

اثرات نیتروژن بر رشد و برخی خصوصیات مورفولوژیک گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) مایه‌زنی شده با باکتری‌های *Pseudomonas putida* و *Azospirillum irakense*

نیر بشیری فر^{1*}، ناصر علی اصغرزاد²، سعید زهتاب سلماسی³

تاریخ دریافت: 93/06/20 تاریخ پذیرش: 94/10/13

¹-دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم خاک، دانشگاه تبریز

²-استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

³-استاد گروه اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Nayer_Bashirifar@yahoo.com

چکیده

مرزه با نام علمی *Satureja hortensis* L.، از جمله گیاهان دارویی است که در صنایع مختلف غذایی و پزشکی استفاده می‌شود. به منظور بررسی اثر میکروارگانیسم‌های محرک رشد و سطوح مختلف کود نیتروژن بر صفات رشدی و مورفولوژیک گیاه دارویی مرزه، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و با چهار تکرار انجام شد. فاکتور اول و دوم به ترتیب، به صورت حضور و عدم حضور باکتری *Azospirillum irakense* (A) و *Pseudomonas putida* (P) و فاکتور سوم نیتروژن از منبع اوره در سه سطح عدم مصرف نیتروژن (N_0) مصرف نصف نیتروژن ($N_1: 80 \text{ mg kg}^{-1}$) و مصرف کامل نیتروژن ($N_2: 160 \text{ mg kg}^{-1}$) بود. نتایج نشان داد تعداد ساقه فرعی، وزن خشک ریشه و بخش هوایی با کاربرد تک تک باکتری‌ها در مقایسه با تیمار شاهد (عدم مایه‌زنی)، به طور معنادار افزایش یافت و در تیمار *Azospirillum* (A^+) و *Pseudomonas* (P^+) وزن خشک بخش هوایی نسبت به زمانی که از این باکتری‌ها مصرف نشد، به ترتیب 11 و 8 درصد افزایش یافت. همچنین، باکتری *Azospirillum* موجب افزایش معنادار ارتفاع بوته شد. اثر متقابل دو باکتری نیز تأثیر معناداری بر ارتفاع و وزن خشک ریشه داشت به طوری که بیش‌ترین ارتفاع و وزن خشک ریشه در تیمار A^+P^+ به دست آمده و نسبت به تیمار شاهد، به ترتیب 21 و 44 درصد افزایش یافت. به علاوه تیمار A^+N_2 بیش‌ترین ارتفاع، ساقه فرعی و وزن خشک و تیمار P^+N_2 بیش‌ترین ساقه فرعی و وزن خشک را ایجاد کرد. ولی این تیمارها با تیمارهای A^+N_1 و P^+N_1 اختلاف معنادار نداشتند. با افزایش مقدار کود نیتروژن، کلیه صفات مورفولوژیکی و رشدی به طور معنادار افزایش یافتند ولی بین سطوح دوم و سوم مصرف نیتروژن (N_1 و N_2) اختلاف معنادار مشاهده نشد. بنابراین به منظور صرفه‌جویی در میزان کود مصرفی، می‌توان تیمار اثر متقابل باکتری‌ها با سطح دوم نیتروژن را توصیه کرد.

واژه‌های کلیدی: گیاه دارویی، مرزه، نیتروژن، *Pseudomonas*، *Azospirillum*

Effects of Nitrogen on Growth and Some Morphological Traits of Inoculated Savory Plant (*Satureja hortensis* L.) with *Azospirillum irakense* and *Pseudomonas putida*

N Bashirifar^{1*}, N Aliasghar zad², S Zehtab Salmasi³

Received: 11 September 2014 Accepted: 3 January 2016

1- M.Sc Student of Soil Biol. and Biotechnol., Faculty of Agric., Univ. of Tabriz, Iran

