالاتر ذخیره‌سازی مواد فتوسنتزی کاهش یافته اما در تراکم پایین‌تر، فضا، آب و عناصر غذایی بیشتری در اختیار هر بوته قرار گرفته و به علت کاهش تراکم و افزایش فاصله بین بوته‌ها، رقابت کاهش یافته است و بازدهی مصرف نور خورشید افزایش یافته و گیاه امکان رشد بیشتری را پیدا کرده است. در همین رابطه نتایج تحقیق Morteza و همکاران (۲۰۰۹) بر روی گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgairis*) (تیمول اسانس) با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

در رابطه با اثر کود زیستی فسفری بر درصد تیمول اسانس در پژوهشی که بر روی گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) انجام شد، مشاهده گردید که کاربرد کود زیستی فسفات موجب بهبود کمیّت و کیفیت اسانس رازیانه در مقایسه با تیمار شاهد گردید؛ به طوری که باعث افزایش درصد آنتول در اسانس در مقایسه با تیمار شاهد شد (Darzi و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین در پژوهشی که توسط Ratti و همکاران (۲۰۰۱) روی علف لیمو (*Cymbopogon martini*) انجام شد، مشاهده گردید که کیفیت اسانس نیز در اثر مصرف باکتریهای حل‌کننده فسفات بهبود یافت، به نحوی که درصد ژرانیول در اسانس در حدود

پایین‌تر، فضا، آب و عناصر غذایی بیشتری در اختیار بوته قرار گرفته و به علت کاهش تراکم و افزایش فاصله بین بوته‌ها، رقابت کاهش یافته است و بازدهی مصرف نور خورشید افزایش یافته و گیاه امکان رشد بیشتری را پیدا کرده است. بر طبق بررسی Letchamo و همکاران (۱۹۹۵) بیوسنتز اسانس گیاهان دارویی به رژیم‌های نوری و تنفس کمتر گیاه بستگی دارد، همچنین Morteza و همکاران (۲۰۰۹) در تحقیقی روی سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis*) نتیجه گرفتند که با کاهش تراکم ترکیب‌های بورنیل‌استات، والرانال و کامفن روند افزایشی پیدا کردند.

در رابطه با اثر کود زیستی فسفری بر درصد ترینولن اسانس در بسیاری از پژوهش‌های مرتبط با کشاورزی پایدار مشاهده می‌شود که مصرف کودهای زیستی و آلی در گیاهان دارویی اسانس‌دار ضمن افزایشی که در برخی از اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس ایجاد می‌کند، سبب کاهش در بعضی از ترکیب‌های اسانس نیز می‌شود (اکبری‌نیا و فرج‌الهی، ۱۳۸۰؛ Kapoor et al., 2002). گیاه دارویی زنیان (*Trachyspermum copticum*) نیز از این لحاظ مستثنی نیست (Kapoor et al., 2004) و این موضوع به وضوح در نتیجه تحقیق حاضر در خصوص کاهش میزان ترینولن در اسانس در صورت کاربرد تیمارهای مطلوب کود زیستی فسفری نیز ملاحظه می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد که حضور باکتری حل‌کننده فسفات در بستر کشت می‌تواند سبب بهبود فعالیت این باکتری و سایر ریزجانداران شود و متعاقب آن دسترسی گیاه زنیان (*Trachyspermum copticum*) به فسفر را افزایش دهد و از آنجا که فسفر یکی از عناصر سازنده ترکیب‌های اولیه اسانس می‌باشد، بنابراین مشارکت این کود زیستی فسفری می‌تواند به بهبود بیشتر میزان اسانس نیز منجر شود. نتیجه تحقیق Kumar و Singh (۲۰۰۱) نیز مؤید همین مطلب است. همچنین به نظر می‌رسد که حضور کود زیستی فسفری می‌تواند یک اثر تشدیدکننده بر میزان اسانس در دانه زنیان (*Trachyspermum copticum*) داشته باشد. نتیجه پژوهش Ratti و همکاران (۲۰۰۱) بر روی گیاه دارویی علف لیمو (*Cymbopogon martini*) نیز بیانگر آن بود که کاربرد همزمان قارچ میکوریزا و باکتری حل‌کننده فسفات همراه با سنگ فسفات، موجب یک اثر هم‌افزایی روی فعالیت هر دو ریزجاندار می‌شود، به نحوی که سبب تقویت و تشدید میزان اسانس در

### سپاسگزاری

بدین وسیله از رئیس و کلیه کارکنان مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، به ویژه بخش گیاهان دارویی و نیز مؤسسه تحقیقات خاک و آب و دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن که صمیمانه ما را در انجام این تحقیق یاری نموده‌اند، تشکر می‌نماییم.

### منابع مورد استفاده

- آستارایی، ع. و کوچکی، ع. ۱۳۷۵. کاربرد کودهای بیولوژیکی در کشاورزی پایدار (ترجمه). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۱۶۸ صفحه.
- اکبری‌نیا، ا. و فرج‌الهی، ا. ۱۳۸۰. بررسی مراحل فنولوژیکی تعدادی از گیاهان دارویی در شرایط قزوین. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۸: ۱۷-۲۵.
- برومند رضازاده، ز. ۱۳۸۴. اثر تاریخ کاشت و تراکم گیاهی بر خصوصیات مرفولوژیک و درصد اسانس گیاه دارویی زنیان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- توکلی صابری، م. ۱۳۶۶. گیاهان دارویی. انتشارات روزبهان، ۲۳۷ صفحه.
- حاج سیدهادی، س.م.، خدابنده، ن.، درزی، م.ت. و یاسا، ن. ۱۳۸۰. بررسی اثرات زمان کاشت و تراکم گیاه بر روی مقدار اسانس و کامازولن در گیاه دارویی بابونه. همایش ملی گیاهان دارویی ایران، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، ۲۶-۲۴ بهمن: ۱۱۹.
- صالح راستین، ن. ۱۳۸۰. کودهای بیولوژیک و نقش آنها در راستای نیل به کشاورزی پایدار: ۵۴-۱. در: خاوازی، ک. و ملکوتی، م.ج.، (تدوین و تألیف). ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور: مجموعه مقالات. نشر آموزش کشاورزی، ۶۱۰ صفحه.
- نقدی‌بادی، ح.، یزدانی، د.، نظری، ف. و ساجد، م.ع. ۱۳۸۱. تغییرات فصلی عملکرد و ترکیبات اسانس آویشن در تراکم‌های مختلف کاشت. گیاهان دارویی، ۵: ۵۶-۵۱.
- Abdelaziz, M.E., Hanafy Ahmad, A.H. Shaaban, M.M. and Pokluda, R., 2005. Fresh weight and yield of lettuce as affected by organic manure and biofertilizers. Conference of Organic Farming, Czech University Agriculture, Czech Republic, 25-29 July: 212-214.

۲۷/۶٪ بیشتر از تیمار شاهد بود. همچنین Ratti و همکاران (۲۰۰۱) بیان داشتند که کاربرد باکتریهای حل‌کننده فسفات روی علف لیمو (*Cymbopogon martini*) موجب تغییر در اجزای تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه شد، به طوری که در برابر افزایشی که در میزان ژرانیول در اسانس صورت گرفت، چندین ترکیب دیگر مهم از جمله لیمونن کاهش یافت.

در رابطه با اثر تراکم بر درصد پارا-سیمن اسانس، Pop و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که بیشترین میزان پلی‌فنول‌ها در گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*) در پایین‌ترین سطح تراکم (۳۰ بوته در مترمربع) حاصل می‌شود. در رابطه با اثر کود زیستی فسفوری بر درصد پارا-سیمن اسانس در این پژوهش، بهبود کیفیت اسانس به افزایش ترکیب‌های مهمی نظیر ترپینولن تیمول نسبت داده شد. در خصوص تأثیر ریزجانداران حل‌کننده فسفات بر روی میزان پارا-سیمن در اسانس، پژوهشی بر روی گیاه دارویی زنیان (*Trachyspermum copticum*) انجام نشده‌است، اما در تحقیقی که به منظور بررسی اثر باکتریهای حل‌کننده فسفات بر روی کیفیت اسانس گیاه دارویی علف لیمو (*Cymbopogon martini*) انجام شد، Ratti و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که کاربرد یک گونه از باکتری حل‌کننده فسفات به نام *Bacillus polymyxa* همراه با مصرف یک نوع فسفات معدنی غیرمعلول به نام تری‌کلسیم فسفات، باعث بهبود کیفیت اسانس شد، به نحوی که درصد ژرانیول در اسانس بیشتر از تیمار شاهد بود. نتایج بدست آمده از مقایسه بین تیمارهای کود زیستی فسفوری و شاهد مؤید اینست که کاربرد تیمارهای مطلوب کود زیستی فسفوری، می‌تواند عناصر غذایی لازم (پرمصرف و کم‌مصرف) را در مراحل مختلف رشد در اختیار گیاه زنیان (*Trachyspermum copticum*) قرار دهد و منجر به افزایش کیفیت اسانس شود. سایر محققان نیز بهبود در کیفیت اسانس گیاهان دارویی را به کمک مصرف کودهای زیستی و آلی تأیید می‌نمایند (Kapoor et al., 2004). همچنین با بهبود بارزی که در میزان ترپینولن در اسانس در تیمارهای مطلوب کود زیستی فسفوری مشاهده شد، قابل انتظار بود که ما شاهد کاهش برخی از ترکیب‌های اسانس نظیر میزان پارا-سیمن در تیمارهای یاد شده نسبت به تیمار شاهد نیز باشیم.

- Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K.G., 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill. on mycorrhizal inoculation supplemented with p-fertilizer. *Bioresource Technology*, 93(3): 307-311.
- Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K.G., 2002. *Glomus macrocarpum*: a potential bioinoculant to improve essential oil quality and concentration in dill (*Anethum graveolens* L.) and carum (*Trachyspermum ammi* (Linn.) Sprague). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18(5): 459-463.
- Kumar, V. and Singh, K.P., 2001. Enriching vermicompost by nitrogen fixing and phosphate solubilizing microorganisms. *Bioresource Technology*, 76(2): 173-175.
- Letchamo, W., Xu, H.L. and Gosselin, A., 1995. Photosynthetic potential of *Thymus vulgaris* selections under two light regimes and three soil water levels. *Scientia Horticulturae*, 62: 89-101.
- Mahfouz, S.A and Sharaf-Eldin, M.A., 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysics*, 21(4): 361-366.
- Morteza, E., Akbari, GH.A., Modares Sanavi, S.A.M., Foghi, B., Abdoli, M. and Aliabadi Farahani, H., 2009. The effect of sowing date and planting density on the essential oil content and composition of *Valeriana officinalis* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25(2): 272-282.
- Narula, N., Kumar, V. and Behl, R.K., 2001. Effect of phosphate solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* on yield traits and their survival in the rhizosphere of wheat genotypes under field conditions. *Acta Agronomica Hungarica*, 49(2): 141-149.
- Pop, G., Pirsan, P., Mateoc-sirb, N. and Mateoc, T., 2007. Influence of technological elements on yield quantity and quality in marigold (*Calendula officinalis* L.) cultivated in conditions of Timisoara. 1st international Scientific Conference on Medicinal, Aromatic and Spice Plants, Nitra, Slovakia, 5-6 December: 20-23.
- Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N. and Gutam, S.P., 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. motia by rhizobacteria, AMF and *Azospirillum* inoculation. *Microbiological Research*, 156(2): 145-149.
- Shalaby, A.S. and Razin, A.M., 1994. Dense cultivation and fertilization for higher yield of thyme (*Thymus vulgaris*). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 168(4): 243-248.
- Shibamoto, T., 1987. Retention indices in Essential oil analysis: 259-274. In: Sandra, P. and Bicchi, C., (Eds.). *Capillary Gas Chromatography in Essential Oils Analysis*. Dr. Alferd Huethig Verlag, New York, 435p.
- Adams, R.P., 1989. *Identification of Essential Oils by ion Trap Mass Spectroscopy*. Academic Press, New York, 302p.
- Bali, A.S., Sidhu, B.S. and G.S. Randhawa, 1992. Effect of row spacing and nitrogen on nitrogen uptake, content and quality of dill (*Anethum graveolens*). *Indian Journal of Agronomy*, 37(3): 633-634.
- Bhati, D.S., 1988. Effect of nitrogen application and row spacing on coriander (*Coriandrum sativum* L.) production under irrigated condition in semi arid Rajasthan. *Indian journal of Agriculture science*, 58(7): 568-569.
- Bist, L.D. Kewalanand, P.C.S. and Sobaran, S., 2000. Effect of planting geometry and N levels on growth, yield and quality of European dill (*Anethum graveolens* Linn.). *Indian Journal of Horticulture*, 57(4): 351-355.
- Darzi, M.T., Ghalavand, A., Rejali, F. and Sefidkon, F., 2006. Effects of Biofertilizers Application on Yield and Yield Components in Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 22(4): 276-292.
- Darzi, M.T., Ghalavand, A. and Rejali, F., 2009. The effects of biofertilizers application on N, P, K assimilation and seed yield in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25(1): 1-19.
- Davies, N.W., 1990. Gas chromatographic retention index of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and carbowax 20M phases. *Journal of Chromatography A*, 503: 1-24.
- Ghosh, D., Roy, K. and Malik, S.C., 1981. Effect of fertilizers and spacing on yield and others characters of black cummin (*Nigella sativa* L.) West Bengal. *Indian agriculturist*, 5(3): 191-197.
- Gupta, M.L., 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 crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technology*, 81: 77-79.
- Gyneshwar, P., Naresh Kumar, G., Parekh, L.J. and Poole, P.S., 2002. Role of soil microorganisms in improving nutrition of plants. *Plant and Soil*, 245: 83-93.
- Hazarika, D.K., Taluk Dar, N.C., Phookan, A.K., saikia, U.N., Das, B.C. and Deka, P.C., 2000. Influence of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate solubilizing bacteria on nursery establishment and growth of tea seedling in Assam. Symposium no. 12, Assam Agricultural University, Jorhat-Assam, India, 5-7 November: 241.

## Biological effects of phosphorus fertilizer application and plant density on the quantity and quality of medicinal plant essential oils in Ajowan (*Trachyspermum copticum* L.)

A. Nikoupour<sup>1\*</sup>, K. Jaimand<sup>2</sup>, M.T. Darzi<sup>3</sup> and F. Rejali<sup>4</sup>

1\*- Corresponding author, MSc. Student, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Roudehen Branch, Iran

E-mail: Abbas\_Nikoupour@yahoo.com

2- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

3- Department of Agronomy, Islamic Azad University, Roudehen Branch, Iran

4- Research Institute of Soil and Water, Karaj, Iran

Received: January 2012

Accepted: January 2013

Revised: February 2013

### Abstract

In order to evaluate the performance of biological phosphorus fertilizer and plant density on the quantity and quality of essential oils in Ajowan (*Trachyspermum copticum* L.), this research was performed as a two factors factorial experiment in a randomized complete block design with three replications at the research field of the Research Institute of Forests and Rangelands in spring 2010. The treatments consisted of four levels of the phosphorus bio-fertilizer (Control (non-inoculated) seed soaked with liquid fertilizer, soluble fertilizer to the plants and seed soaked with liquid fertilizer & soluble fertilizer to the plants) and three levels of density (250000, 125000, 83000 plants per hectare). The studied characteristics included essential oil percentage, oil yield, percentage of thymol, terpinolene and p-cymene were in volatil oils. Results showed that the effect of bio-fertilizer phosphorus on the studied characteristics were significant at 1% , so that the highest amounts of oil percentage (4.34%) and oil yield (143.12 kg per hectare) were obtained in double inoculation treatment (seed soaked with liquid fertilizer & soluble fertilizer to the plants). In addition, the highest percentages of thymol (33.9%), terpinolene (41.5%), and p-cymene (23.3%) were obtained in the treatments of seed soaked with liquid fertilizer, double inoculation treatment, and soluble fertilizer, respectively. The effect of plant density on the studied characteristics was significant at 1% level of significance, so that the highest amounts of oil percentage (4.1%), oil yield (104.07 kg ha<sup>-1</sup>), thymol (37.4%), terpinolene (44.5%) and p-cymene (23.9%) were obtained in plant density treatments of 83000, 250000, 125000, and 83000 plants per hectare, respectively. However, significant interaction effects were also observed on oil percentage (5.37%), oil yield (149.5 kg per hectare), percentage of thymol (40%), percentage of terpinolene (49.1%) and percentage of para-cymene (25.6%).

**Key words:** Ajowan (*Trachyspermum copticum* L.), biological phosphorus fertilizer, plant density, essential oil, thymol.