

تأثیر کودهای مختلف و تلفیق آنها بر برخی خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی ماریتیغال (Silybum marianum L.)

هوشنگ یادگاری^{۱*}، عیسی خمری^۲، محمد سالاری^۳، براتعلی فاخری^۴، مریم رحیمی^۴ و فاطمه بیدرنامنی^۵

^۱* - نویسنده مسئول، دانشآموخته کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران
پست الکترونیک: yadegari.hooshang@yahoo.com

۲- استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

۳- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

۴- مریبی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

۵- مریبی، پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۵

تاریخ اصلاح نهایی: فروردین ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۴

چکیده

ماریتیغال (Silybum marianum L.) گیاهی است یکساله، از خانواده گل ستاره‌ای‌ها که خاک‌های سبک و حاصلخیز را ترجیح می‌دهد. مهمترین ترکیبی که از دانه‌های این گیاه استخراج می‌شود سیلیمارین نام دارد که در درمان امراض کبدی، هپاتیت، سیروز کبدی و پیشگیری از سرطان کبد کاربرد دارد. در سیستم‌های کشاورزی متداول هدف استفاده از کودهای مختلف و تلفیق آنها، بدست آوردن بیشترین عملکرد دانه و کیفیت مواد مؤثره است. بهمنظور بررسی تأثیر کودهای مختلف و تلفیق آنها بر برخی خصوصیات کمی و کیفی ماریتیغال، در سال زراعی ۱۳۹۲-۱۳۹۳ طرح کرت‌های خرد شده در پایه طرح بلوك‌های کامل تصادفی با سه تکرار و در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل اجرا شد. در این تحقیق عامل اصلی شامل ژنتوتیپ مجارستان (A₁) و توده مشهدی (A₂) و عامل فرعی شامل کاربرد کودهای مختلف مانند تیمار شاهد، کود دامی، کود شیمیایی (اوره+فسفات آمونیوم+سولفات پتاسیم)، قارچ میکوریزا گلوموس موسه آ (Glomus mosseae)، ترکیب نیتروکسین، بیوسولفور و بیوسوپر فسفات، ترکیب کود شیمیایی و کود دامی، ترکیب قارچ میکوریزا و کود دامی و کود نانو کلات آهن بود. نتایج نشان داد، بین ژنتوتیپ مجارستان و توده مشهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در مجموع قارچ میکوریزا گلوموس موسه آ (Glomus mosseae) بهترین تیمار در بین تیمارهای کودی در گیاه ماریتیغال بود و موجب افزایش رشد و فعالیت بهتر رنگریزه‌های فتوسنتزی گردید، همچنین باعث بهبود عملکرد دانه و افزایش سیلیمارین گیاه ماریتیغال شد.

واژه‌های کلیدی: سیلیمارین، کود دامی، کود شیمیایی، ماریتیغال (Silybum marianum L.), میکوریزا.

مقدمه

اغلب نواحی اروپا و آسیا، آمریکا، مناطق مدیترانه‌ای و بسیاری از نقاط ایران می‌روید (Ebdali- Omidbeigi, 2011; Shokrpour et al., 2007; mashhadi et al., 2008 دوره رویش به آب و هوای گرم، مرطوب و آفتابی نیاز دارد

ماریتیغال (Silybum marianum L.), متعلق به خانواده گل ستاره‌ای‌ها، گیاهیست یکساله که به صورت خودرو در کنار جاده‌های متروک و اراضی بایر و حاشیه زمین‌های زراعی

افزایش خواهد داد (Kochaki *et al.*, 1999). همچنین Ghorbani و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که استفاده از کودهای آلی می‌تواند به عنوان جایگزین مناسبی برای کود شیمیایی باشد. در حالیکه کاربرد کودهای تلفیقی شیمیایی و دامی راهکاری برای افزایش تولید محصول و حفظ عملکرد در سطح مطلوب و مؤثر است (Sharma, 2003). همچنین Singh و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که در اثر کاربرد کود دامی به صورت جداگانه و یا تلفیق آن با کود شیمیایی، اسفرزه از موققیت بیشتری نسبت به کاربرد کود شیمیایی برخوردار بوده است. در پژوهش Yadav و همکاران (۲۰۰۳) بر اسفرزه، ملاحظه شد که کاربرد تلفیقی کود شیمیایی به همراه کود دامی به طور معنی‌داری سبب افزایش تعداد پنجه در گیاه، ارتفاع بوته، تجمع ماده خشک، تعداد سنبله در بوته، تعداد دانه در سنبله، عملکرد دانه و کاه و کلس گردید.

استفاده از کودهای بیولوژیک در کشاورزی قدمت زیادی دارد، ولی بهره‌برداری علمی از این گونه منابع سابقه چندانی ندارد. امروزه با توجه به مشکلاتی که مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی بوجود آورده است، استفاده از آنها در کشاورزی دوباره مطرح شده است. در کودهای بیولوژیک، سعی بر آن است تا از قابلیت ارگانیسم‌های خاک و مواد آلی، بهمنظر حداکثر تولید و در ضمن توجه به کیفیت خاک، رعایت بهداشت Moalllem & Eshghizadeh, 2007 و اینمی محیط‌زیست استفاده گردد (Adediran *et al.*, 2004; Kohneh *et al.*, 2007). کودهای بیولوژیک از باکتری‌ها و همچنین قارچ‌های مفیدی تشکیل شده‌اند که هر یک به منظور خاصی (مانند تثبیت نیتروژن و رهاسازی یون‌های فسفات، پتاسیم و آهن از ترکیب‌های نامحلول) تولید می‌شوند. این باکتری‌ها معمولاً در اطراف ریشه مستقر شده و در جذب عناصر مختلف به گیاه کمک می‌کنند. این کودها، آводگی زیست محیطی مانند کودهای شیمیایی نداشته و موجب احیاء و حفظ محیط‌زیست می‌شوند (Dakoral *et al.*, 2002).

گونه‌های باکتریایی زیادی شناسایی شده‌اند؛ که از جمله مهمترین آنها باکتری‌های محرک رشد گیاه، باکتری‌های جنس ازتوباکتر (*Azospirillum*), آزوسپیریلیوم (*Azospirillum*), پاسیلوس (*Pseudomonas*) و سودوموناس (*Bacillus*) می‌باشند که

(Vaknin *et al.*, 2008) گیاه خاک‌های سبک و حاصلخیز را ترجیح می‌دهد (Fallah Hoseini *et al.*, 2004). گیاه مارپیچیگال دارای ترکیب‌های مختلف فلاونونوئیدی (Flavonoid) است، بنابراین مجموع این ترکیب‌ها که از گیاه استخراج می‌شود سبیلی مارین نام دارد و در درمان امراض و مسمومیت‌های کبدی، هپاتیت، سیروز کبدی و پیشگیری از سرطان کبد بکار می‌رود (Omidbeigi, 2011).

حاصلخیزکننده‌های خاک تأثیر مناسبی بر افزایش تولید غذا در جهان داشته و از نهادهای مهم در توسعه کشاورزی مرسوم هستند. پیش‌بینی‌ها نشان می‌دهد که بیش از ۵۰٪ از افزایش تولید در کشاورزی به کاربرد کودهای مختلف مربوط می‌شود (Fixon & West, 2002). از سوی دیگر، مصرف کودها در کشور ما نامتعادل بوده است و تطابقی با نیاز واقعی گیاه ندارد (Malakouti, 1999). سیستم‌های کشاورزی متداول نشان داده‌اند، اگرچه به کمک کودهای شیمیایی در کوتاه‌مدت می‌توان به عملکردهای بالایی دست یافت، ولی پایداری حاصلخیزی و سلامت خاک زراعی در این سیستم‌ها تحت تأثیر منفی قرار می‌گیرد (Sharifi Ashor-abadi, 1998).

مطالعات نشان داده‌اند که استفاده گسترده از کودهای شیمیایی، صرف‌نظر از هزینه زیاد آن، در درازمدت عملکرد گیاهان را کاهش می‌دهند. این کاهش، در نتیجه اسیدی شدن خاک، کاهش فعالیت‌های بیولوژیک خاک، افت خصوصیات مثبت فیزیکی خاک و عدم وجود ریزمعذی‌ها در کودهای NPK است (Adediran *et al.*, 2004).

بررسی‌ها نشان داده‌اند که نهاده‌های آلی از جمله کودهای دامی علاوه‌بر اثرات مفیدی که بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی، بیولوژیکی و حاصلخیزی خاک دارند یکی از ارکان مهم باروری خاک محسوب می‌شوند (Renato *et al.*, 2003). استفاده تؤمن از کودهای آلی و معدنی نه تنها نیاز به مصرف کودهای شیمیایی را کاهش می‌دهد، بلکه به ذخیره انرژی، حاصلخیزی خاک، افزایش تولید محصول و کاهش آводگی محیط کمک خواهد کرد (Mohammad zadeh & Mivechi, 1998). زیرا این سیستم بیشتر نیازهای غذایی گیاه را تأمین کرده و کارایی جذب مواد غذایی توسط محصول را

میکوریزا غلظت پتاسیم بیشتری از گیاهان غیرهمزیست با میکوریزا گزارش شده و بدین ترتیب با افزایش نسبت پتاسیم به سدیم همزیستی میکوریزا، گیاه را در برابر اثرات منفی سدیم محافظت می‌کند. میکوریزا تعرق برگی را افزایش می‌دهد و سبب سهولت انتقال آب در گیاه می‌شود. قارچ میکوریزا ارتباط آب با گیاه میزان را افزایش و هدایت روزنده‌ای را با تغییر در تعادل هورمون‌های گیاهی بهبود می‌بخشد، بنابراین از این طریق محدودیت‌های حاصل از خشکی را می‌تواند برطرف کند و باعث افزایش عملکرد شود (Cardoso & Kuyper, 2006). پژوهش‌های Freitas و همکاران (۲۰۰۴) روی گیاه نعناع نشان داد که کاربرد ۴ گونه قارچ میکوریزا موجب بهبود مقدار اسانس و میزان متنول (Menthol) آن نسبت به تیمار شاهد شد. مایه‌زنی دو رقم گدم دوروم با این قارچ باعث افزایش نسبت پروتئین به چربی و وزن دانه‌های آن گردید (Al-Karaki & Clark, 1999). کاربرد قارچ میکوریزا گلوموس روی گیاه شوید سبب افزایش میزان اسانس و رشد گیاه شد و میزان کاروون و لیمون موجود در اسانس آن افزایش معنی‌داری پیدا کرد (Kapoor et al., 2002).

یکی از مهمترین کاربردهای فناوری نانو در جنبه‌های مختلف کشاورزی در بخش آب و خاک، استفاده از نانو کودها برای تغذیه گیاهان است. نانو کود آهن دارای کمپلکس منحصر به فردی است و این نانو کمپلکس دارای ۹٪ آهن محلول در آب در بازده $pH > 11$ است. البته مکمل‌های روی و منگنز در این کود نقش خاص خود را ایفاء می‌کنند. کود نانو کلات، آسان جذب گیاه می‌شود، از این‌رو گیاه قادر به جذب بیشترین مقدار مواد غذایی بوده و در نتیجه ضمن کاهش آبسوبی عنصر، عملکرد محصول را نیز افزایش می‌دهد (Ranjbar & Shams 2009; Mazaherinia et al., 2010) Panjtandoost (۱۹۹۹) گزارش کرد که مصرف آهن به دو روش محلول‌پاشی و تیمار خاکی مقدار عناصر ضروری مانند آهن دو ظرفیتی، آهن کل، نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم اندام‌های بادام‌زمینی را به طور معنی‌داری افزایش داد. مواد غذایی نانو باعث افزایش ارتفاع در گیاه نخود شد

علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک، با تولید مقادیر فراوان هورمون‌های محرک رشد بهویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکینین، تولید ویتامین‌های گروه B، اسیدهای آلی و مواد بازدارنده رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، افزایش سطح و حجم مؤثر ریشه و در پی آن افزایش جذب مواد غذایی، رشد و نمو و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Vessy, 2003; Zahir et al., 2004). کود بیولوژیک نیتروکسین دارای مجموعه‌ای از باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن از جنس ازتوباکتر و آزوسپریلیوم است که رشد و توسعه ریشه و قسمت‌های هوایی گیاهان را موجب می‌شود (Glik et al., 2001). باکتری‌های حل‌کننده فسفات قادرند به کمک تغییر میزان اسیدیتیه اطراف خود و نیز به کمک فرایندهای آزمیمی، فسفر سبک آزاد کرده و Saleh Rastin, (2001) همچنین افزایش وزن خشک بوته در گیاهچه موز به‌وسیله باکتری آزوسپریلیوم گزارش شده‌است (Baset Mia et al., 2010). طبق تحقیق Hassan (۲۰۰۹) تلقیح بذرهای چای ترش با مایه باکتریابی حاوی آزوسپریلیوم، باسیلوس و پسودومonas در ترکیب با نصف مقدار معمول کود شیمیایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم موجب افزایش عملکرد در کاسبرگ و خصوصیات کیفی در آن شد. Kochaki و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که کاربرد نیتروکسین (حاوی ازتوباکتر و آزوسپریلیوم) و حل‌کننده‌های فسفات تأثیری بر ارتفاع بوته گیاه دارویی زوفا نداشت. Besharati و همکاران (۲۰۰۷) به‌دبال کاربرد بیوسپر (Biosuper) که حاوی سنگ فسفات و گوگرد و باکتری‌های تیوباسیلوس است، افزایش معنی‌داری را در میزان ماده ذرت مشاهده کردند.

قارچ میکوریزا با ریشه گیاهان به‌صورت همزیست زندگی کرده و به درون سلول‌های پوسته راه یافته و در عین حال با گسترش ریسه خود به درون خاک، جذب عناصر غذایی بهویژه فسفر را که از تحرک اندکی برخوردار است، افزایش می‌دهند (Al-Karaki & Shirani-Rad, 1999; Clark, 1998; Auge, 2001). در گیاهان همزیست با

اوره + ۵۰ کیلوگرم در هکتار فسفات آمونیوم + ۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم قبل از کشت) و کود دامی ۱۲/۵ تن در هکتار قبل از کشت، F₇: ترکیب قارچ میکوریزا (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار قبل از کشت) و کود دامی (۱۲/۵ تن در هکتار قبل از کشت)، F₈: کود نانو کلات آهن ۱/۵ کیلوگرم در هکتار به صورت بذر مال همزمان با کشت، تهیه شده از شرکت دانش بنیان صدور احرار شرق) در هشت سطح بودند. در این آزمایش کرت هایی با ابعاد ۲×۳ متر ایجاد شد. فاصله بین کرت های نیم متر و بین بلوک ها یک متر در نظر گرفته شد. داخل هر کرت ۵ ردیف کشت با فاصله ردیف ۴۰ سانتی متر و فاصله روی ردیف ۲۰ سانتی متر انتخاب گردید. آبیاری هر ۱۰ روز یکبار به روش نشتی انجام شد. عملیات تنک در مرحله دو تا چهار برگی و وجین علف های هرز در دو نوبت با دست انجام گردید. برای تأثیر تیمارهای کودی ذکر شده بر رشد و نمو گیاه ماریتیغال متغیرهایی مانند ارتفاع بوته و تعداد شاخه های جانبی (در موقع رسیدگی بذر)، میزان کلروفیل (از برگ های جوان در اواسط رشد رویشی)، عملکرد دانه، فسفر، پتاسیم و سیلی مارین (پس از برداشت گیاه ماریتیغال) از ده بوته به طور تصادفی از وسط هر کرت با حذف اثر حاشیه ای انتخاب و محاسبه شد.

اندازه گیری عناصر معدنی (فسفر و پتاسیم)

پس از قرار دادن یک گرم از بذر پودر شده گیاه ماریتیغال در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ ساعت در کوره الکتریکی (مدل GPC ۱۲۰۰ ساخت انگلستان) و تعیین درصد خاکستر آن، ۱۰ میلی گرم اسید کلریدریک ۲ نرمال به آن اضافه شد، سپس حجم محلول بدست آمده پس از عبور از کاغذ صافی با افزودن آب مقطر به ۱۰۰ میلی لیتر رسید. فسفر در طول موج ۴۲۲ نانومتر با اسپکترو فوتومتر و پتاسیم با فلیم فوتومتر خوانده شد. در پایان پس از رسم منحنی استاندارد هر دو عنصر، مقدار آنها محاسبه گردید (Tabatabaii, 2009).

اندازه گیری کلروفیل

برای اندازه گیری میزان کلروفیل از روش Porra و همکاران (۱۹۸۹) استفاده شد. مقدار ۰/۵ گرم نمونه برگ

(Pandey *et al.*, 2010) کود نانو موجب افزایش رشد و عملکرد در گیاه اسفناج می شود.

بنابراین هدف از انجام این آزمایش، معرفی بهترین نوع یا ترکیب کودی در تولید گیاه دارویی ماریتیغال و بررسی تأثیر کودهای آلی و زیستی و نانو بر خصوصیات کمی و کیفی آن بود.

مواد و روش ها

این تحقیق از نیمه دوم مهرماه سال ۱۳۹۲ تا اوایل تیرماه ۱۳۹۳ در مرعه تحقیقاتی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل با ارتفاع ۴۸۱ متر از سطح دریا، در ۶۱ درجه و ۴۱ دقیقه طول شرقی و ۳۰ درجه و ۵۴ دقیقه عرض شمالی، اجرا شد. این آزمایش پس از انجام تجزیه خاک (جدول ۱) و عملیات خاک ورزی، به منظور بررسی تأثیر کودهای مختلف و تلفیق آنها بر خصوصیات کمی و کیفی بذر ماریتیغال ژنوتیپ مجارتستان و توده مشهد، به صورت کرت های خردشده در پایه طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. عامل اصلی شامل ژنوتیپ مجارتستان (A₁) و توده مشهدی (A₂) در دو سطح و عامل فرعی شامل کاربرد کودهای مختلف مانند F₁: تیمار شاهد (عدم استفاده از کود)، F₂: کود دامی (۲۵ تن در هکتار قبل از کشت)، F₃: کود شیمیایی (۶۰ کیلوگرم در هکتار اوره نصف این مقدار قبل از کشت و نصف دیگر به عنوان سرک در نیمه دوم فروردین ماه + ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار فسفات آمونیوم قبل از کشت + ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم قبل از کشت)، F₄: قارچ میکوریزا گلوموس موسه (Glomus mosseae) همراه با ریشه الک شده در خاک (۲۰۰ کیلوگرم در هکتار قبل از کشت، تهیه شده از شرکت زیست فناور توران، سمنان)، F₅: ترکیب کودهای زیستی (۱ لیتر در هکتار نیتروکسین به صورت بذر مال همزمان با کشت + ۵ کیلوگرم در هکتار کاربرد خاکی بیوسولفور جامد مرحله چهار برگی، تهیه شده از شرکت فناوری زیستی مهر آسیا (ماکو)، F₆: ترکیب کود شیمیایی (۳۰ کیلوگرم در هکتار

در دقیقه سانتریفوژ شده است. محلول رویی برای سنجش مقادیر فلاونولیگنان‌ها در مجموع سیلیمارین را تشکیل می‌دهند و توسط HPLC مورد استفاده قرار گرفت (Alikardis *et al.*, 2000).

اندازه‌گیری فلاونولیگنان‌های عصاره مтанولی گیاه HPLC ماریتیغال به روش

برای بررسی دقیق‌تر و تعیین کمی ترکیب‌ها از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا استفاده شد (Gunaratna & Zhang, 2003). بدین‌منظور ۲۰ میکرولیتر از عصاره استخراج شده از میوه‌ها به ستون C₁₈ Nucleosil متعلق به دستگاه HPLC مدل 200 Unican crystal ساخت انگلستان تزریق شد. دتکتور از نوع ماوراءبنفش با طول موج ۲۸۰ نانومتر استفاده شد. قطر ذرات داخل ستون ۵ میکرومتر و طول ستون ۱۵ سانتی‌متر و قطر آن ۴/۶ میلی‌متر و فاز متحرک شامل ۴۰٪ آب، ۲۰٪ استونیتریل و ۴۰٪ متانول فوق خالص است که با سرعت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه از ستون عبور کرد. مقدار سیلیمارین در نمونه‌های آزمایش مشخص گردید (Quercia & Pierini, 1980; Hasanloo *et al.*, 2005).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای اندازه‌گیری تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ و ۵٪ مقایسه گردید و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

تازه کاملاً خرد و یکنواخت در اواسط مرحله رشد رویشی با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ مخلوط شد. پس از سانتریفوژ میزان جذب (A) در طول موج‌های ۶۴۶/۶ و ۶۶۳/۶ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر ثبت شد. میزان کلروفیل a و کلروفیل b و کلروفیل کل براساس فرمول‌های زیر محاسبه شد:

$$1\text{-Chlorophyll a} = 12/25(A663/6)-2/55(A646/6)$$

$$2\text{-Chlorophyll b} = 20/31(A6/6/6)-4/91(A663/6)$$

$$3\text{-TotalChlorophyll} = 17/76(A646/6)+7/34(A663/6)$$

در روابط فوق A طول موج اسپکتروفوتومتر است.

استخراج فلاونولیگنان‌ها از دانه‌های گیاه ماریتیغال مقدار ۳ گرم از دانه‌های گیاه ماریتیغال آسیاب شده و بعد به مدت ۱۰ ساعت در حلال پترولیوم اتر در سوکله روغن‌گیری شد. پس از جداسازی روغن، نمونه‌ها کاملاً خشک شده و با اضافه کردن مтанول خالص در ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت مخلوط گردید؛ مтанول تبخیر و باقی‌مانده دوباره با مтанول خالص مخلوط شد، سپس با ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و فاز مtanول برداشته شد. برای ۱ میلی‌لیتر از آن، ۳ میلی‌لیتر محلول حاوی ۲ میلی‌لیتر ۴-دی-نیتروفنیل هیدرازین و ۱ میلی‌لیتر اسید سولفوریک اضافه و آنگاه با اضافه کردن مtanول حجم را به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانیده و این مخلوط را در حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ دقیقه قرار داده و پس از سرد شدن با مtanول پتانسی (۱۰٪) مخلوط و در ۲۵۰۰ دور بافت خاک

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری

بسی شنی	٪	رس	لای	پتاسیم	فسفر	نیتروژن	ماده آلی	اسیدیته	هدايت الکتریکی ds.m^{-1}	بافت خاک
۳۳	۴۱	۲۶	۱۷۶	۱۱/۱	۰/۰۵	۰/۱۵	۷/۷	۱/۷		

نتایج

ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، میزان کلروفیل a و b کلروفیل کل فقط در سطوح کودی تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۲). براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین میزان کلروفیل a، b و کل در تیمار کودی قارچ میکوریزا و کمترین میزان آن در تیمار شاهد بود که بهترتبی اختلاف نداشت (جدول ۴).

فسفر و پتاسیم

براساس نتایج تجزیه واریانس، سطوح کودی بر درصد فسفر و پتاسیم اثر معنی‌داری در سطح ۱٪ داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، بیشترین درصد فسفر در تیمار کودی قارچ میکوریزا و کمترین درصد آن در تیمار شاهد (عدم استفاده از کود) بود و با هم اختلاف ۶۲ درصدی داشتند، در حالیکه بیشترین درصد پتاسیم ناشی از تیمارهای کودی قارچ میکوریزا و کود نانو کلات آهن بود و با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی با تیمار شاهد که دارای کمترین درصد پتاسیم بود بهترتبی اختلاف ۱۸ و ۲۲/۴ درصدی داشتند (جدول ۴).

میزان سیلیمارین

نتایج حاصل از آنالیز HPLC در تجزیه واریانس مربوط به میزان سیلیمارین در سطوح کود و اثر متقابل ژنوتیپ با سطوح کود بسیار معنی‌دار بود (جدول ۲). جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳) گویای آن است که بیشترین مقدار سیلیمارین مربوط به تیمار کودی قارچ میکوریزا با مقدار سیلیمارین کود دامی بیشتر از کود شیمیایی و تلفیقی بود (جدول ۴). اثر متقابل ژنوتیپ با سطوح کود شاهد داد که تیمار ژنوتیپ مجارستان و قارچ میکوریزا و بعد از آن توده مشهد و قارچ میکوریزا دارای بیشترین مقدار سیلیمارین بود که با هم اختلاف ۹ درصدی داشتند (شکل ۱).

تعداد شاخه‌های جانبی

براساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار سطوح کودی بر تعداد شاخه‌های جانبی در سطح ۱٪ معنی‌داری بود (جدول ۲). مقایسه میانگین تعداد شاخه‌های جانبی نشان داد، کاربرد تیمارهای ترکیب کود شیمیایی و کود دامی، ترکیب قارچ میکوریزا و کود دامی و کود دامی بیشترین تعداد شاخه‌های جانبی را به خود اختصاص داد و نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از کود)، بهترتبی افزایش ۳۱/۶، ۴۱/۳ و ۲۹/۴ درصدی داشت. در حالیکه با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۴).

عملکرد دانه

اثر سطوح کودی بر عملکرد بذر ماریتیغال بسیار معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین مربوط به عملکرد بذر نشان داد، در بین تیمارهای کودی بیشترین آن با ۱۲۰۸/۹۵ و ۱۱۴۹/۶۴ کیلوگرم در هکتار، بهترتبی از تیمار کودی قارچ میکوریزا و نانو کلات آهن بدست آمد که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند و بهترتبی با تیمار شاهد که کمترین مقدار بود اختلاف ۱۱۷ و ۱۰۷ درصدی داشتند (جدول ۴).

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر ژنتیپ و کودهای مختلف بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه ماریتیغال

منابع تغییرات	آزادی	درجه	ارتفاع بوته	تعداد شاخه‌های جانبی	عملکرد دانه	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	فسفر	پتاسیم	سیلیمارین
تکرار	۲	۳۵/۹۶ ns	۰/۲۲ ns	۱۱۱۶/۶۱ ns	۰/۰۰۴۲ ns	۱/۱۰۶ ns	۰/۰۰۱۰ ns	۰/۹۲۵ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱۰ ns	۳/۵۵ ns
ژنتیپ	۱	۶/۰۱ ns	۰/۵۸ ns	۱۰۸۷۳۸/۳۹ ns	۰/۰۰۲۱ ns	۰/۰۰۴۳ ns	۰/۰۱۹ ns	۰/۰۰۰۹۱ ns	۰/۰۰۰۷ ns	۰/۰۰۰۷ ns	۲/۸۱ ns
خطای اصلی	۲	۲۹/۵۳	۱/۴۳	۳۱۲۴۳/۹۹	۰/۰۱۵	۰/۰۸۸	۰/۰۲۵	۰/۰۰۰۶۴	۰/۰۰۱۰۱	۰/۰۰۱۰۱	۰/۴۳
سطوح کود	۷	۵۹/۰۱ *	۲/۸۲ ***	۲۷۴۰۳۰/۸۷ ***	۰/۰۱۵ ***	۹۴/۱۵۷ ***	۱۳۱/۰۵۱ ***	۰/۰۳۰۰۵ ***	۰/۰۰۵۹۲ ***	۰/۰۰۰۵۹۲ ***	۳۱/۲۱ ***
ژنتیپ × سطوح کود	۷	۳۱/۳۳ ns	۰/۴۹ ns	۱۸۱۰۰/۷۸ ns	۰/۰۱۷۶ ns	۰/۰۲۶ ns	۰/۰۱۹ ns	۰/۰۰۰۳ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۱/۰ ۵***
خطای فرعی	۲۸	۱۹/۸۴	۰/۲۴	۱۹۹۰/۵۹	۰/۰۲۲۱	۰/۲۵۶	۰/۳۲۲	۰/۰۰۰۲۸	۰/۰۰۰۳۳	۰/۰۰۰۳۳	۰/۲۰
ضریب تغییرات	۹/۲	۸/۱	۱۰/۵	۷/۳۴	۴/۵۳	۴/۳	۳/۸۲	۰/۰۰۰۲	۴/۰۵	۰/۰۰۰۵	۲/۳

ns: بدترتب نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ و ۵٪ و عدم وجود اختلاف معنی‌دار است.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر ژنتیپ بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه ماریتیغال

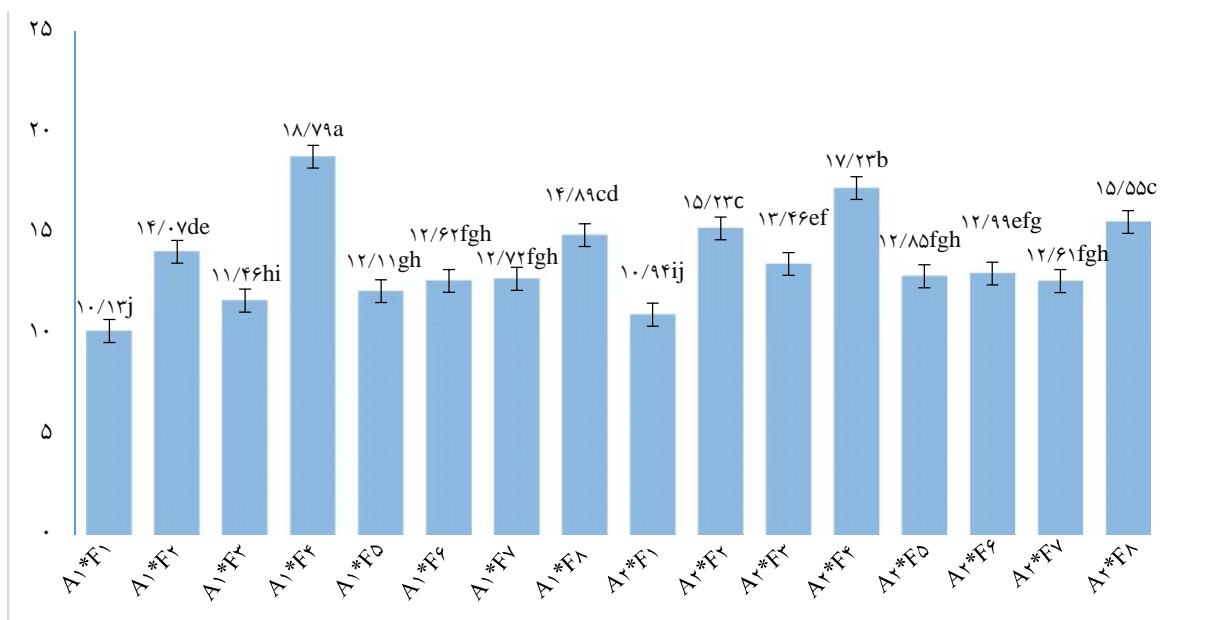
تیمارهای آزمایش	ارتفاع بوته (cm)	تعداد شاخه‌های جانبی	عملکرد دانه (kg.h ⁻¹)	کلروفیل a (mg.g ⁻¹)	کلروفیل b (mg.g ⁻¹)	کلروفیل کل (mg.g ⁻¹)	فسفر (%)	پتاسیم (mg.g ⁻¹)	سیلیمارین (mg.g ⁻¹)
ژنتیپ									
ژنتیپ مجارستان (A ₁)	۴۷/۵۸ a	۵/۹۳ a	۸۵۸/۴۶ a	۱۱/۱۰۲ a	۱۲/۱۵۳ a	۰/۴۴۸ a	۰/۴۳۹ a	۰/۴۴۸ a	۱۳/۳۷ a
توده مشهدی (A ₂)	۴۸/۲۸ a	۶/۱۵ a	۹۵۳/۶۵ a	۱۱/۲۱۲ a	۱۲/۱۹۳ a	۰/۴۵۰ a	۰/۴۴۸ a	۰/۴۵۰ a	۱۳/۸۶ a

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر کودهای مختلف بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه ماریتیغال

کودها	تیمارهای آزمایش	ارتفاع بوته (cm)	تعداد شاخه‌های جانبی	عملکرد دانه (kg.h⁻¹)	a کلروفیل	b کلروفیل کل (mg.g⁻¹)	فسفر (%)	پتابسیم (mg.g⁻¹)	سیلی‌مارین (mg.g⁻¹)
F ₁		۴۴/۴۲ c	۵/۰۶ c	۵۵۵/۲۷ e	۱/۱۶۱ f	۶/۲۷۵ e	۷/۴۴۲ e	۰/۴۰۵ f	۱۰/۵۴ e
F ₂		۴۷/۳۵ abc	۶/۵۵ a	۸۳۰/۴۰ cd	۱/۵۶۸ e	۸/۶۰۶ d	۱۰/۱۵۸ d	۰/۴۳۳ de	۱۴/۶۵ c
F ₃		۴۹/۹۵ abc	۵/۵۵ bc	۷۳۱/۷۰ d	۱/۵۱۱ e	۸/۳۱۵ d	۹/۸۰۸ d	۰/۴۱۵ ef	۱۲/۵۵ d
F ₄		۵۲/۶۵ a	۵/۷۳ b	۱۲۰۸/۹۵ a	۳/۲۰۶ a	۲۰/۶۴۸ a	۰/۴۹۶ a	۰/۴۹۶ a	۱۸/۰۱ a
F ₅		۴۴/۳۰ c	۵/۸۸ b	۹۹۹/۰۷ b	۱/۵۷۱ e	۸/۵۶۸ d	۱۰/۰۷۱ d	۰/۴۴۸ cd	۱۲/۴۸ d
F ₆		۴۸/۳۶ abc	۷/۱۵ a	۸۹۱/۶۶ bc	۱/۹۸۰ d	۱۰/۸۸۳ c	۱۲/۶۸۰ c	۰/۴۵۰ cd	۱۲/۸۱ d
F ₇		۴۵/۳۴ bc	۶/۶۶ a	۸۸۱/۶۶ bc	۲/۴۹۶ c	۱۷/۱۷۱ b	۱۴/۵۱۳ b	۰/۴۷۰ bc	۱۲/۶۶ d
F ₈		۵۱/۰۶ ab	۵/۷۴ b	۱۱۴۹/۶۴ a	۲/۷۱۳ b	۱۴/۸۰۸ b	۱۷/۴۰۶ b	۰/۴۷۸ ab	۱۵/۲۲ b

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل زنوتیپ و کودهای مختلف بر مقدار سیلیمارین بذر گیاه ماریتیغال

بحث

بر پایه تحقیقات انجام شده، عوامل محیطی محل رشد گیاهان دارویی به سه طریق بر آن اثر می‌گذارند: ۱- تأثیر مقدار کلی مواد مؤثره گیاهان دارویی، ۲- تأثیر بر عناصر تشکیل‌دهنده مواد مؤثره و ۳- تأثیر بر مقدار وزن خشک گیاه. از مهمترین عوامل محیطی رویش گیاهان دارویی که تأثیر بسیار عمده‌ای بر کیفیت و کیفیت مواد مؤثره آنها می‌گذارد، خاک (تغذیه) و موجودات پیرامونی آن است (Narayana *et al.*, 2001). افزایش میزان عناصر غذایی در دسترس گیاه به ویژه نیتروژن و فسفر باعث تحریک رشد گیاه شده و با افزایش رشد، تعداد ساقه فرعی در بوته نیز افزایش پیدا می‌کند. مطالعات نشان می‌دهد که قارچ‌های میکوریزا جذب آمونیوم را از خاک افزایش می‌دهند (Hasanudin, 2003). قارچ‌های میکوریزا قادرند با استفاده از گسترش ریشه‌های خارجی و تغییر مورفو‌لوزیکی ریشه گیاهان، سطح جذب ریشه و انتقال مواد غذایی به ریشه را افزایش دهند (James *et al.*, 2008). طبق نتایج این بررسی قارچ میکوریزا بر تمام صفت‌های مورد مطالعه در گیاه مارپیچال تأثیر مثبت و معنی‌داری گذاشت؛ همزیستی قارچ

میکوریزا با ریشه باعث تغییرات وسیع شاخص‌های مورفولوژیکی ریشه بهیزه افزایش ریشه‌های جانبی می‌شود و از این طریق سبب جذب آب، عناصر غذایی و افزایش فتوسنتر شده و این امر موجب تولید فراورده بیشتر و بهبود رشد و افزایش ارتفاع گیاه می‌گردد (Khalvati *et al.*, 2005 و همکاران ۲۰۰۷). نیز بیان کردند که گیاه Widada (2005 سورگوم تلقیح شده با میکوریزا دارای ارتفاع بیشتری بوده است. همچنین در گیاه دارویی پونه، قارچ میکوریزا گلوموس موسه‌آ (*G. mosseae*) بیشترین تأثیر را بر ارتفاع و عملکرد گیاهان تلقیح شده داشت (Kaosaad *et al.*, 2006). در بررسی دیگری، ارتفاع آویشن باعی ۸۶٪ در تیمار تلقیح گیاهان با میکوریزا نسبت به تیمارهای غیرمیکوریزایی افزایش یافت (Dolatabadi *et al.*, 2012). کزارش شده که ارتفاع و زیست‌توده کل گیاه دارویی نعناع در حضور همزیستی میکوریزا افزایش می‌یابد (Cabello *et al.*, 2004; Mucciarelli *et al.*, 2005; Freitas *et al.*, 2005). تلقیح گونه دارویی ریحان با قارچ میکوریزا گونه *Glomus mosseae* باعث افزایش معنی دار ارتفاع ساقه در مقایسه با شاهد شد (Copetta *et al.*, 2006). با افزایش

در گیاهان برای بهبود کیفیت محصولات استفاده کرد (Rezvani *et al.*, 1999). بدلیل افزایش سطح جذب ریشه گیاه بهوسیله تلقیح میکوریزا، هیف‌های خارجی میکوریزا می‌توانند عناصر غذایی بیشتری را برای گیاه میزان جذب کنند (Khan *et al.*, 2000). از طرفی، میکوریزا با تولید اسیدهای آلی و آنزیم فسفاتاز منجر به افزایش حلالیت فسفر خاک می‌شود و بهوسیله هیف‌های خارجی، این عنصر را در اختیار گیاه قرار می‌دهد (Shenoy & Kalagudi, 2005؛ Song, 2005). سازوکار این افزایش احتمالاً به این صورت است که بخشی از ریسه‌ها وارد سیستم ریشه شده، سبب کاهش غلظت آسبیزیک اسید و افزایش میزان سیتوکنین‌ها می‌شود که این امر موجب گسترش سیستم ریشه‌ای و افزایش جذب آب و عناصر غذایی شده است. بنابراین گمان می‌رود میسلیوم‌های برون ریشه‌ای با ترشح اسیدهای آلی حل‌کننده فسفات‌های نامحلول مانند اسید مالیک به ریزوفسفر، جذب فسفر گیاه را افزایش داده است. Turk و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که نقش اصلی قارچ‌های میکوریزا تأمین فسفر برای ریشه گیاه است، زیرا فسفر در خاک عنصری فوق العاده کم تحرک است. حتی در صورتی که فسفر به شکل محلول به خاک اضافه شود به سرعت در شکل‌های فسفات کلسیم یا دیگر شکل‌های ثابت شده و به صورت غیر متحرک در می‌آید. از این‌رو، قارچ‌های میکوریزا در افزایش جذب مواد معدنی بهویژه فسفر و تجمع زیست‌توده بسیاری از محصولات در خاک‌های با فسفر کم، تأثیر مثبت دارد. همچنین محققان بیان کردند که حضور کودهای زیستی باعث بهبود خصوصیات خاک مانند محتوای ماده آلی و افزایش دسترسی عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و عناصر ریزمغذی Demir (*et al.*, 2011). طبق گزارش Eydizadeh *et al.*, 2011)، همزیستی با قارچ *G. intraradices* در گیاه فلفل منجر به افزایش نسبت سطح برگی و میزان آبغیری برگ‌ها می‌شود که این تأثیر میکوریزا، به افزایش میزان فسفر در این گیاهان مربوط می‌شود. همان‌طور که اشاره شد در این تحقیق مقدار سیلیمارین قارچ میکوریزا بیشتر از سایر

ارتفاع بوته عملکرد دانه ماریتیغال افزایش یافت که نشانگر اهمیت این صفات در تعیین عملکرد نهایی است که با تحقیقات Yazdani Biuki و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت داشت. گزارش شد که تلقیح گیاهان آویشن باعث با قارچ میکوریزا (*Glomus mosseae*) سبب افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی (عملکرد) شد (Azimi *et al.*, 2013). همچنین در تحقیق دیگری Ansori-Savari (۲۰۱۱) گزارش کرد که قارچ میکوریزا باعث افزایش عملکرد در ذرت شده است. قارچ‌های میکوریزا می‌تواند میزان فتوسنتر را از طریق تغییرات مورفولوژیکی از قبیل گسترش شاخص سطح برگ افزایش دهد (Harris & paul, 1987). البته وضعیت کلروفیل گیاه می‌تواند در میزان فتوسنتر تأثیرگذار باشد (Malakouti & Tehrani, 1999). در تحقیق دیگری عنوان شد که حدود ۷۰٪ از نیتروژن برگ در کلروفیل استهای آن انباسته می‌شود، در نتیجه مقدار کلروفیل همبستگی زیادی با مقدار نیتروژن دارد (Madakadze *et al.*, 1999). تحقیقات نشان داده، میکوریزا باعث جذب نیتروژن می‌شود (Abdelhafez & Abdel-, ۱۹۷۳) و Sandra Pareek, 2006 و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که کودهای زیستی pH خاک را از طریق تولید انواع اسیدهای آلی از قبیل اسیدهای سیتریک، گلوتامیک، لاکتیک، اگزالیک، گلیواگزالیک، مالیک، فومریک، تارتاریک و -کتابوتاریک کاهش می‌دهند. در نتیجه باعث جذب عناصری مانند آهن، منگنز و منیزیم می‌شود که در توسعه کلروفیل نقش مهمی ایفاء می‌کند (Gholarata & Raisi, 2007). همچنین قارچ‌های AM (Arbuscular Mycorrhiza) در ایجاد هم‌زیستی با گیاهان میزان به‌طور غیراختصاصی عمل می‌کنند. تقریباً هر AM می‌تواند با یک گونه میزان تشکیل هم‌زیستی بدهد. با توجه به نتایج تأثیر سویه‌های مختلف قارچ میکوریزا روی ویژگی‌های ریشه و غلظت عناصر فسفر، پتاسیم، روی و آهن یونجه، سویه *G. mosseae* دارای بیشترین کارایی در جذب فسفر، پتاسیم و روی بود. بنابراین از راهیافت انتخاب سویه مؤثر می‌توان در جهت افزایش جذب عناصر مورد نظر

ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. همچنین در آزمایش El-Fouly و همکاران (۲۰۱۱) محلول پاشی آهن و منگنز سبب افزایش غلظت پتاسیم در اندام هوایی گندم شد. کودهای آلی باعث افزایش ماده آلی خاک می‌شوند و به‌سبب بهبود خصوصیات شیمیایی خاک مثل pH، ظرفیت تبادل کاتیونی و افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌ها و میزان دسترسی به مواد غذایی، باعث افزایش باروری خاک می‌شود (Renato *et al.*, 2003). نتایج این بررسی نشان داد که کود دامی، شیمیایی و تلفیقی (دامی و شیمیایی) و همچنین ترکیب دامی با قارچ میکوریزا بر تعداد شاخه‌های جانبی تأثیر معنی‌داری داشت. Haj-Seyed Hadi و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که کودهای شیمیایی سریع‌تر از قابل‌دسترس و جذب هستند، به‌طوری که گیاهان سریع‌تر از آنها استفاده کرده و موجب رشد بیشتری می‌شوند. همچنین مصرف کود دامی باعث افزایش ارتفاع گیاه مرزه شد (Yadav *et al.*, 2003). در حالیکه ترکیب مناسبی از کود دامی و شیمیایی نسبت به مصرف جداگانه هر یک از آنها، باعث افزایش کارایی دریافت نیتروژن در محصولات و موجب افزایش رشد مانند ارتفاع و شاخه‌های جانبی می‌گردد (Francis *et al.*, 1990). در یک آزمایش مزرعه‌ای روی ریحان، کاربرد همزمان کودهای نیتروژن‌آلی و معدنی باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته شده است (Kandeel *et al.*, 2002). در تحقیقی تیمار کود گاوی، از سیلی‌بین بیشتری نسبت تیمارهای شیمیایی و تلفیقی (دامی، شیمیایی) برخوردار بود (Abdollah-zareh *et al.*, 2013). طی تحقیقی در ژاپن از کود دامی همراه با کود شیمیایی به مدت ۸ سال، در مزارع علوفه‌ای در تابستان و چشم در زمستان استفاده شد، این استفاده متوالی از کودهای، موجب Miyazawa & shiozaki (1990). در تحقیق حاضر، مقدار سیلی‌مارین در کود دامی بیشتر از کود شیمیایی و تلفیقی شد. در این رابطه Fateh (۲۰۰۸) گزارش داد که کود آلی درصد عملکرد اسید کلروژنیک برگ کنگر فرنگی را نسبت به کود شیمیایی و

تیمارهای کودی بود؛ در این رابطه Kordi و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که رابطه مثبت بین ترکیب‌های فلاونولیگنانی با سیلی‌مارین نیز وجود دارد، به‌طوری که با افزایش هر یک از فلاونولیگنان‌ها مقدار سیلی‌مارین افزایش می‌یابد. Haj-Seyed Hadi و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی اثرات سیستم‌های تولید رایج و کم‌نهاده روی ماریتیغال نشان دادند که استفاده از کود زیستی ورمی‌کمپوست در سیستم تولید کم‌نهاده با اثرات مفید آن بر فعالیت‌های میکروبی خاک باعث افزایش سیلی‌مارین و عملکرد سیلی‌مارین می‌شود. همچنین با افزایش ارتفاع گیاه ماریتیغال مقدار سیلی‌مارین افزایش یافت که با نتایج (Hasanloo *et al.*, 2008) مطابقت داشت. همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه از طریق جذب آب و عناصر غذایی، سبب افزایش فتوسنتر شده و این امر موجب تولید فراورده بیشتر در گیاه می‌گردد (Khalvati *et al.*, 2005).

نانو کلات آهن باعث افزایش پتاسیم می‌شود و پتاسیم در رشد گیاه تأثیر بسزایی دارد. این عنصر در ساخت هیدروکربن و پروتئین نقش مؤثری ایفاء می‌کند، همچنین سهمی عمدۀ را در قسمت فعالیت‌های سلولی و تعادل بین عناصر غذایی بر عهده دارد (Salardini, 2005). بنابراین تعادل بین عناصر غذایی کم مصرف و پر مصرف در محیط رشد گیاه، سبب افزایش عملکرد محصول می‌شود (Omidbeigi, 2011). در تحقیق جاری نانو کلات آهن بر ارتفاع بوته، عملکرد بذر و پتاسیم ماریتیغال تأثیر مثبت و معنی‌داری گذاشت. تحقیقات قبلی نیز نشان داده کود نانو باعث افزایش رشد گیاه بادام‌زمینی می‌شود (Prasad *et al.*, 2012). البته تأثیر مثبت مواد غذایی نانو بر رشد (ارتفاع) گیاه ریحان نیز گزارش شده است (Peyvandi *et al.*, 2011). علاوه‌بر قارچ میکوریزا با افزایش نانو کلات آهن مقدار پتاسیم بذر ماریتیغال افزایش یافت که با تحقیق Chohura و همکاران (۲۰۰۷) در میوه توتفرنگی مطابق بود. Golchin و Hashemimajd (۲۰۰۹) گزارش کردند که با افزایش درصد آهن در ورمی‌کمپوست غنی‌شده با آهن، میزان پتاسیم اندام هوایی گوجه‌فرنگی به‌طور قابل

- Silybum marianum* transformed and untransformed root Culture. Journal Fitoterapia, 71(4): 379-784.
- Al-Karaki, G.N. and Clark, R.B., 1998. Growth, mineral acquisition, and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. Journal of Plant Nutrition, 21: 263-276.
 - Al-Karaki, G.N. and Clark, R.B., 1999. Mycorrhizal influence on protein and lipid of durum wheat grown at different soil phosphorus levels. Journal Mycorrhiza, 9(2): 97-101.
 - Ansori-Savari, A., 2011. Evaluation the Effect of Mycorrhizal Fungi, Tio-Basillus Bacteria and Different Level of Sulfur on Growth and Yield of Corn. MSc thesis. Industrial University of Shahrood, 100p.
 - Auge, R.M., 2001. Water relations, drought and VA mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza, 11(1): 3-42.
 - Azimi, R., Jangjo, M. and Tabiei, H.R., 2013. The effect of mycorrhizal fungi inoculation on primary establishment and morphological characteristics of medicinal plant garden thymus in natural areas. Journal of Researches in Iran, 11(4): 666-676.
 - Baset Mia, M.A., Shamsuddin, Z.H., Wahab, Z. and Marziah, M., 2010. Effect of plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) inoculation on growth and nitrogen Incorporation of tissue-cultured Musa plantlets under nitrogen-free hydroponics condition. Australian Journal of Crop Science, 4(2): 85-90.
 - Besharati, H., Atashnama, K. and Hatami, S., 2007. Biosuper as a phosphate fertilizer in a calcareous soil with low available phosphorus. African Journal of Biotechnology, 6: 1325-1329.
 - Cabello, M., Irrazabal, G., Bucsinszky, A.M., Saparrat, M. and Schalamuk, S., 2005. Effect of an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*, and a rock-phosphate-solubilizing fungus, *Penicillium thomii*, on *Mentha piperita* growth in a soilless medium. Journal of Basic Microbiology, 45:182-189.
 - Cardoso, M. and Kuyper, T.W., 2006. Mycorrhizal and tropical soil fertility. Journal Agriculture, Ecosystems and environment, 116(1): 72-84.
 - Chohura, P., Kołota, E. and komosa, A., 2007. The effect of different source of iron on nutritional value of greenhouse tomatofruit grown in peat substrate. Journal Vegetable Crops Research Bulletin, 67: 55-61.
 - Copetta, A., Lingua, G. and Berta, G., 2006. Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. Journal Mycorrhiza, 16(7): 485-494.
 - Dakoral, F.D., Matirul, V., Kingal, M. and Phillipsz, D.A., 2002. Plant Growth Promotion in Legumes

تلفیقی افزایش داد. وی اظهار داشت این پدیده نشان دهنده کارایی و سودمندی بیشتر استفاده از تیمارهای آلى در افزایش عملکرد کمی و کیفی کنگر فرنگی در مقایسه با تیمارهای حاصلخیز شیمیابی است. البته همه این عوامل می توانند به دلیل تأثیر مثبت کود دامی بر ویژگی های فیزیکی و شیمیابی خاک به وسیله افزایش ماده آلى خاک باشد .(Abdollah-zareh et al., 2013)

به عنوان نتیجه گیری کلی باید گفت که طبق نتایج بدست آمده قارچ میکوریزا گلوموس موسه آ (*Glomus mosseae*) بهترین تیمار در بین تیمارهای کودی در گیاه ماریتیغال بود. بنابراین قارچ میکوریزا با توجه به گسترش ریشه و تغییر در خصوصیات مورفولوژیکی ریشه موجب جذب آب و عنصر غذایی مانند فسفر، نیتروژن و پتاسیم می شود. در نتیجه موجب افزایش رشد و فعالیت بهتر رنگریزه های فتوسنتری گردید و همچنین باعث بهبود عملکرد دانه و افزایش سیلی مارین گیاه ماریتیغال شد که در صنعت داروسازی دارای اهمیت فراوان است. البته علت اینکه ترکیب قارچ میکوریزا گلوموس موسه آ با کود دامی نتیجه بهتری نداشت می توان به کاهش کلونیزاسیون قارچ میکوریزا در اثر افزایش کود دامی مربوط دانست.

منابع مورد استفاده

- Abdelhafez, A.A. and Abdel-Monsie, R.A., 2006. Effects of VA mycorrhizal inoculation on growth, yield and Nutrient content of cantaloupe and cucumber under different water regimes. Journal of Agriculture and Biological Sciences, 2(6): 503-508.
- Abdolah-Zareh, S., Fateh, A. and Ayeneh-band E., 2013. Effects of different planting dates and chemical and livestock fertilizers and their combination on the content of active ingredient in medicinal plant of thistle (*Silybum marianum*) seed. Iran Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29(2): 486-501.
- Adediran, J.A., Taiwo, L.B., Akande, M.O., Sobulo, R.A. and Idowu. O.J., 2004. Application of organic and inorganic fertilizer for sustainable maize and cowpea yields in Nigeria. Journal of Plant Nutrition, 27: 1163-1181.
- Alikardis, F., Papadakis, D., Pantelia, K. and Kephala, T., 2000. Flavonolignan pradoction from

- biochemical properties. *Journal Soil Biology and Biochem.*, 39: 1699-1702.
- Ghorbani, R., Kochaki, A., Asadi, Gh. and Jahan, M., 2008. The effect of application of different organic fertilizers and foliar application of their extract on production and shelf life of tomato in the storage of ecological farming system. *Journal of farming researches of Iran*, 7(1): 2423-3978.
 - Glick, B.R., Penrose, D. and Wenbo, M., 2001. Bacterial promotion of plant growth. *Journal Biotechnology Advances*, 19(2): 135-138.
 - Gunaratna, C. and Zhang, T., 2003. Application of liquid chromatography-electrospray ionization-ion trap mass spectrometry to investigate the metabolism of silibin in human liver microsomes. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 794: 303-310.
 - Haj-Seyed Hadi, M.R., Sharifi Ashor-abadi, A. and Darzi, M.T., 2007. The effect of conventional and low input production systems, planting date and types of seeds on qualitative and quantitative yield of *Silybum marianum* as a medicinal plant. *Scientific Journal of Plant Ecosystem*, 10: 57-70.
 - Harris, D. and Paul, E.A., 1987. Carbon requirements of vesicular-arbuscular mycorrhizae: 93-103. In: Safir, G.E., (Ed.). *Ecophysiology of VA Mycorrhiza Plants*. CRC Press, Boca Raton, USA, 224p.
 - Hassan, F.A.S., 2009. Response of *Hibiscus sabdariffa* plant to some biofertilization treatments. *Journal Annals Agricultur Science*, 54(2): 437-445.
 - Hasanloo, T., Bahmanei, M., Sepehrifar, R. and Kalantari, F., 2008. Determination of Tocopherols and Fatty Acids in Seeds of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. *Journal Medicinal Plants*, 7(4): 69-76.
 - Hasanloo, T., Khavari-Nejad, R.A., Majidi, E. and Shams Ardakani, M.R., 2005. Analysis of flavonolignans in deried fruits *Silybum marianum* (L.) Gaertn from Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(12): 1778-1782.
 - Hasanudin, H., 2003. Increasing of the nutrient and uptake availability of N and P and through corn yield of inoculation of mycorrhiza, azotobacter and on ultisol organic matter. *Journal of Agriculture Sciences of Indonesia*, 5(1): 83-89.
 - Hashemimajd, K. and Golchin, A., 2009. The effect of iron-enriched vermicompost on growth and nutrition of tomato. *Journal Agriculture Sciences Technology*, 11: 613-621.
 - James, B., Rodel, D., Loretu, U., Reynaldo, E. and Tariq, H., 2008. Effect of vesicular arboscular mycorrhiza (VAM) fungi inoculation on coppicing ability and drought resistance of *Senna spectabilis*. *Pakistan Journal of Botany*, 40(5): 2217-2224.
 - and Cereals by Lumichrome a Rizobial Single Metabolite. Canadian Association of Business Incubation Publishing, 321p.
 - Demir, S., 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology*, 28: 85-90.
 - Dolatabadi, H., Mohammadi Goltapeh, E., Moieni, A. and Varma, A., 2012. Evaluation of different densities of auxin and endophytic fungi (*Piriformospora indica* and *Sebacina vermicifera*) on *Mentha piperita* and *Thymus vulgaris* growth. *Journal of Biotechnology*, 11(7): 1644-1650.
 - Ebdali Mashhad, A., Nabipoor, M. and Bakhshandeh, A., 2008. Evaluation of effect of top-working on quantitative and qualitative silymarin of native population of *Silybum marianum* L. *Electronics Journal of Agricultural Crops Production*, 2(1): 1-14.
 - El-Fouly, M.M., Mobarak, Z.M. and Salama, Z.A., 2011. Micronutrients (Fe, Mn and Zn) foliar spray for increasing salinity tolerance in wheat *Triticum aestivum* L. *African Journal of Plant Science*, 5: 314-322.
 - Eydizadeh, Kh., Mahdavi-Damghani, A.M., Ebrahimpoor, F. and Sabahi, H., 2011. The effects of the amount and method of bio-fertilizers in combination with chemical fertilizer on yield and yield components in *Zea maize*. *Electronics Journal of Agricultural Crops Production*, 4(3): 21-35.
 - Fallah Hoseini, Kh., Yazdani, D., Amin, Gh. and Maleki-Zade T., 2004. Review of anti-cancer effects of thistle plant (*Silybum marianum*). *Journal of Medicinal Plants*, 4: 46-53.
 - Fateh, A., 2008. The effect of soil fertility systems (organic and chemical) on yield of forage and medicinal properties of artichoke (*Cynara scolymus*). Ph.D Thesis in Agronomy Field, Ecology of Agronomy Plant Subject, Shahid Chamran University.
 - Fixon, P.E. and West, F.B., 2002. Nitrogen fertilizers: meeting contemporary challenges. *AMBIO*, 31: 169-176.
 - Francis, C.A., Flora, C.B. and King, L.D., 1990. *Sustainable Agriculture in Temperate Zones*. John Wiley and Sons, New York, 512p.
 - Freitas, M.S., Martins, M.A. and Vieira, I.C., 2004. Production and quality of essential oils of *Mentha arvensis* in response to inoculation with mycorrhizal fungi. *Journal Brazilian Agricultural Research*, 39: 887-894.
 - Ghollarata, M. and Raiesi, F., 2007. The adverse effects of soil salinization on the growth of *Trifolium alexandrinum* L. and associated microbial and

- with high effect). University of Tarbiat Modarres Publications, 299p.
- Mazaherinia, S., Astaraei, A. R., Fotovat, A. and Monshi, A., 2010. Nano iron oxide particles efficiency on Fe, Mn, Zn and Cu concentrations in wheat plant. Journal World Applied Sciences, 7: 36-40.
 - Miyazawa, K. and Shiozaki, H., 1990. The optimum amount of manure for long term application and adjustment of fertilizer use in thick high-humic and osolos in the south-west warm region of Japan. Journal Bulletin of the Kyushu National Agricultural Experiment Station, 26(3): 187-220.
 - Moallem, A.H. and Eshghi-zadeh, H.R., 2007. Application of biologic fertilizers: Advantages and limitations. Proceedings of Second National Conference of Ecology in Iran, Gorgan, 17-18 October: 47p.
 - Mohammad zadeh, A. and Mivehchi-langroodi, H., 1998. The combined application methods of manure and phosphorus in soil for reduction consumption of phosphate fertilizers in the soils of Booshehr province. Journal of Soil and Water, 12: 20-27.
 - Mucciarelli, M., Scannerini, S., Berretea, C. and Maffei, M., 2003. *In vitro* and *in vivo* peppermint (*Mentha piperita*) growth promotion by nonmycorrhizal fungal colonization. Journal New Phytologist, 15(8): 579-591.
 - Narayana, K.R., Sripal, R., Chaluvadi, M.R. and Krishan, D.R., 2001. Bioflavonoids classification, pharmalogical, biochemical effects and therapeutic potential. India Journal of Pharmacology, 33: 2-6.
 - Omidbeigi, R., 2011. Production and Processing of Medicinal Plants (Vol. 2). Publication of Astan Quds Razavi- Behshahr. 438p.
 - Pandey, A.C., Sanjay, S.S. and Yadav, R.S., 2010. Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum* L. Journal of Experimental Nanoscience, 5: 488-497.
 - Panjtandoost, M., 1999. The effect of iron on quantitative and qualitative of peanut (*Arachis hypogaea* L.) yields in Gilan province. Agricultural College in Tarbiat Modarres University, 108p.
 - Pareek, R.P. and Gaur, A.C., 1973. Release of phosphate from tricalcium phosphates by organic acids. Journal Current Sciences, 42: 278-279.
 - Peyvandi, M., Parande, H. and Mirza, M., 2011. Comparison of nano Fe chelate with Fe chelate effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Ocimum basilicum*. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal, 4: 89-99.
 - Porra, R.J., Thompson, A. and Friedman, P.E., 1989. Determination of accurate extraction and - Kandeel, A.M., Abou Taleb, N.S.A. and Sadek, A.A., 2002. Effect of biofertilizers on the growth, volatile oil yield and chemical composition of *Ocimum basilicum* L. Journal Annals of Agricultural Science, 1: 351-371.
 - Kaosaad, T., Vierheilig, H., Nell, M., Zitterl-Eglseer, K. and Novak, J., 2006. Arbuscular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., Lamiaceae). Mycorrhiza, 16(6): 443-446.
 - 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* L.) Sprague. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 18: 459-463.
 - Khalvati, M.A., Mzafar, A. and Schmidhalter, U., 2005. Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hypha and its signification for leaf growth, water relations and gas exchange of barley subjected to drought stress. Journal Plant Biology Stuttgart, 7(6): 706-712.
 - Khan, A.G., Kuek, C., Chaudhry, T.M., Khoo, C.S. and Hayes, W.J., 2000. Plants, mycorrhizae and phytochelatorsin heavy metal contaminated land remediation. Journal Chemosphere, 41: 197-207.
 - Kochaki, A., Hoseini, M. and Hashemi-dezfoli, A., 1999. Sustainable Agriculture. Publication of University Jahad of Mashhad, 164p.
 - Kochaki, A., Tabrizi, L. and Qorbani, R., 2009. Evaluation of the effect of biofertilizers on growth characteristics, yield and quality characteristics hyssop medicinal plants. Journal of Agricultural Research, 6: 137-127.
 - Kohneh, A., Haghparast-tanha, M.R., Ramezanpoor, H., Shirinfekr, A. and Alizadeh, P., 2007. Effect of mycorrhizal arbuscular fungi and phosphorus on the phosphorus uptake by tea plants in the sterile soil. Journal of Agricultural Sciences of Iran, 38(1): 11-17.
 - Kordi, H., Aghdasi, M. and Khalafi, M., 2013. Evaluation of flavonolignans in different parts of milk thistle (*Silybum marianum* L.) in Gorgan region. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29(3): 651-665.
 - Madakadze, I.C., Stewart, K.A., Madakadze, R.M., Peterson, P.R., Coulman, B.E. and Smith, D.L., 1999. Field evaluation of the chlorophyll meter to predict yield and nitrogen concentration of switch grass. Journal Plant Nutrition, 22(6): 1001-1010.
 - Malakouti, M.J. and Tehrani, M.M., 1999. The role of micro-elements on increasing the yield and quality improvement of agricultural product (Little elements

Plant and Seed Journal, 16(3): 327-349.

- Shokrpour, M., Mohammadi, S.A., Moghaddam, M., Ziai, S.A. and Javanshir, A., 2007. Variation in flavonolignan concentration of milk thistle (*Silybum marianum*) fruits grown in Iran. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants, 13(4): 1-15.
- Singh, D., Chand, S., Anvar, M. and Patra, D., 2003. Effect of organic and inorganic amendment on growth and nutrient accumulation by isabgol (*Plantago ovata*) in sodic soil under greenhouse conditions. Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 25: 414-419.
- Song, H., 2005. Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress and its mechanisms. Electronic Journal of Biology, 1(3): 44-48.
- Tabatabaii, S.J., 2009. The Principle of Mineral Nutrition of Plants. Moallem Publishing, 389p.
- Turk, M.A., Assaf, T.A., Hameed, K.M. and Tawaha, A.M., 2006. Significance of Mycorrhizae. World Journal Agriculture Science, 2: 16-20.
- Vaknin, Y., Hadas, R., Schafferman, D., Murkhovsky, L. and Bashan, N., 2008. The potential of milk thistle (*Silybum marianum* L.), an Israeli native, as a source of edible sprouts rich in antioxidants. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 59: 339-346.
- Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Journal Plant and Soil, 255(2): 571-586.
- Widada, J., Damarjaya, D.I. and Kabirun, S., 2007. The interactive effects of arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobacteria on the growth and nutrients uptake of sorghum in acid soil. First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization, 102: 173-177.
- Yadav, R.L., Keshwa, G.L. and Yadav, S.S., 2003. Effect of integrated use of FYM and sulphure on growth and yield of isabgol. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology, 25: 668-671.
- Yang, F., Hong, F.S., You, W.J., Liu, C., Gao, F.Q., Wu, C. and Yang, P., 2006. Influences of nanoanatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach. Journal Biological Trace Element Research, 110(2): 179-190.
- Yazdani Biuki, R., Rezvani Moghaddam, P., Khazaee, H.R. and Astaraee, A.R., 2010. Effect of chemical fertilizer on quality and quantity characters milk thistle. Iranian Journal of Field Crops Research, 8(5): 748-756.
- Zahir, A.Z., Arshad, M. and Frankenberger, W.F., 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: Application and perspective. Journal Advances in Agronomy, 81: 97-168.
- simultaneously equation for assaying chlorophyll a and b extracted with different solvents: verification of concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopic. Journal Biochimica et Biophysica Acta, 975: 384-394.
- Prasad, T.V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Raja, A., Reddy, K., Sreeprasad, T.S., Sajanlal, P.R. and Pradeep, T., 2012. Effect of nanoscales zinc oxide on the germination, growth and yield of peanut. Journal of Plant Nutrition, 35: 905-927.
- Quercia, V. and Pierini, N., 1980. HPLC evaluation of the rati between the antihepatotoxic cunestituents of marium. Journal Fitoterapin, 61: 279-301.
- Ranjbar, M. and shams G.A., 2009. Using of nanotechnology. Journal Environment Green, 3: 29-34.
- Renato, Y., Ferreira, M.E., Cruz, M.C. and Barbosa, J.C., 2003. Organic matter fractions and soil fertility under influence of liming, vermicopmpost and cattle manure. Journal Bioresource Technology, 60: 59-63.
- Rezvani, M., Ardakani, M.R., Rejali, F., Normohammadi, Gh., Zaferian, F. and Teimori, S., 1999. The effect of different strains of the mycorrhizal fungi on root characteristics and concentration of phosphorus, potassium, zinc and iron in Lucerne (*Medicago sativa* L.). Journal of Modern Agriculture, 15(5): 56-66.
- Salardini, A., 2005. Soil Fertility. Tehtan University Press, 434p.
- Saleh Rastin, N., 2001. Biological fertilizers and their role in order to achieve sustainable agriculture. Journal Soil and Water. Special Biological Fertilizers, 23: 19-23.
- Sandra, B., Natarajan, V. and Hari, K., 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane sugar yields. Journal Field Crop Research, 77: 43-49.
- Sharifi Ashor-abadi, A., 1998. Evaluation of Soil Fertility in Agricultural Ecosystems. Ph.D. Thesis, Islamic Azad University, The Branch of Sciences and Research of Tehran.
- Sharma, A.K., 2003. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios Publisher, India, 300p.
- Shenoy, V.V. and Kalagudi, G.M., 2005. Enhancing plant phosphorus use efficiency for sustainable cropping. Journal Biotechnology Advances, 23: 501-513.
- Shirani-Rad, E.H., Alizadeh, A. and Hashemi-dezfoli, A., 1999. Evaluation the effect of Mycorrhizal-Arbuscular fungi, phosphorus and drought stress on the efficiency of nutrient uptake in wheat plants.

Effects of different fertilizers and their combination on some quantitative and qualitative characteristics of milk thistle (*Silybum marianum* L.)**H. Yadegari^{1*}, I. Khammari², M. Salari², B.A. Fakheri², M. Rahimi² and F. Bidarnamani³**

1*- Corresponding author, M.Sc Graduate, University of Zabol, Zabol, Iran, E-mail: yadegari.hooshang@yahoo.com

2- Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

3- Agricultural Institute, University of Zabol, Zabol, Iran

Received: June 2015

Revised: March 2016

Accepted: April 2016

Abstract

Milk thistle (*Silybum marianum* L.), belonging to the Asteraceae family, is an annual plant and prefers light and fertile soils. Silymarin is the most important compound extracted from the seeds of this plant and it is used in the treatment of liver diseases, hepatitis, cirrhosis and liver cancer prevention. In usual agricultural systems, the purpose of using fertilizers and their combination is to obtain the highest seed yield and quality of the active substances. In order to investigation of the effect of different fertilizers and their combination on some quantitative and qualitative characteristics of milk thistle, an experiment was arranged in split plot in a randomized complete block design with three replications in the Research Farm of Agricultural Institute, University of Zabol, during 2013-2014. In this study, the main factors were Hungary genotype (A1) and Mashhadi population (A2) and the sub factors were application of different fertilizers such as control treatment, manure, chemical fertilizer (urea + ammonium phosphate + potassium), mycorrhizal fungi (*Glomus mossaea*), combination of nitroxin, bio-sulfur and bio-superphosphate, combination of chemical fertilizer and manure, combination of mycorrhizal fungi and manure, and nano-iron chelate. The results showed that there was not any significant difference between Hungary genotype and Mashhadi population. Totally, the mycorrhizal fungi (*G. mossaea*) was the best treatment than other fertilizer treatments in the milk thistle plant and it caused enhancing the growth and better activity of photosynthetic pigments as well as improved seed yield and increased silymarin substance in the milk thistle plant.

Keywords: Silymarin, manure, chemical fertilizer, Milk thistle (*Silybum marianum* L.), Mycorrhizal.