2-Prof., Dept. of Soil Sci., Faculty of Agric., Univ. of Tabriz, Iran

3-Prof., Dept. of Plant Ecophysiol., Faculty of Agric., Univ. of Tabriz, Iran

* Corresponding Author, Email: Nayer_bashirifar@yahoo.com

Abstract

Savory (*Satureja hortensis* L.) is one of the medicinal plants, which is used in medical and food industries. In order to investigate the effect of plant growth promoting microorganisms and different levels of nitrogen fertilizer on growth and morphological parameters of savory, an experiment was conducted as factorial randomized complete block design with four replications. The first and second factors were *Azospirillum irakense* (A) and *Pseudomonas putida* (P), respectively and the third factor was nitrogen fertilizer as urea with three levels of no nitrogen (N₀), half rate (N₁: 80 mg kg⁻¹ Soil) and complete rate (N₂: 160 mg kg⁻¹ Soil). The results showed that the number of branches, root and shoot dry weights were significantly increased using each bacterium in comparison with control (no inoculation). In *Azospirillum* (A⁺) and *Pseudomonas* (P⁺) treatments, shoot dry weight was increased by 11 and 8 percent respectively. Also *A. irakense* caused a significant increase in plant height. The highest root dry weight and plant height were achieved in A⁺P⁺ treatment and the increments were 22 and 44 percentage compared to the control (no inoculation), respectively. Furthermore, A⁺N₂ treatment increased the plant height, number of branches and shoot dry weight, and P⁺N₂ treatment enhanced the number of branches and shoot dry weight but these treatments didn't show significant difference with A⁺N₁ and P⁺N₁, accordingly. By increasing the amount of nitrogen fertilizer, all morphological traits were significantly increased. However, between the second and third levels of nitrogen intake (N₂ and N₁) no significant differences were observed. Therefore, co-inoculation of this plant with *A. irakense* and *P. putida* and application of N₁ level of nitrogen could be efficient in decreasing nitrogenous fertilizer demand.

Keywords: *Azospirillum*, Medicinal plant, Nitrogen, *Pseudomonas*, *Satureja hortensis* L

و تولید مواد اولیه داروها به کار می‌روند. مواد مؤثر موجود در داروهای گیاهی به دلیل همراه بودن با مواد دیگر، پیوسته از یک حالت تعادل بیولوژیک برخوردار می‌باشند، لذا در بدن انباشته نشده و اثرات جانبی به بار نمی‌آورند و از این رو امتیاز و برتری قابل توجهی نسبت

مقدمه

امروزه به دلیل روشن شدن عوارض جانبی داروهای شیمیایی، مصرف داروهای گیاهی در حال افزایش است. تولید این گیاهان در حال حاضر به عنوان شاخه مهمی از کشاورزی مطرح است که برای استخراج

ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه گردید. عبدالعزیز و همکاران (2007) گزارش کردند با کاربرد توأم کمپوست، *Azotobacter chroococcum* و *Bacillus megaterium*، ارتفاع گیاه رزماری در مقایسه با گیاهانی که فقط با کودهای معدنی NPK تیمار شده بودند، به‌طور معناداری افزایش نشان می‌دهد. کاربرد کود بیولوژیک منجر به افزایش وزن تر و خشک بوته گیاه زوفا گردید که در این میان کود سوپر نیتروپلاس بیش‌ترین تأثیر را داشت (کوچکی و همکاران 1387). با توجه به اهمیت نیتروژن در رشد گیاه و تأثیر مثبت کودهای زیستی روی سلامت تولید گیاهان دارویی، بررسی تأثیر کود شیمیایی نیتروژن و باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد کیفی این گیاه ضروری هست. بنابراین هدف از این آزمایش، بررسی اثر باکتری *Azospirillum* به‌عنوان تثبیت‌کننده نیتروژن و باکتری *Pseudomonas* به‌عنوان حل‌کننده فسفات و همچنین اثر مصرف نیتروژن در میزان افزایش رشد، شاخ و برگ و صفات کیفی این گیاه است. همچنین هرچه میزان شاخ و برگ و وزن تر و خشک گیاه بیشتر باشد، میزان اسانس تولیدشده گیاه به‌مراتب بیشتر می‌شود، به‌همین دلیل در این تحقیق میزان افزایش شاخ و برگ و وزن گیاه در اثر کاربرد این باکتری‌ها، شاخصی برای میزان افزایش اسانس در نظر گرفته شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی خاک برای کشت گلدانی: این تحقیق

در دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز به‌صورت گلخانه-ای اجرا گردید. برای تأمین شرایط رشد گیاه در گلخانه، درجه حرارت روز در حدود 25 درجه سلسیوس و در شب حدود 18 درجه سلسیوس، طول دوره روشنایی 16 ساعت و مقدار نور بین 7000-8000 لوکس با نور لامپ‌های فلورسنت تنظیم گردید (ال - کمی 2003). خاک مورد نظر برای این آزمایش یک خاک با بافت متوسط بوده و از ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان از

به داروهای شیمیایی دارند (زمان 1376). مرزه از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی شناخته‌شده توسط انسان است که در بسیاری از کشورها، از مرزه به‌عنوان یکی از گیاهان مهم ادویه‌ای استفاده شده و در تعدادی از داروشناسی‌ها، مرزه به‌عنوان یک گیاه دارویی معرفی شده است (امید بیگی 1388). بنابراین به‌دلیل اهمیت زیاد گیاهان دارویی و اسانس و ترکیبات آن‌ها، لازم است که فعالیت‌هایی در علم کشاورزی صورت گیرد تا بتوان از این محصولات بیش‌تر و بهتر استفاده کرد. گیاهان دارویی مخازن غنی از متابولیت‌های ثانویه، یعنی مخازن مواد مؤثر اساسی بسیاری از داروها می‌باشند. باوجوداین که بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه به‌صورت ژنتیکی کنترل می‌شود، ولی ساخت آن‌ها به‌شدت توسط عوامل محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرند (امید بیگی 1374). معمولاً برای این گیاهان، مهم‌ترین عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم است که با استفاده از کودهای شیمیایی فراهم می‌شود. عناصر غذایی از جمله نیتروژن با تأثیری که بر رشد رویشی و زایشی گیاهان دارویی دارند، تغییراتی را در عملکرد ایجاد نموده و کمیت و کیفیت مواد مؤثر آن را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند (گراندوالد و بوتل 1996). هرچند که مصرف کودهای نیتروژنی، نیتروژن مورد نیاز را برای بهبود تولید فراهم می‌کند، ولی به سبب آبشویی بیش‌ازحد نیترات منجر به آلودگی محیط‌زیست می‌شود (دانگ و همکاران 2005). به‌دلیل مضرات این نوع کودها، امروزه می‌توان از کودهای زیستی و میکروارگانیسم‌ها برای فراهم کردن این عناصر و بهبود صفات کیفی این گیاهان استفاده کرد. در این راستا تعدادی از محققان در مورد تأثیر میکروارگانیسم‌ها در میزان تولید محصولات گیاهان دارویی، مطالعاتی را انجام داده‌اند. به‌عنوان مثال نتایج تحقیق یوسف و همکاران (2004) حاکی از آن است که مصرف کود زیستی (حاوی *Azospirillum* و *Azotobacter*) در گیاه دارویی مریم‌گلی¹، سبب افزایش

¹ *Salvia officinalis*

غربال 4 میلی‌متر عبور داده شد. همان‌طور که در جدول 1 مشاهده می‌شود خاک غیر شور، با ماده آلی کم و دارای بافت سبک بود.

عمق 0-25 سانتی‌متر برداشت شده و پس از عبور از الک 4 میلی‌متر در اتوکلاو استریل شد. خاک مورد نیاز برای اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی، از غربال 2 میلی‌متر و خاک مورد نیاز برای کشت گیاه از

جدول 1- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده.

P (mg kg ⁻¹)	K (mg kg ⁻¹)	ECe (dSm ⁻¹)	OC%	pH	درصد وزنی FC	بافت
4/4	182/6	1/1	0/1	7/8	12	شن لومی

لایه یک سانتی‌متری در عمق دو سانتی‌متری از سطح خاک پخش شده و سپس روی آن خاک اضافه شده و بذور ضدعفونی شده به تعداد 50 عدد در هر گلدان کشت شد (گلدان‌ها دارای ارتفاع حدود 20 سانتی‌متر و قطر دهانه 15 سانتی‌متر بودند). در هنگام کاشت بذور، رطوبت تمامی گلدان‌ها در FC 0/9 تنظیم شده و جهت آبیاری با توزین گلدان‌ها، از آب مقطر به صورت یک روز در میان استفاده شد. با توجه به جدول نیازهای کودی (بلالی و همکاران 1379) و با توجه به آزمون خاک، K و P در همه گلدان‌ها به طور یکنواخت اضافه شد. نیتروژن در سه سطح صفر، نصف توصیه (80 میلی‌گرم در کیلوگرم) و توصیه کامل (160 میلی‌گرم در کیلوگرم) از منبع اوره بود. به ازای هر گلدان، فسفر از منبع سوپر فسفات تریپل (174 میلی‌گرم در کیلوگرم) و پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم (261 میلی‌گرم در کیلوگرم) اضافه شد. گیاهان تا آخر مرحله رویشی (قبل از گلدهی) که 120 روز طول کشید، رشد یافته و در انتهای مرحله رویشی برداشت شدند.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه: بعد از

برداشت بخش هوایی، خاک گلدان‌ها را روی پلاستیکی خالی کرده و بعد از گذشت مدت زمانی که خاک نیمه-مرطوب شد، از الک عبور داده و ریشه‌ها از خاک جدا شدند. سپس ریشه‌ها با آب مقطر شست‌وشو داده شد و بعد از خشک کردن آب اضافی، وزن تر آن به دست آمد. برای تعیین وزن خشک، ریشه‌ها در دمای 50 درجه

تهیه و آماده‌سازی زادمایه باکتری‌ها: باکتری

Azospirillum irakense از گروه علوم خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و باکتری *Pseudomonas putida* از آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه تبریز دریافت شدند. برای تهیه زادمایه باکتری *Azospirillum* از محیط کشت آرسی² (باشان و همکاران 1993) و برای باکتری *Pseudomonas* از محیط کشت کینگ ب (کینگ 1954) استفاده شده و پس از تعیین جمعیت باکتری‌ها، سوسپانسیون باکتری در نسبت مناسب با پودر پرلیت استریل (9 میلی‌لیتر محیط کشت مایع به ازای 10 گرم پرلیت)، مخلوط گردید تا تراکم جمعیت 10^7 سلول در گرم به دست آید. OD_{600} باکتری-های *Azospirillum* و *Pseudomonas* به هنگام افزودن به پرلیت، به ترتیب 0/903 و 1/275 بود.

طرح آزمایش و تیمارها: آزمایش به صورت

فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتور اول و دوم به ترتیب، به صورت حضور (A^+) و عدم حضور (A^-) باکتری *A. irakense* و حضور (P^+) و عدم حضور (P^-) باکتری *P. putida* و فاکتور سوم نیتروژن در سه سطح عدم مصرف نیتروژن (N_0)، مصرف نصف نیتروژن (N_1) و مصرف کامل نیتروژن (N_2) و با چهار تکرار صورت گرفت.

کشت گیاه و اعمال تیمارها: گیاه مورد نظر

مرزه با نام علمی *Satureja hortensis* L. است که از رقم بومی تبریز استفاده شد. زادمایه باکتری به صورت یک

². RC

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش ارتفاع بوته به طور معناداری تحت تأثیر تیمار A⁺ و سطوح کود نیتروژنی در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت. اثر متقابل A⁺P⁺ نیز در ارتفاع بوته اثر معنادار داشت (جدول 2). نتایج مندرج در جدول 3 نشانگر این نکته است که در تیمار A⁺، ارتفاع بوته به طور معناداری افزایش یافته و میانگین ارتفاع بوته 49/9 به دست آمد ولی گیاهانی که مورد مایه زنی با این باکتری قرار نگرفته بودند با میانگین ارتفاع 43/1 سانتی متر از کم-ترین ارتفاع برخوردار بودند. در نتیجه با مصرف این باکتری میانگین ارتفاع بوته 13 درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. همچنین اثر متقابل دو باکتری (جدول 4) نیز تأثیر معناداری بر ارتفاع بوته داشت به طوری که بیشترین ارتفاع در تیمار A⁺P⁺ به دست آمده و نسبت به تیمار شاهد، 21 درصد افزایش یافت.

سلسیوس به مدت 24 ساعت در آون قرار داده شد (اولسون و همکاران 2010).

اندازه گیری وزن تر و خشک بخش هوایی:
هنگام برداشت، بخش هوایی گیاه از سطح خاک قطع گردید و وزن تر و خشک به دست آمد. برای اندازه گیری وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه از ترازوی با دقت 0/001 ± گرم استفاده شد.

تجزیه های آماری: تجزیه های آماری با استفاده از نرم افزار MSTATC و SPSS صورت گرفت. جهت مقایسه میانگینها از آزمون LSD در سطح احتمال مربوطه استفاده شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

جدول 2- تجزیه واریانس اثر مایه زنی با باکتری و سطوح مختلف نیتروژن بر صفات رشدی و مورفولوژیکی گیاه دارویی مرزه.

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییر
وزن خشک ریشه	وزن خشک بخش هوایی	تعداد ساقه فرعی	ارتفاع بوته		
0/74 **	13/18 **	0/75 ns	556/92 **	1	A
0/16 **	6/12 *	6/75 **	64/17 ns	1	P
0/42 **	3/25 ns	0/33 ns	273/13 **	1	A*P
0/12 **	135/31 **	23/77 **	329/53 **	2	N
0/01 ns	0/21 ns	0/06 ns	54/57 ns	2	A*N
0/03 *	0/76 ns	0/43 ns	2/07 ns	2	P*N
0/04 **	10/05 **	0/64 ns	8/78 ns	2	A*P*N
0/007	1/12	0/75	17/91	36	خطای آزمایش
10/08	12/07	8/81	9/09		CV%

** معنادار در سطح احتمال 1%، * معنادار در سطح احتمال 5%، ns غیر معنادار

A: Azospirillum P: Pseudomonas N: nitrogen

جدول 3- مقایسه میانگین‌های صفات رشد و مورفولوژیک گیاه مرزه در تیمارهای مایه‌زنی با باکتری.

تیمارها	ارتفاع بوته (cm)	تعداد ساقه فرعی	وزن خشک بخش هوایی (g pot ⁻¹)	وزن خشک ریشه (g pot ⁻¹)
A ⁻	43/1 ^b	9/7 ^b	7/82 ^b	0/71 ^b
A ⁺	49/9 ^a	9/9 ^a	8/87 ^a	0/96 ^a
P ⁻	47/7 ^a	9/4 ^b	7/99 ^b	0/77 ^b
P ⁺	45/4 ^a	10/2 ^a	8/71 ^a	0/89 ^a

حروف غیرمشابه در هر ستون، نشان‌گر اختلاف معنادار در سطح احتمال 5% بر اساس آزمون LSD است.

A: Azospirillum P: Pseudomonas

جدول 4- مقایسه میانگین‌های صفات رشد و مورفولوژیک گیاه مرزه در تلقیح توأم باکتری.

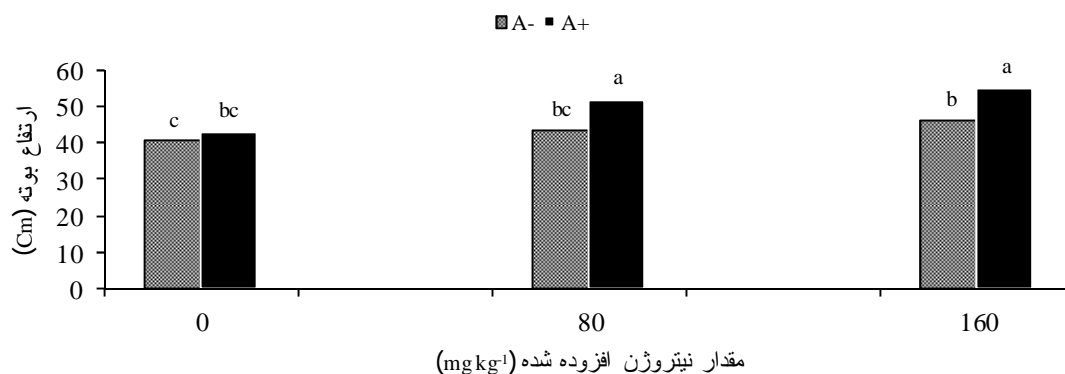
تیمارها	ارتفاع بوته (cm)	تعداد ساقه فرعی	وزن خشک بخش هوایی (g pot ⁻¹)	وزن خشک ریشه (g pot ⁻¹)
P ⁻	41/9 ^c	9/2 ^b	7/21 ^c	0/55 ^c
A ