



اثر کودهای آلی و زیستی بر محتوای نیتروژن، فسفر و پتاسیم، رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان ماده مؤثره گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea Purpurea* L.)

حسنا فیاضی^{۱*} - علیرضا ابدالی مشهدی^۲ - احمد کوچک زاده^۳ - عبدالحمید پاپ‌زن^۴ - محمد حسین ارزانش^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۵/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۲۱

چکیده

مصرف کودهای بیولوژیک به دلیل تأثیر زیاد در اصلاح خصوصیات خاک، کاهش عوارض زیست‌محیطی و رشد بهتر گیاه از جمله راه‌کارهای مناسب در تولید ارگانیک گیاهان دارویی می‌باشد. به منظور مطالعه تأثیر کودهای آلی و زیستی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، عناصر معدنی و میزان ماده مؤثره در گیاه سرخارگل، آزمایشی در سال زراعی ۱۳۹۳-۱۳۹۲ در مزرعه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. محلول‌پاشی چای ورمی کمپوست به‌عنوان فاکتور اول در دو سطح (بدون مصرف چای ورمی کمپوست و مصرف چای ورمی کمپوست)، در کرت اصلی، کود آلی به‌عنوان فاکتور دوم در سه سطح (بدون مصرف کود، کود ورمی کمپوست و کود گاوی) و کود زیستی به‌عنوان فاکتور سوم در دو سطح (بدون مصرف کود زیستی و مصرف کود زیستی بیوازوسپیر) در کرت فرعی در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد بیشترین فنل ریشه و فنل کل از تیمار ورمی کمپوست به‌دست آمد. در حالی که بالاترین نیتروژن برگ، نیتروژن ساقه، فسفر برگ، فسفر ساقه، کلروفیل a، کلروفیل b، کاراتنوئید، فنل برگ و فنل ساقه از ترکیب تیماری ورمی کمپوست به همراه چای ورمی کمپوست حاصل شد. سرخارگل تحت تیمار تلفیقی ورمی کمپوست به همراه کود زیستی بیوازوسپیر بیشترین فنل گل و اسید شیکوریک را تولید کرد. همچنین حداکثر پتاسیم ساقه و پتاسیم برگ از تیمار ترکیبی محلول‌پاشی چای ورمی کمپوست در کود زیستی بیوازوسپیر به‌دست آمد. این تحقیق نشان داد که تیمار ترکیبی ورمی کمپوست به همراه محلول‌پاشی چای ورمی کمپوست نسبت به سایر تیمارها در کشت سرخارگل مفیدتر بود.

واژه‌های کلیدی: اسید شیکوریک، بیوازوسپیر، چای ورمی کمپوست، فنل

مقدمه

سرخارگل با نام علمی (*Echinacea Purpurea* L. (Moench)) از تیره ستاره‌آسائ گیاهی علفی، چندساله، بومی شرق و مرکز ایالات متحده می‌باشد (Omidbaigi, 2009). این گیاه از جمله گیاهان دارویی مهمی است که کاربرد وسیعی در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی دارد و امروزه در اکثر نقاط اروپا، آسیا و همچنین ایران کشت می‌شود (Gladisheva, 1995). تمام پیکر این گیاه اعم از ریشه و پیکر رویشی حاوی مواد مؤثره ارزشمندی است (Wu et al., 2004). در ۵۰ سال اخیر این گیاه به دلیل خواص ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد باکتریایی شهرت جهانی یافته است و ترکیبات حاصل از آن در گروه مواد تقویت‌کننده سیستم ایمنی بدن به‌شمار می‌روند. فرآورده‌های سرخارگل هم‌اکنون به‌عنوان تصفیه‌کننده خون، ضد عفونی‌کننده و آرام‌بخش معرفی می‌شوند (Gladisheva, 1995).

تقاضا برای تولید محصولات طبیعی و استفاده از گیاهان دارویی به‌طور مداوم در جهان رو به افزایش است (Carrubba et al., 2002). کاربرد صحیح عناصر غذایی در طول مراحل کاشت و داشت گیاهان دارویی، نه تنها نقش اساسی در افزایش عملکرد را در پی دارد بلکه بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره آن نیز مؤثر است (Omidbigi, 2008).

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
 - ۲- دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
 - ۳- استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
 - ۴- دانشیار، دانشگاه رازی کرمانشاه
 - ۵- استادیار، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان
- *- نویسنده مسئول: (Email: h_fayaz222@yahoo.com)

DOI: 10.22067/gsc.v16i2.49182

رشد است که در ساخت این کود زیستی از ماده حامل سازگار با محیط‌زیست (مخلوط پرلیت، زغال اکتیو و مواد مجاز دیگر) و باکتری محرک رشد گیاه از جنس‌های ازتوباکتر^۲، آزوسپیریلوم^۳ و باسیلوس^۴ با جمعیت کل ۱۰^۸ سلول در هر گرم استفاده شده است. باکتری انتخاب شده در ساخت این نوع کود زیستی علاوه بر توان تثبیت نیتروژنی بالا، دارای قدرت حل‌کنندگی بهتر فسفر و تولید مناسب ایندول استیک می‌باشد. تحقیق انجام شده بر روی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*) نشان داد که مصرف مخلوطی از قارچ و باکتری‌ها به دلیل اثرات مختلف این ریز موجودات در تثبیت نیتروژن و قابلیت دسترسی بهتر فسفر برای گیاه، روند افزایشی در بهبود رشد گیاه و جذب فسفر ملاحظه شد و عملکرد اسانس را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (Koocheki et al., 2008). همچنین در گزارش دیگری به اثر مثبت استفاده از کود بیولوژیک ازتوباکتر در افزایش اسانس گیاه دارویی رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) اشاره داشتند (Leithy et al., 2006) ورمی‌واش یا چای کمپوست محلول بسیار غلیظی بوده که با عصاره‌گیری میکروبی از ورمی‌کمپوست تهیه می‌شود (Ali Omrani et al., 2011). نیتروژن، فسفر، پتاسیم محلول و بسیاری از عناصر کم مصرف از عناصر اصلی ورمی‌واش‌اند (Shivsubramanian and Ganeshkumar, 2004). در بررسی بر روی گیاه بادنجبویه (*Melissa officinallis*) مشخص گردید محلول‌پاشی با عصاره ورمی‌کمپوست (ورمی‌واش) بر روی صفات مورفولوژیک و عملکرد اسانس دارای اثر معنی‌داری بود (Nemati et al., 2012). همچنین نتایج به‌دست آمده در تحقیقی بر روی گیاه مرزه (*Satureia hortensis* L.) بیانگر آن بود که بیشترین وزن خشک، کلروفیل برگ، درصد و عملکرد اسانس تحت تأثیر تلقیح بذر محلول‌پاشی با کود بیولوژیک به‌دست آمد (Lotf Manesh et al., 2013).

ترکیبات فنلی در گیاهان نقش‌های مهمی در سازگاری محیطی و استحکام گیاه دارند (Luzzatto et al., 2007). مشتقات کافئیک اسید از جمله ترکیبات فنلی مهم در تمام گونه‌های سرخارگل می‌باشند (Luo et al., 2006). نقش و خواص این ترکیبات شامل آنتی‌میکروبی (ویروس، باکتری و قارچ)، آنتی‌اکسیدانی، تقویت سیستم ایمنی و کاهش‌دهنده فشار خون، تپش قلب و تسکین درد است (Bauer and Wagner, 1991). ترکیب اسید شیکوریک نیز یکی از ترکیبات مهم از مشتقات کافئیک اسید در گونه سرخارگل است، که علاوه بر خصوصیات تحریک و تقویت سیستم ایمنی، واکنش و فعالیت علیه ویروس ایدز (HIV) را از خود نشان می‌دهد (Lin et al., 1999).

مواد آلی و زیستی به علت اثرات مفیدی که بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی، بیولوژیکی و حاصلخیزی خاک دارند یکی از ارکان مهم باروری خاک محسوب می‌شوند و به سبب بهبود خصوصیات شیمیایی خاک مثل pH، ظرفیت تبادل کاتیونی و افزایش میکروارگانیسم‌ها و میزان دسترسی به مواد غذایی، باعث افزایش باروری خاک می‌شوند (Renato et al., 2003; Biyari et al., 2008). بنابراین با مدیریت صحیح حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه می‌توان ضمن حفظ محیط‌زیست، افزایش کیفیت آب، کاهش فرسایش و حفظ تنوع زیستی، کارایی نهاده‌ها را افزایش داد و سبب افزایش رشد و عملکرد در گیاهان شد (Ghost and Bhat, 1998). ورمی‌کمپوست یا کمپوست کرمی عبارت است از کودی آلی که در اثر عبور مواد آلی از دستگاه گوارش نوعی کرم خاکی از جنس آیزینافیتیدا^۱ و دفع این مواد از بدن کرم حاصل می‌گردد (Atiyeh et al., 2000). این کود دارای قدرت بالای جذب و نگهداری آب و عناصر غذایی، افزایش جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید خاک بوده و در جهت فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم محلول عمل نموده و سبب بهبود رشد و عملکرد گیاه زراعی می‌شود (Arancon et al., 2004; Padmavathiamma et al., 2008). در بررسی کاربرد کودهای آلی بر روی گیاه نعنای فلفلی مشاهده شد که عملکرد اسانس گیاه در کشت ارگانیک حدود ۸۴-۸۰٪ عملکرد رایج این محصول بود (Kalra, 2003). در آزمایش دیگری کاربرد کودهای آلی باعث افزایش عملکرد بیولوژیک و عملکرد اسانس در گیاه دارویی درمنه (*Artemisisa peallns*) شد (Parakasa et al., 1997). بدون تردید کاربرد کودهای آلی و دامی به‌خصوص در خاک‌های فقیر از عناصر غذایی اثرات مثبتی بر کلیه خصوصیات خاک و حفظ کیفیت خاک و افزایش مواد آلی خاک نسبت به کاربرد کودهای معدنی دارد (Mao et al., 2008; Lee, 2010). نتایج آزمایشی نشان داد بیشترین عملکرد اسانس برگ در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) با مصرف کود دامی در مقایسه با سایر تیمارها ایجاد شد (Tahami Zarandi et al., 2010). همچنین آزمایش انجام گرفته بر روی گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) نشان داد بیشترین میزان اسانس با استفاده از کود دامی به‌دست آمد (Bakhshai et al., 2010).

کاربرد باکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاه به‌صورت کودهای زیستی نقش مهمی در مدیریت پایدار بوم‌نظام‌های زراعی، افزایش حاصلخیزی خاک و تولید این گونه نظام‌ها دارند. همچنین، کاربرد مواد آلی و انجام عمل تلقیح با استفاده از کودهای بیولوژیک می‌تواند باعث بهبود خواص کمی و کیفی گیاه گردد (Astarai et al., 1997). کود زیستی بیوازوسپیر نیز یکی از انواع باکتری‌های افزاینده

2- Azotobacter

3- Azospirillum

4- Basillios

1- *Eisenia eftida*

کیلومتری شمال شرق اهواز با عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه شرقی، با ارتفاع ۲۳ متر از سطح دریا به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. در این تحقیق تأثیر محلول‌پاشی چای ورمی کمپوست به‌عنوان فاکتور اول در دو سطح (بدون مصرف چای ورمی کمپوست و مصرف دو لیتر چای ورمی کمپوست در هکتار)، در کرت اصلی، کود آلی به‌عنوان فاکتور دوم در سه سطح (بدون مصرف کود، پنج تن کود ورمی کمپوست در هکتار و سی تن کود گاوی در هکتار) و کود زیستی به‌عنوان فاکتور سوم در دو سطح (بدون مصرف کود زیستی و مصرف ۴۰۰ گرم در هکتار کود زیستی بیوازوسپیر) که ترکیب تیماری سطوح فاکتور دوم و سوم در کرت فرعی در نظر گرفته شدند.

با توجه به بومی نبودن این گیاه در ایران و فقدان اطلاعات کافی از خصوصیات آن در شرایط آب و هوایی کشور و همچنین به دلیل مصارف دارویی متعدد سرخارگل، دستیابی به دانش فنی تولید بهینه این گیاه دارویی ارزشمند ضروری است. لذا با توجه به لزوم مدیریت تغذیه گیاهی در راستای افزایش، پایداری در تولید و حفظ محیط‌زیست، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر کودهای آلی و زیستی بر صفات کیفی و ترکیبات مؤثره گیاه سرخارگل و همچنین یافتن تلفیقی مناسب از کودها انجام پذیرفت تا با اتکا به نهاده‌های بیولوژیک بتوان جهت تولید پایدار این گیاه دارویی مهم گام برداشت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۳-۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان واقع در ۳۵

جدول ۱- ترکیب شیمیایی ورمی کمپوست مورد استفاده در آزمایش

Table 1- Chemical composition of vermicompost

K (%)	P (%)	N (%)	O.C (%)	OM (%)	Ec (dS m ⁻¹)	(pH)
1.6	2.1	3.2	26	1.2	1.3	7.4

داشت شامل آبیاری، وجین علف هرز و واکاری در طول فصل رشد انجام گرفت و در این مدت از هیچ نوع علف‌کش و آفت‌کشی استفاده نگردید. وجین علف هرز به صورت دستی انجام شد. در ادامه کود زیستی بیوازوسپیر طبق توصیه شرکت تولیدکننده در مرحله ساقه رفتن به صورت محلول در آب در پای ردیف‌های کاشت در هنگام غروب آفتاب مورد استفاده قرار گرفت. چای ورمی کمپوست نیز با استفاده از سمپاش کوله پشتی ۱۰ لیتری (به ازای هر لیتر آب ۱۰ میلی‌متر چای ورمی کمپوست برای ۱ متر مربع) در مرحله قبل از گلدهی پس از کالیبره کردن سمپاش برای هر کرت محاسبه و در هنگام غروب آفتاب محلول‌پاشی شدند. شایان ذکر است خاک محل آزمایش به میزان ۰/۰۴۵ درصد نیتروژن، ۶/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر، ۱۹۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پتاسیم و ۰/۶۲ درصد مواد آلی داشت. برداشت گل‌ها از زمان شروع آن در اوایل خرداد آغاز و تا پایان تیر ماه ادامه یافت. برای اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در مرحله ۵۰ درصد گل‌دهی از هر واحد آزمایشی تعداد ۵ بوته به‌عنوان نمونه انتخاب شدند. مقدار کلروفیل با استون ۸۰ درصد استخراج شد و میزان جذب نور توسط عصاره استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر به ترتیب برای کلروفیل a، کلروفیل b و کاراتنوئید برگ قرائت گردید (Ashraf et al., 1994). برای تعیین عناصر معدنی و ترکیبات فنلی نمونه‌برداری در پایان مرحله گلدهی (اواخر تیر ماه) انجام گرفت سپس نمونه‌ها در

ابتدا در تابستان سال ۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه بر روی بذرهای عمل پرایمینگ^۱ به روش سرمادهی مرطوب در دمای پنج درجه سانتی‌گراد به مدت ده روز در تاریکی انجام گرفت و پس از آن بذرهای خشک گردیده و کشت آن‌ها در کیسه‌های پلاستیکی ۵۰۰ گرمی با بستر کشت مناسب انجام گرفت و پس از رسیدن نشاءها به مرحله دوبرگی در مهرماه همان سال به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان منتقل گردید و در آنجا پس از انجام عمل سازگاری (قرار دادن نشاءها در فضای آزاد به مدت یک ماه) جهت انتقال نشاء به زمین اصلی عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم، دیسک، تسطیح انجام گرفت. در ادامه کرت‌هایی به ابعاد ۲/۸ در ۳ متر ایجاد شد به طوری که فاصله بین دو کرت یک متر و فاصله بین دو تکرار دو متر در نظر گرفته شد. در داخل هر کرت ۷ خط کاشت در نظر گرفته شد سپس تیمارهای کود آلی، شامل کود گاوی پوسیده به میزان ۲۵/۲ کیلوگرم و کود ورمی کمپوست به میزان ۴/۲ کیلوگرم برای هر کرت محاسبه و با خاک زراعی قبل از کشت نشاء مخلوط گردید. اولین آبیاری قبل از انتقال نشاء به صورت زه‌آب صورت گرفت و سپس نشاءها در مرحله ۴ برگی به زمین اصلی منتقل و با فاصله بین ردیف ۴۰ سانتی‌متر و روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر کشت گردید و بلافاصله آبیاری به صورت جوی پشته انجام گرفت. عملیات

1- Priming

ورمی کمپوست به همراه محلول پاشی ورمی‌واش نسبت به تیمار شاهد منجر به افزایش معنی‌داری در نیتروژن برگ، نیتروژن ساقه، فسفر برگ و فسفر ساقه به ترتیب برابر با ۲۶/۴۱، ۴۵/۵۸، ۲۶/۶۹ و ۴۵/۹۳ درصد شد (جدول ۳). همچنین، در بین تیمارهای آزمایشی بیشترین میزان پتاسیم برگ و ساقه با افزایشی به ترتیب برابر با ۳۲/۹۴ و ۳۰/۱۴ درصد نسبت به تیمار شاهد از ترکیب تیماری سه‌گانه محلول پاشی در کود ورمی کمپوست در کود بیوازوسپیر به دست آمد (جدول ۴).

موراس در تحقیقی به این نتیجه رسید که وجود ماده آلی در خاک باعث افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز شده و نیتروژن به راحتی در اختیار ریشه گیاه قرار می‌گیرد (Morase, 1985). از طرفی مواد پروتئینی با ترکیبات آلی فاقد نیتروژن مانند لیستین و فنل و مواد هیومیک خاک، ترکیبات پیچیده‌ای با ساختار شیمیایی نامشخص تشکیل می‌دهند که باعث ذخیره نیتروژن در خاک شده و از اتلاف آن به وسیله آبشویی یا تصعید جلوگیری می‌کند (Dommerguse, 1970). خواص فیزیکی و شیمیایی اسید هیومیک موجود در ورمی کمپوست و عصاره‌ی آن با افزایش ظرفیت نگهداری عناصر غذایی و افزایش هورمون‌های تنظیم‌کننده‌ی رشد باعث تجمع نیتروژن توسط گیاه می‌گردد (Toro et al., 1997; Arancon et al., 2005). در این راستا خالص‌رو (Khalso, 2010). بیان نمود که ورمی کمپوست موجب تحریک میکروارگانیزم‌های مفید خاک و عرضه مداوم و پایدار عناصر معدنی به‌ویژه نیتروژن و فسفر گیاه می‌شود. نتایج آزمایشی نشان داد استفاده از ورمی‌واش به صورت برگ‌پاشی در گندم زمستانه و نیز مصرف ۳۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، موجب افزایش میزان متوسط محصول به ۷/۶۲ تن در هکتار شد (Ložek and Fecenko, 1998). همچنین با بررسی اثر محلول پاشی کود بیولوژیکی مایع (ورمی‌واش) بر تغذیه و شاخص رشد دیفن‌باخیا دریافتند که محلول پاشی اثر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد و نیتروژن در دیفن‌باخیا داشت (Mahboub Khomami, 2005). مطالعه پژوهشگران بر روی گیاه فلفل قرمز نشان داد که کاربرد ورمی کمپوست، سبب افزایش معنی‌دار غلظت فسفر برگ نسبت به بوته‌های شاهد گردید (Manjarrez et al., 2000). همچنین در آزمایش دیگری نشان داده شد که بهبود قابل ملاحظه غلظت فسفر در دانه و جذب کل آن در گیاه بادام زمینی (*Arachis hypogaea*) در اثر کاربرد کود آلی ورمی کمپوست است (Mohanty et al., 2006). بررسی‌های صورت گرفته بر روی گیاه آگلونما نیز نشان‌دهنده آن است که محلول پاشی کود بیولوژیکی مایع (ورمی‌واش) اثر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد نیتروژن و فسفر در آگلونما داشت (Mahboub Khomami, 2005). از طرفی به نظر

سایه خشک گردید. اندازه‌گیری مقدار فسفر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Spectronic Genesys 5, U. S. A) در طول موج ۶۶۰ قرائت گردید (Omidbaigi, 2009). اندازه‌گیری پتاسیم به روش نشر شعله‌ای با استفاده از دستگاه فیلم فتومتر صورت گرفت. به منظور اندازه‌گیری درصد نیتروژن پس از هضم نمونه‌ها از دستگاه کجل‌تک اتوآنالیزر (Kjeltec 2300 Analyzer unit, Germany) استفاده شد (Morase, 1985). اندازه‌گیری ترکیبات فنلی به روش پیشنهادی واتر‌هوس (Waterhouse, 2003) و با عصاره‌گیری از گیاه صورت پذیرفت که این عمل با استفاده از متانول و قرار گرفتن در دستگاه سانتریفوژ انجام شد. سپس به ۳۰ میکرولیتر از این عصاره ۱۵۰ میکرولیتر فولین، ۲۳۷۰ میکرولیتر آب و ۴۵۰ میکرولیتر کربنات سدیم اضافه گردید و میزان فنل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید جهت تهیه استاندارد فنل از اسید گالیک در غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر فنل همراه با معرف فولین تهیه شد. اندازه‌گیری ترکیب اسیدشیکوریک (مشتقات اسید کافئیک) با روش کروماتوگرافی مایع به‌وسیله دستگاه HPLC مدل Knauer صورت گرفت نمونه‌ها پس از آماده‌سازی به دستگاه تزریق گردید و سپس مساحت زیر منحنی به‌دست آمده از دستگاه را در معادله منحنی استاندارد قرار داده و غلظت اسیدشیکوریک بر حسب میلی‌گرم در گرم ماده خشک (mg.g⁻¹dw) محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

عناصر معدنی

نیتروژن، فسفر و پتاس (برگ و ساقه): نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که کود آلی، زیستی و محلول پاشی تأثیر معنی‌داری بر میزان فسفر، نیتروژن و پتاس برگ و ساقه داشت. از سوی دیگر ترکیب تیماری محلول پاشی به همراه کود زیستی در هیچ‌یک از صفات معنی‌دار نشد. همچنین ترکیب تیماری محلول پاشی به همراه کود زیستی در تمامی صفات به غیر از پتاس ساقه تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در حالی که اثر تیمار کود آلی به همراه کود زیستی تنها در صفت فسفر و نیتروژن ساقه معنی‌دار بود. اما اثرات سه‌گانه کود آلی در زیستی در محلول پاشی به جز تیمار پتاس ساقه و برگ در سایر صفات سبب ایجاد تفاوت معنی‌دار نشد (جدول ۲). بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها ترکیب تیماری

فراهم آورد (Asar and scarisbrick, 1995). یافته‌های محققین بر روی گیاه پیاز نیز با نتیجه این پژوهش هماهنگی دارد (Toro et al., 1997).

می‌رسد که حضور باکتری‌های محرک رشد در بستر حاوی ورمی کمپوست می‌تواند سبب بهبود فعالیت این باکتری‌ها شده و شرایط لازم را برای فراهمی بیشتر عناصری همچون نیتروژن و فسفر

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس مجموع مربعات میزان عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ و ساقه گیاه سرخارگل تحت تأثیر کودهای آلی و زیستی

Table 2- Analysis of variance (mean squares) of amount of nitrogen, phosphorus and potassium in leaf and stem of the plant *Echinacea purpurea* under the influence of organic and biological fertilizers

منبع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات					
		فسفر ساقه Shoot Phosphorus	فسفر برگ Leaf Phosphorus	نیتروژن ساقه Shoot Nitrogen	نیتروژن برگ Leaf Nitrogen	پتاسیم ساقه Shoot Potassium	پتاسیم برگ Leaf Potassium
تکرار Replication	3	19.20 ^{ns}	18.04 ^{ns}	0.007 ^{ns}	0.04 ^{ns}	665.07 ^{ns}	1594.70 ^{ns}
محلول‌پاشی Spraying	1	501.24 ^{**}	70.82 [*]	0.19 ^{**}	0.18 [*]	6199.50 [*]	43023.44 ^{**}
خطای اصلی The main error	3	15.64	11.09	0.006	0.02	732.56	266.40
کود آلی Organic fertilizers	2	594.67 ^{**}	342.68 ^{**}	0.23 ^{**}	0.88 ^{**}	18618.19 ^{**}	44526.24 ^{**}
کود زیستی Bio-fertilizer	1	197.60 ^{**}	260.75 ^{**}	0.07 ^{**}	0.67 ^{**}	17206.96 ^{**}	7911.95 ^{**}
محلول‌پاشی × کود آلی Spraying × Organic fertilizers	2	85.81 ^{**}	85.04 [*]	0.03 ^{**}	0.21 [*]	1886.10 ^{ns}	2603.30 [*]
محلول‌پاشی × کود زیستی Spraying × Biofertilizer	1	4.77 ^{ns}	21.54 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.05 ^{ns}	698.01 ^{ns}	733.00 ^{ns}
کود آلی × کود زیستی Organic fertilizers × Biofertilizer	2	175.77 ^{**}	8.89 ^{ns}	0.06 ^{**}	0.02 ^{ns}	88.31 ^{ns}	160.13 ^{ns}
کود آلی × کود زیستی × محلول‌پاشی Organic fertilizers × Biofertilizer × Spraying	2	1.50 ^{ns}	10.78 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.02 ^{ns}	9045.52 ^{**}	6270.94 ^{**}
خطای فرعی Accessory error	30	125.38	314.22	0.04	0.81	9405.33	11038.39
ضریب تغییرات (%) C.V (%)		4.61	7.05	4.61	7.05	4.13	4.21

ns و * و ** به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵٪ و ۱٪ و عدم معنی‌دار بودن می‌باشد.

** and * and ns are significant at the 0.01 and 0.05 of probability level and non-significant, respectively.

رنگدانه‌های فتوسنتزی

با توجه به نتایج جدول ۵ مشاهده شد که اثر ساده محلول‌پاشی، کود آلی و تیمار تلفیقی کود آلی در محلول‌پاشی در صفات کلروفیل a، b و کاراتنوئید در سرخارگل معنی‌دار شد. همچنین اثر ساده کود زیستی تنها در صفت کلروفیل b معنی‌دار بود. در حالی که تیمار کود زیستی در محلول‌پاشی، کود زیستی در آلی و همچنین ترکیب تیماری سه‌گانه کود زیستی در آلی در محلول‌پاشی در تمامی صفات سبب ایجاد تفاوت معنی‌داری نشد.

همچنین، به نظر می‌رسد کاربرد ورمی کمپوست با قابلیت تحریک‌کنندگی فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید خاک و توانایی در افزایش نیتروژن نیتراتی سبب بهبود جذب عناصر معدنی شده و بر میزان پتاسیم جذب شده توسط برگ در مرحله انتقال تأثیر داشته است (Eliot et al., 1990). آزمایش انجام شده بر روی گیاه جو (Kumar et al., 2006) و همچنین افزایش میزان جذب عناصر معدنی نیتروژن و پتاسیم با افزایش میزان ورمی کمپوست بر روی نشاء فلفل شیرین (*Copsium annum* L.) بیانگر این موضوع می‌باشد (Dehdashtizade et al., 2009). از طرفی ورمی کمپوست دارای مواد تنظیم‌کننده رشد مانند سیتوکینین‌ها هستند که می‌تواند دلیلی برای تسریع در جذب بیشتر پتاسیم باشد چرا که سیتوکینین‌ها باعث تسریع جذب پتاسیم می‌شوند (Muscolo et al., 1999).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل محلول‌پاشی × کود آلی (SF) بر صفت نیتروژن و فسفر (برگ و ساقه)

Table 3- Mean comparisons of interaction of the spraying × organic fertilizer (SF) on the characteristics of leaves and stems nitrogen and phosphorus

تیمار Treatment	نیتروژن برگ Leaf Nitrogen	نیتروژن ساقه Root Nitrogen	فسفر برگ Lafe Phosphorus	فسفر ساقه Root Phosphorus
	(mg.g ⁻¹ dw)			
s ₁ f ₁ (شاهد) Control	2.06c	0.68d	40.66c	34.29d
s ₁ f ₂ (کود ورمی کمپوست) Vermicompost fertilizer	2.35b	0.88bc	46.36b	44.62cb
s ₁ f ₃ (کود دامی) Cow manure	2.38b	0.88c	47b	44.27c
s ₂ f ₁ (محلول‌پاشی) Spraying	2.24bc	0.88bc	44.13bc	44.42cb
s ₂ f ₂ (محلول‌پاشی × کود ورمی کمپوست) Spraying × Vermicompost fertilizer	2.61a	0.99a	51.40a	50.04a
s ₂ f ₃ (محلول‌پاشی × کود دامی) Spraying × Cow manure	2.32b	0.95ab	45.78b	48.11ab

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با هم ندارند.
Means with similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه محلول‌پاشی × کود آلی × کود زیستی (SFA) بر صفت پتاسیم برگ و ساقه

Table 4- Mean comparisons of triple interaction of foliar × fertilizer × biofertilizers (SFA) on the characteristics of Potassium leaves and stem

تیمار Treatment	پتاسیم برگ Leaves Potassium	پتاسیم ساقه Stem Potassium
	(mg.g ⁻¹ dw)	
s ₁ f ₁ a ₁ (شاهد) Control	366d	355f
s ₁ f ₂ a ₂ (ورمی کمپوست × کود زیستی) Vermicompost × Biofertilizer	456.69b	435b
s ₁ f ₃ a ₁ (کود دامی) Cow manure	419.79c	396.15e
s ₁ f ₁ a ₂ (کود زیستی) Biofertilizer	381.81d	420.67bdec
s ₁ f ₂ a ₁ (کود ورمی کمپوست) Vermicompost fertilizer	461.75b	430.67bc
s ₁ f ₃ a ₂ (کود دامی × کود زیستی) Cow manure × Biofertilizer	462.63b	462.63a
s ₂ f ₁ a ₁ (محلول‌پاشی) Spraying	429.06c	405.38de
s ₂ f ₂ a ₂ (محلول‌پاشی × کود ورمی کمپوست × کود زیستی) Spraying × Vermicompost × Biofertilizer	530a	471.94a
s ₂ f ₃ a ₁ (محلول‌پاشی × کود دامی) Spraying × Cow manure	505.67a	462a
s ₂ f ₁ a ₂ (محلول‌پاشی × کود زیستی) Spraying × Biofertilizer	470.33b	423bcd
s ₂ f ₂ a ₁ (محلول‌پاشی × ورمی کمپوست) Spraying × Vermicompost	469b	405.50cde
s ₂ f ₃ a ₂ (محلول‌پاشی × کود دامی × کود زیستی) Spraying × Cow manure × Biofertilizer	503.88a	468.67a

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با هم ندارند.
Means with similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level

فلاونوئیدها در گیاه می‌شود (Theunissen *et al.*, 2010). در تحقیقی بر روی برنج نشان داده شد بیشترین محتوای کلروفیل اندازه‌گیری شده برگ پرچم در این گیاه به تیمار ورمی کمپوست اختصاص داشت که ضمن اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها دارای ۱۸ درصد افزایش نسبت به تیمار بدون کود شد (Mosavi *et al.*, 2012).

ترکیبات مؤثره

فنل (گل، برگ، ساقه، ریشه و فنل کل): نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر ساده کود آلی و زیستی در تمامی صفات فنل گل، برگ، ساقه، ریشه و کل معنی‌دار شد. در حالی که اثر ساده محلول‌پاشی تنها در صفت فنل ریشه معنی‌دار نبود. همچنین اثر ترکیب تیماری محلول‌پاشی به همراه کود آلی در صفت فنل برگ و ساقه تفاوت معنی‌داری را نشان داد. از طرفی اعمال ترکیب تیماری کود آلی به همراه کود زیستی تنها در صفت فنل گل معنی‌دار شد. استفاده از ترکیب تیماری محلول‌پاشی در زیستی و همچنین اثر سه‌گانه کود آلی در زیستی در محلول‌پاشی در هیچ‌یک از صفات تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۷).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد در بین تیمارهای آزمایش بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاراتنوئید از ترکیب تیماری ورمی کمپوست به همراه محلول‌پاشی ورمی و اش با افزایش به ترتیب برابر با ۶۶/۶۶، ۳۳/۳۳ و ۴۲/۹۳ درصد در مقایسه با تیمار شاهد به دست آمد (جدول ۶).

ورمی کمپوست و عصاره حاصل از آن با افزایش و آزادسازی تدریجی عناصر غذایی مؤثر در سنتز کلروفیل مانند نیتروژن، آهن و منیزیم و همچنین افزایش نور جذب شده توسط گیاه باعث افزایش میزان کلروفیل برگ و در نتیجه سبزیگی برگ می‌شود. نتایج به دست آمده با یافته‌های محققین در گیاه دارویی ریحان (Sifola *et al.*, 2006; Tahami Zarandi *et al.*, 2010) همچنین محققین در بررسی گیاه سویا نشان دادند که ورمی کمپوست سبب افزایش سطح و محتوای کلروفیل برگ در مقایسه با گیاه شاهد شد (Mottaghian *et al.*, 2010). از طرفی محتوای کلروفیل با مقدار عناصر تغذیه‌ای جذب شده توسط گیاه از خاک ارتباط دارد و از آنجا که ورمی کمپوست شامل عناصر غذایی ماکرو و ریزمغذی می‌باشد به همین دلیل اثر مثبتی بر روی تغذیه گیاهی، فتوسنتز، کلروفیل برگ و میزان عناصر قسمت‌های مختلف گیاه (ریشه، اندام‌هوایی و میوه) داشته و به دلیل دارا بودن درصد بالای اسید هومیک موجب افزایش سنتز ترکیبات فنلی همچون آنتوسیانین‌ها و

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس میانگین مربعات کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید گیاه دارویی سرخارگل تحت تأثیر کودهای آلی و زیستی

Table 5- Analysis of variance (mean squares) of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid Echinacea purpurea under the influence of organic fertilizers and Biological

میانگین مربعات				
منبع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی d.f	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاراتنوئید Carotenoid
تکرار Replication	3	0.0019**	0.0001*	1.38*
محلول‌پاشی Spraying	1	0.003**	0.003**	2.75*
خطای الف Error a	3	0.00005	0.000	0.39
کود آلی Organic fertilizers	2	0.0042**	0.003**	0.12**
کود زیستی Biofertilizer	1	0.000011 ^{ns}	0.000*	0.32 ^{ns}
محلول‌پاشی × کود آلی Spraying × Organic fertilizers	2	0.00032*	0.000*	1.65**
محلول‌پاشی × کود زیستی Spraying × Biofertilizer	1	0.000020 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.008 ^{ns}
کود آلی × کود زیستی Organic fertilizers × Biofertilizer	3	0.000036 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.40 ^{ns}
کود آلی × کود زیستی × محلول‌پاشی Organic fertilizers × Biofertilizer × Spraying	2	0.0013 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.004 ^{ns}
خطای کل Total error	30	0.0013	0.000	3.91
ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation (%)	9.40	8.38	9.40	8.98

***، * و ns به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵٪ و ۱٪ و عدم معنی‌دار بودن می‌باشد.

** and * and ns are significant at the 0.01 and 0.05 of probability level and non-significant, respectively.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل محلول‌پاشی × کود آلی (SF) بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید برگ گیاه سرخارگل
 Table 6- Mean comparisons of the interaction effect of Spraying × Organic fertilizers (SF) on chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids contents of *Echinacea purpurea*

تیمار Treatment	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoids
	(mg.g ⁻¹ dw)		
S ₁ F ₁ (شاهد) Contrl	0.06d	0.03d	3.47c
S ₁ F ₂ (کود ورمی کمپوست) Vermicompost	0.08c	0.04c	4.15b
S ₁ F ₃ (کود دامی) Cow manure	0.07c	0.04c	8c 3.
S ₂ F ₁ (کود ورمی کمپوست) Vermicompost fertilizer	0.07c	0.04c	3.51c
S ₂ F ₂ (محلول‌پاشی × کود ورمی کمپوست) Spraying × Vermicompost fertilizer	0.10a	0.07a	4.96a
S ₂ F ₃ (محلول‌پاشی × کود دامی) Spraying × Cow manure	b 0.0	0.05b	4.35b

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵ درصد با هم ندارند.
 Means with similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level

بررسی انجام شده بر روی گیاه دارویی سرخارگل نشان داد کاربرد کودهای زیستی بیوفسفر به همراه بیوسولفور با بیشترین عملکرد فنل ریشه بهترین ترکیب تیماری از نظر کیفیت بود (Agha Alikhani *et al.*, 2013). همچنین در تحقیقی بر روی گیاه همیشه بهار نشان داده شد که کودهای بیولوژیک سبب افزایش گل و بهبود کیفیت دارویی شد (Sanches Govin *et al.*, 2005).

بیشتر بودن میزان فنل برگ و ساقه با استفاده از ترکیب تیماری کود ورمی کمپوست به همراه محلول‌پاشی را می‌توان چنین بیان نمود که کودهای آلی از طریق افزایش سطح برگ و فراهم کردن زمینه مناسب برای دریافت انرژی و نیز شرکت در ساختار آنزیم‌های درگیر در متابولیسم کربن فتوسنتزی، موجب افزایش بازده فتوسنتزی و عملکرد اسانس در این گیاه می‌شود (Arabci and Bayram, 2004). استفاده از کودهای آلی مختلف در گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens*) باعث افزایش رشد، عملکرد، درصد اسانس و کیفیت اسانس شد (Khalid and Shafei, 2005). نتایج تحقیقی دیگر بیانگر آن بود که استفاده از سطوح مختلف کمپوست در گیاه دارویی بادرشی (*Dracocophalum moldavica* L.) موجب افزایش پارامترهای رشد و اسانس شد (Hussein *et al.*, 2006). از آنجا که وزن خشک گیاه و درصد اسانس متأثر از کوددهی مطلوب است به نظر می‌رسد در دسترس قرار گرفتن بهتر عناصر منجر به اثرگذاری بیشتر در تولید ترکیبات مؤثره شده که در این میان اثرگذاری کودهای زیستی بیشتر از کودهای شیمیایی است (Yadegari, 2013). مطالعه آرگولیو و همکاران (Arguello *et al.*, 2006) نیز مبین افزایش قابل توجه عملکرد محصول و کیفیت (فروکتان) در گیاه دارویی سیر (*Allium sativum*) بود. آن‌ها دریافتند که مصرف ورمی کمپوست از طریق تسریع در تشکیل پیاز و

بر اساس داده‌های حاصل از آزمایش، فنل گل با میانگین ۳/۸۳ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک در نتیجه کاربرد تیمار کود ورمی کمپوست در کود زیستی در مقایسه با شاهد ۳۳/۴۴ درصد افزایش یافت (شکل ۱). در بین تیمارهای آزمایش بیشترین میزان فنل برگ و ساقه از اثر ترکیب تیماری ورمی کمپوست به همراه محلول‌پاشی به‌دست آمد. به طوری که در نتیجه اعمال این تیمارها فنل برگ و فنل ساقه به ترتیب ۶۵/۰۸ و ۶۵/۶۲ درصد در مقایسه با تیمار شاهد افزایش نشان داد (جدول ۸). همچنین بر اساس نتایج به‌دست آمده کود ورمی کمپوست بیشترین فنل کل با میانگین ۹/۶۷ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک با افزایش ۳۲/۲۸ درصد و نیز بیشترین میزان فنل ریشه با افزایش ۲۵/۳۳ درصد را در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد (جدول ۹).

نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد استفاده از باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفر همراه با ورمی کمپوست می‌تواند سبب افزایش مقدار نیتروژن و فسفر موجود در ورمی کمپوست شود (Kumar *et al.*, 2001). بر اساس تحقیقات صورت گرفته بالا رفتن این عناصر سبب بالا بردن ترکیبات فنلی در گیاه می‌شود که نتایج به‌دست آمده در گیاه آتريكسیا (*Athrixia phylicoides* L.) بیانگر همین مطلب است (Fhatuwani, 2007). از سوی دیگر کودهای آلی در کشت گیاهان دارویی تولید بیوماس را افزایش داده در نتیجه سبب افزایش ترکیب‌های استخراج شده از آن‌ها می‌شوند (Scheffer and Koehler, 1993). نتایج آزمایش انجام گرفته بر روی گیاه درمنه نشان داد که مصرف ورمی کمپوست موجب بهبود قابل ملاحظه گل‌دهی و عملکرد اسانس در مقایسه با شاهد شد که بهبود عملکرد اسانس در این گیاه را می‌توان به افزایش ماده خشک حاصل از مصرف ورمی کمپوست نسبت داد (Pandey, 2005).

(شکل ۲).
تحقیقات در زمینه گیاهان دارویی نشان داد که کودهای آلی با فراهم کردن عناصر غذایی مورد نیاز آن‌ها، تولید زیست‌توده و ترکیب استخراج شده از این گیاهان را افزایش می‌دهد (Scheffer and Koehler, 1993). در بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک و آلی بر کمیت و کیفیت اسانس رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill) به این نتیجه دست یافتند که بیشترین درصد اسانس از ترکیب تیماری ورمی کمپوست به همراه ازتوباکتر حاصل شد (Moradi et al., 2009). همچنین تحقیق دیگری نشان داد کود زیستی تأثیر مثبت و معنی‌داری بر عملکرد سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis*) در واحد سطح داشته و بیشترین ماده مؤثره در این تیمار مشاهده شد (Naghdi Abadi et al., 2012).

نیز طولانی شدن دوره پرشدن آن، موجب افزایش کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی نظیر فروکتان گردیده و متعاقب آن عملکرد محصول سیر نیز بهبود می‌یابد.
اسید شیکوریک: به دلیل هزینه بالای آزمایش کروماتوگرافی مایع و بالا بودن تعداد نمونه‌های آزمایش، اندازه‌گیری اسید شیکوریک فقط از نمونه مرکب تهیه شده از گل‌های ۴ تکرار برای ۱۲ ترکیب تیماری انجام شد. بر این اساس تجزیه واریانس صفت اسید شیکوریک امکان‌پذیر نبوده و فقط بیشترین و کمترین مقادیر را می‌توان گزارش کرد. با توجه به شکل ۲ بیشترین میزان اسید شیکوریک گل را ترکیب تیماری کود آلی ورمی کمپوست به همراه کود زیستی بیوازوسپیر با میانگین ۳۷/۶۴ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک نشان داد و کمترین میزان از ترکیب تیماری کود آلی به همراه کود زیستی (شاهد) با میانگینی برابر با ۲۵/۷۳ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک به‌دست آمد

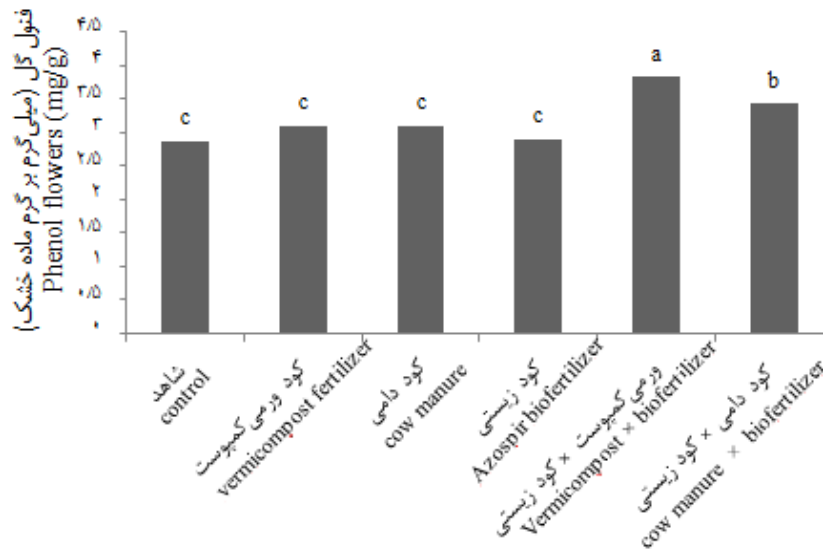
جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس میانگین مربعات میزان فنل کل و فنل در بخش‌های مختلف گیاه سرخارگل تحت تأثیر کودهای آلی و زیستی

Table 7- Analysis of variance (mean squares) of total phenol and phenol content in different parts of coneflower under the influence of organic and biological fertilizers

منبع تغییر S. o. V	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean squares				
		فنل کل Flowers Phenols	فنل برگ Leaf Phenols	فنل ساقه Shoot Phenols	فنل ریشه Root Phenols	فنل کل Total Phenols
تکرار Replication	3	0.05 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.22 ^{ns}
محلول‌پاشی Spraying	1	1.12 [*]	0.832 [*]	1.09 ^{**}	0.007 ^{ns}	9.67 [*]
خطای اصلی The main error	3	0.10	0.14	0.06	0.19	0.94
کود آلی Organic fertilizers	2	2.77 ^{**}	0.006 ^{**}	3.67 ^{**}	0.31 ^{**}	46.007 ^{**}
کود زیستی Bio-fertilizer	1	1.56 ^{**}	0.23 ^{**}	0.25 [*]	0.15 [*]	6.95 ^{**}
محلول‌پاشی × کود آلی Spraying × Organic fertilizers	2	0.0736 ^{ns}	0.16 ^{**}	0.30 [*]	0.006 ^{ns}	0.034 ^{ns}
محلول‌پاشی × کود زیستی Spraying × Biofertilizer	1	0.078 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.0009 ^{ns}	0.006 ^{ns}	0.24 ^{ns}
کود آلی × کود زیستی Organic fertilizers × Biofertilizer	2	0.96 ^{**}	0.01 ^{ns}	0.46 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.70 ^{ns}
کود آلی × کود زیستی × محلول‌پاشی Organic fertilizers × Biofertilizer × Spraying	2	0.116 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.031 ^{ns}	0.012 ^{ns}	0.48 ^{ns}
خطای فرعی Accessory error	3	2.21	0.28	1.22	0.79	4.61
ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation (%)		8.46	4.24	9.008	18.84	4.55

ns و * و ** به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵٪ و ۱٪ و عدم معنی‌دار بودن می‌باشد.

** and * and ns are significant at the 0.01 and 0.05 of probability level and non-significant, respectively.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل کود آلی x کود زیستی (FA) بر صفت فنل گل

Figure 1- Mean comparisons of interaction of vermicompost x Azospir Biofertilizer on flowers phenol attribute

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل کود آلی x محلول پاشی (SF) بر میزان فنل برگ و ساقه گیاه سرخارگل

Table 8- Mean comparisons of interaction of Organic fertilizers x Spraying (SF) on phenol leaves and stems of *Echinacea purpurea*

تیمار Treatment	فنل برگ Leaves Phenols	فنل ساقه Stems Phenols
	(mg.g ⁻¹ dw)	
s ₁ f ₁ (شاهد) Control	1.69e	1.6e
s ₁ f ₂ (کود ورمی کمپوست) Vermicompost fertilizer	2.62b	2.45ab
s ₁ f ₃ (کود دامی) Cow manure	2.22c	2.19cd
s ₂ f ₁ (محلول پاشی) Spraying	1.89d	2.14d
s ₂ f ₂ (محلول پاشی x کود ورمی کمپوست) Spraying x Vermicompost fertilizer	2.79a	2.65a
s ₂ f ₃ (محلول پاشی x کود دامی) Spraying x Cow manure	2.64b	2.37cb

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵ درصد با هم ندارند.

Means with similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level

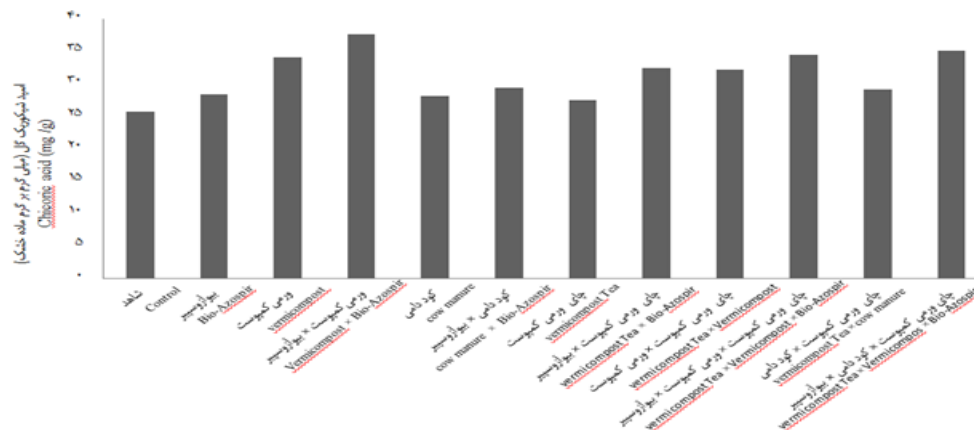
جدول ۹- مقایسه میانگین اثر ساده کود آلی (F) بر میزان فنل ریشه و فنل کل گیاه سرخارگل

Table 9- Mean comparisons of the effect of organic fertilizers (F) on root phenol and total phenol content of *Echinacea purpurea*

تیمار Treatment	فنل ریشه Root Phenols	فنل کل Total phenols
	(mg.g ⁻¹ dw)	
f ₁ (شاهد) Control	0.75b	7.31c
f ₂ (ورمی کمپوست) Vermicompost	0.94a	9.67a
f ₃ (کود دامی) Cow manure	0.89ab	8.86b

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵ درصد با هم ندارند.

Means with similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level



شکل ۲- تأثیر کود آلی و زیستی بر صفت اسید شیکوریک گل

Figure 2- The effect of organic and bio-based fertilizers on the attribute of flower Chicoric acid

سرخارگل به روش ارگانیک و پاسخ مثبت این گیاه به کاربرد کودهای آلی، زیستی و تلفیق آن‌ها به نظر می‌رسد کاربرد این کودها علاوه بر بهبود ساختار و فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید خاک از طریق تأثیر بر قدرت جذب، نگهداری و در اختیار قرار دادن رطوبت و عناصر غذایی مانند نیتروژن، فسفر و پتاس ضمن نداشتن عواقب سوء زیست‌محیطی منجر به بهبود شاخص‌های عملکرد کیفی و ترکیبات مؤثره در این گیاه شدند.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که در تمامی صفات اختلاف معنی‌داری بین تیمار اعمال شده و تیمار شاهد وجود داشت. در این آزمایش ترکیب تیماری ورمی کمپوست به همراه محلول‌پاشی چای ورمی کمپوست به‌عنوان تیمار برتر شناخته شد. سرخارگل تحت تأثیر این تیمار بالاترین میزان نیتروژن و فسفر برگ و ساقه بیشترین کلروفیل a، b، کاراتنوئید، فنل برگ و فنل ساقه را تولید کرد. با توجه به اهمیت کشت گیاه

References

1. Agha Alikhani, M., Iranpor, A., and Nghdi Abadi, H. 2013. Crop yield and phytochemical of herb (*Ecinacea Purpurea* L.) under the influence urea fertilizer and bio. Iranian Journal of Medicinal Plants 46 (2): 121-136. (in Persian with English abstract).
2. Ali Omrani, G., Malki Alagha, M., and Noreye, V. N. 2011. Aspects of organic fertilizer. Islamic Azad University Science and Research, 162 pp. (in Persian with English abstract).
3. Arabci, O., and Bayram, E. 2004. The effect of nitrogen fertilization and different plant densities on some agronomic and technologic characteristic of basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Agronomy 3 (4): 255-256.
4. Arancon, N. Q., Edwards, C. A., Bierman, P., Welch, C., and Metzger, J. D. 2004. Influences of vermicomposts on field strawberries effects on growth and yields. Bioresource Technology 93: 145-153.
5. Arancon, N. Q., Edwards, C. A., Bierman, P., Metzger, J. D., and Lucht, C. 2005. Effect of vermicompost produced from cattle manure. Food waste and paper waste on the growth and yield of peppers in the field. Pedobiologia 49 (4): 297-306.
6. Arguello, J. A., Ledesma, A., Nunez, S. B., Rodriguez, C. H., and Goldfarb, M. D. D. 2006. Vermicompost effects on bulbing dynamics, nonstructural carbohydrate content, yield and quality of Rosado paraguay garlic bulbs. Horticulture Science 41 (3): 589-592.
7. Asar, E., and Scarisbrick, D. H. 1995. Rate of nitrogen and sulfur fertilizers on yield components and seed quality of oilseed rape (*Brassica napuse* L.). Field Crops Research 44: 41-46.
8. Ashraf, M. Y., Azmi, A. RA. Khan, H. and Ala, S. A. 1994. Effect of water stress on total phenols. peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. Acta Vphysiologiae Plantarum 16 (3): 185-191.
9. Astarai, A., and Koochaki, A. 1997. Using of Biological Fertilizers in Sustainable Agriculture. Jahadeh Daneshghahi Publisher Mashhad, p. 168. (in Persian).
10. Atiyeh, R. M., Subler, S., Edwards, C. A., Bachman, G., Metzger, J. D., and Shuster, W. 2000. Effects vermicomposts and composts on plant growth. in horticulture container media and soil. Pedobiologia 44: 579-590.
11. Bakhshae, S., Amin Ghafare, A., and Rezvani Moghadam, P. 2010. Study reactions Summer Savoury (*Satureja hortensis*) during the growing season in response to different treatments of compost and fertilizer, vermicompost and cow. Iranian Medicinal Plants National Conference. Citrus Fruits and Rice Research Institute the Agricultural

- Sciences and Natural Resources University of Sari. (in Persian).
12. Bauer, R., and Wagner, H. 1991. Echinacea species as potential immunostimulatory drugs. *Planta Medica* 55: 367-371.
 13. Biyari, A., Gholami, A., and Asadi Rahmani, H. 2008. Sustainable production and improved nutrient uptake maize in response to the seed inoculation by bacteria growth. Iranian Ecological Agriculture Conference. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, 15 p. (in Persian with English abstract).
 14. Carrubba, A., Ia Torre, R., Di Prima, A., Saiano, F., and Alonzo, G. 2002. Statistical analyses on the essential oil of Italian coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruits of different ages and origins. *Journal of Essential Oil Research* 14 (6): 389-396.
 15. Dehdashtizade, B., Arouii, H., Azizi, M., and Davarinejad, G. 2009. Effect of different levels of vermicompost and phosphorus on production of pepper seedling. Iranian Horticultural Science Sixth Congress, The University of Guilan, p 538-530. (in Persian with English abstract).
 16. Dommerguse, Y. G. 1970. Ecologie microbienne du sol. masson et cie. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 796 p.
 17. Eliot, P. W., Knight, D., and Anderson, J. M. 1990. Denitrification in earthworm casts and soil from pastures under different fertilizer and drainage regimes. *Soil Biology and Biochemistry Technology* 27 (11): 1819-25.
 18. Fhatuwani, N. 2007. Effects of nitrogen, phosphorus, and potassium nutrition on total polyphenol content of bush tea (*Athrixia phyllicoides* L.) leaves in shaded nursery environment. *Hortscience* 42 (2): 334-338.
 19. Ghost, B. C., and Bhat, R. 1998. Environmental hazards of nitrogen loading in wetland rice fields. *International Journal of Environmental Pollution Impact Factor* 102: 123-126.
 20. Gladisheva, O. N. 1995. Experimental studies on production and processing technology, and establishment of raw material uses and seed plantation of *Ecinnacea Purpurea* under samara region. *Russian Academy of Agricultural Sciences* 213-214.
 21. Hussein, M. S., El-Shrbeny, S. E., Khalil, M. Y., Naguib, N. Y., and Aly, S. M. 2006. Growth characters and chemical constituents of (*Dracocephalum moldavica* L.) plants in relation to compost fertilizer and planting distance. *Journal of Scientia Horticulture* 108: 322-33.
 22. Kalra, A. 2003. Organic cultivation of medicinal and aromatic plants. A hope for sustainability and quality enhancement. *Journal of Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye- Yielding Plants*. FAO, 198 P.
 23. Khalid, A., and Shafei, A. M. 2005. Productivity of dill (*Anethum graveolens* L.) as influenced by different organic manure rates and sources. *Arab Universities Journal of Agriculture Science* 13 (3): 901-913.
 24. Khalsro, Sh. 2010. Study on biological Fertilizer, vermicompost and zeolite application physical and chemical properties of soil and quantitative and qualitative yield (*Pimpinella anisum*). P.h.D Thesis. dissertation, Agriculture. University of Tarbiat Modarres, 112 P. (in Persian).
 25. Koocheki, A., Tabrizi, L., and Ghorbani, R. 2008. Effect of biofertilizers on agronomic and quality criteria of (*Hyssopus officinalis* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research* 6 (1): 127-37. (in Persian with English abstract).
 26. Kumar, V., Behl, R. K., and Narula, N. 2001. Establishment of phosphate solubilizing strains of (*Azotobacte chroococcum*) in rhizosphere and their effect on wheat under green house conditions. *Microbiological Research* 156: 87-93.
 27. Lee, J. 2010. Effect of application methods of organic fertilizer on growth, soil chemical properties and microbial densities in organic bulb onion production. *Sciatica Horticulture* 124 (3): 299-305.
 28. Leithy, S., El-Meseiry, T. A., and Abdallah E. F. 2006. Effect of biofertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on (*Rosemary herbage*) oil yield and quality. *Journal of Applied Research* 2: 773-779.
 29. Lin, Z., Neamati, N., Zhao, H., Kiryu, Y., Turpin, JA., Aberham, C., Strelbel, K., Kohn, K., Witvrouw, M., Pannecouque, C., Debyser, Z., De Clercq, E., Rice, WG., Pommier, Y., and Burke, TR. JR. 1999. Chicoric acid analogues as HIV-1 integrase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* 42 (8): 1401-1414.
 30. Lotf Manesh, B., Nabovati Kalat, S. M., and Sedr Abadi Haghighi, R. 2013. Studying the effects of biological fertilizers and sprayed with Complete Fertilizer on yield, quality (*Satureia hortensis* L.). Iranian Medicinal Plants National Conference. Islamic Azad University, Science and Research Branch of Tehran Ayatollah Amoli. http://www.civilica.com/Paper-HERBAL03 HERBAL03_202.html, P 2-8. (in Persian with English abstract).
 31. Ložek, O., and Fecenko, J. 1998. Influence of vermisol in combination with nitrogenous nutrition on yields and quality of winter wheat grain. *Journal Agriculture Science* 44 (11): 835-846.
 32. Luo, X., Chen, B., Yao, S., and Zeng, J. 2006. Simultaneous analysis of caffeic acid derivatives and alkamids in roots and extracts of *Echinacea purpurea* by highperformance liquid chromatography-photodiode array detection-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 986: 73-81.
 33. Luzzatto, T., Golan, A., Yishay, M., Bilkis, I., Ben-Ari, J., and Yedidia, I. 2007. Priming of antimicrobial phenolics during induced resistance response towards *Pectobacterium carotovorum* in the ornamental monocot calla lily. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (25): 10315-10322.
 34. Mahboub Khomami, A. 2005. The effect of liquid bio-fertilizer (Vermiwash) in application on dieffenbachia and

- Aglaonema nutrition and growth indexes. Journal of Agricultural Sciences 1 (4): 175-187. (in Persian with English abstract).
35. Mao, J., Olk, D. C., Fang, X., He, Z., and Schmidt-Rohr, K. 2008. Influence of animal manure application on the chemical structures of soil organic matter as investigated by advanced solid-state NMR and FT-IR spectroscopy. Geoderma 146: 353-362.
 36. Manjarrez, M. J., Ferrera-Cerrato, R., and Gonzalez-Chavez, M. C. 2000. Effect of vermicompost and mycorrhizal fungi on growth and photosynthetic rate of chili. Phytopathology 17: 195-197.
 37. Mohanty, S., Paikaray, N. K., and Rajan, A. R. 2006. Availability and uptake of phosphorus from organic manures in groundnut (*Arachis hypogea* L.)-corn (*Zea mays* L.) sequence using radio tracer technique. Geoderma 133 (3-4): 225-230.
 38. Moradi Talavat, M. R., Siyadat, S. A., Fathi, A. Z., and Alami Saied, K. 2009. Effect level of nitrogen and herbicides on wheat compete against wild oat and wild mustard. PhD Thesis Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, P 33. (in Persian).
 39. Moradi, R., Rezvani Moghaddam, P., Nasiri Mahallati, M., and Lakzian, A. 2009. The effect of application of organic and biological fertilizers on yield, yield componts and essential oil of Fennel (*Foeniculum vulgare*). Iranian Journal Field Crops Research 7 (1): 625-635. (in Persian).
 40. Morase, E. C. 1985. Different nitrogen sources and application of borax manganese proceeding of the 1 and 2 technical yearly.
 41. Mosavi, M., Bahmanyar, M. G., and Pirdashti, H. A. 2012. Rice plant response to vermicompost application individually and enriched with different chemical fertilizers. Electronic Journal of Crop Production 5 (2): 19-35. (in Persian with English abstract).
 42. Mottaghian, A., Pirdashti, H., Bahmanyar, M. A., and Abbasian, A. 2010. Influence of the type and amount of organic fertilizer on yield and leaf nutrient concentrations of three soybean cultivars (*Glycine max* (L.) Merr). Iranian Journal of Soil and Water Iran 41 (1): 19-26. (in Persian).
 43. Muscolo, A., Bovalo, F., Gionfriddo, F., and Nardi, F. 1999. Earthworm humic matter produces Auxin-like effects Daucus carota cell growth and nitrate metabolism. Journal of Soil Biology and Biochemistry 31: 1303-1311.
 44. Naghdi Abadi, H., Lotfi Zad, M., Gavami, N., Mehr Afarin, A., and Kavari, K. 2012. Response qualitative and quantitative yield in (*Valeriana officinalis*) to use biological and chemical phosphorus fertilizers. Iranian Journal of Medicinal Plants. (in Persian).
 45. Nemati Darbandi, H., Azizi, M., Mohamadi, S., and Karim Poor, S. 2012. Study effect solution spraying vermicompost with different concentration morphological characteristics, percentage and oil yield of Lemonbalm (*Melissa officinallis*). Journal of Horticultural Science 411-417. (in Persian with English abstract).
 46. Omidbigi, R. 2008. Production and processing of medicinal plants. Astan Ghods Razavi, publisher Mashhad, Vol (1). 347p. (in Persian).
 47. Omidbaigi, R. 2009. Approaches to Production and Processing of Medicinal Plants. Astan Ghods Razavi Publication. Mashhad, Vol (4), 423 p. (in Persian).
 48. Padmavathamma, P. K., Li, L.Y., and Kumari, U. R. 2008. An experimental study of vermi-biowaste composting for agricultural soil improvement. Bioresource Technology 99: 1672-1681.
 49. Pandey, R. 2005. Management of Meloidogyne incognita in (*Artemisia pallens*) with bioorganics. Phytoparasitica 33 (3): 304-308.
 50. Parakasa, E. V. S., Naryana, M. R., and Rajeswara, B. R. 1997. The effect of nitrogen and farm yard manure on yield and nutrient uptake in davana (*Artemisia pallens*) Wall. ExD. C. Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants 5 (2): 39-48.
 51. 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. Bioresource Technology 60: 59-63.
 52. Sanches Govin, E., Rodrigues Gonzales, H., and Carballo Guerra, C. 2005. Ifluencia de los abonos organicos y biofertilizantes en la calidad de las especies medicinales *calendula officinalis*, *Matricaria recutita* L. Revista Cubana de Plantas Medicinales 10 (1): 1.
 53. Scheffer, M. C., and Koehler, H. S. 1993. Influence of organic fertilization on the biomass, yield and yield composition of the essential oil of (*Achillea millefolium*). Acta Horticulture 331: 109-114.
 54. Shivsubramanian, K., and Ganeshkumar, M. 2004. Influence of vermiwash on biological productivity of Marigold. Journal of Madras Agricultural 91: 221-225.
 55. Sifola, M. I., and Barbieri, G. 2006. Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. Scientia Horticulture 108: 408-413.
 56. Tahami Zarandi, S. M. K., Rezvani Moghaddam, P., and Jahan, M. 2010. Comparision the effect of organic and chemical fertilizers on yield and essential oil percentago of Basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Agroecology 2 (1): 70-82. (in Persian with English abstract).
 57. Theunissen, J., Ndakidemi, P. A., and Laubscher, C. P. 2010. Potential of vermicompost produced from plant waste on the growth and nutrient status in vegetable production. International Journal of Physical Sciences 5:

- 1964-1973.
58. Toro, M., Azcon, R., and Barea, J. M. 1997. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilising rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (32p) and nutrient cycling. *Applied and Environmental Microbiology* 63 (11): 4408-4412.
59. Yadegari, M. 2013. Effect of foliar application of Fe, Zn, Cu and Mn on yield and essential oils of (*Borago officinalis*). *Journal of Applied Science and Agriculture* 8 (5): 568-575. (in Persian).
60. Waterhouse, A. L. 2003. Determination of Total Phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. I: 11:11.1.
61. Wu, L., Bea, J., Kraus, G., and Wurtele, E. S. 2004. Diacetylenic isobutylamides of Echinacea synthesis and natural distribution phytochemistry 65: 2477-2484.



Effect of Organic and Biological Fertilizers on Nitrogen, Phosphorous and Potassium Contents, Photosynthetic Pigments and Active Ingredient in Coneflower (*Echinacea Purpurea* L.)

H. Fayazi^{1*} - A. Abdali Mashhadi² - A. Koochekzadeh³ - A. Papzan⁴ - M. H. Arzanesh⁵

Received: 17-08-2015

Accepted: 12-09-2017

Introduction

In recent decades, agricultural production has become increasingly dependent on the consumption of chemical inputs to obtain higher yields, which in turn has led to major problems such as environmental pollution and consequently, arresting sustainable production. In order to reduce these hazards, application of resources and inputs must lead to long term-sustainable agriculture system as well as supplying the current needs of plant. Proper plant nutrition and soil fertility management can enhance environment protection and moreover, improve input use efficiency and the quality of water, reduce erosion and maintain biodiversity. The valuable medicinal plant "purple coneflower", is widely used in pharmaceutical, food, cosmetics and health industries. Although not native to Iran, the plant has been recently categorized as an indigenous plant. This plant has been used in the past for the treatment of snakebite, gums and mouth disorders, colds, cough, and sore throat. In the last 50 years, due to its anti-viral, anti-fungal and anti-bacterial properties, purple coneflower is globally well-known and its derivatives are categorized as immune system tonics. Nowadays, products of purple coneflower are presented as blood purifier, antiseptic and sedatives. Therefore, according to background of the use of medicinal plants and change in point of view regarding to this kind of crops as well as increasing global demand for the use of these plants in the treatment of diseases, and considering the harms caused by the consumption of chemical drugs, it is necessary to conduct a comprehensive research on medicinal plants.

Materials and Methods

The experiment was carried out as split factorial based on randomized complete block design with four replications in experimental fields of Khuzestan Agricultural Sciences and Natural Resources University between 2013-2014. Foliar application of vermicompost tea was performed at two levels (with and without tea use) and was assigned to the first factor in main plot; the second factor was organic fertilizer which was applied at three levels (zero application, vermicompost and cow manure); and finally biofertilizer was the third factor and had two level (without biofertilizer application and azospirillum biofertilizer). The latter two factors were assigned to the subplots. In this experiment, some qualitative characteristics such as mineral elements, photosynthetic pigments and the amount of substance active ingredients were evaluated.

Results and Discussion

According to the results, the highest root and total fenol were obtained from vermicompost treatment, whereas the highest leaf nitrogen, stem nitrogen, leaf phosphorus, stem phosphorus, chlorophyll type a, chlorophyll type b, carotenoid, leaf fenol and stem fenol was observed for the combination of vermicompost and tea vermicompost treatments. The highest flower fenol and chicoric acid content was recorded in vermicompost treatment together with azospirillum biofertilizer. On the other hand, the lowest stem and leaf potassium belonged to the combined treatment of tea vermicompost foliar and azospirillum biofertilizer. Generally, organic and bio-fertilizers, directly and indirectly, increased nutrients absorption in coneflower via improving plant access to macro-micro nutrients as a result of altering physico-chemical circumstances, stimulating the activity of beneficial soil microbes, increasing water absorption, availability of macro and micro elements and presence

1- Master graduated, Agriculture Faculty, Khuzestan Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran
2- Associate Professor, Agriculture Faculty, Khuzestan Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran
3- Assistant Professor, Agriculture Faculty, Khuzestan Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran
4- Associate Professor, Agriculture Faculty, Razi University, Kermanshah, Iran
5- Assistant Professor, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Golestan, Iran
(* - Corresponding Author Email: h.fayaz222@gmail.com)

of hormones such as auxin, humic acid and GA3. Foliar spraying of vermicompost as a complementary to soil fertilizers provides quick and direct absorption of nutrients through shoots. Consequently, the treatments applied in this study simultaneously improved the characteristics of purple coneflower and the amount of its active ingredient.

Conclusions

The research showed that the combined treatment of vermicompost and foliar application of vermicompost tea was more feasible in the cultivation of purple coneflower rather than other treatments applied, so it was identified as the ideal treatment.

Keywords: Azospirillum biofertilizer, Chicoric acid, Fenol, Vermicompost tea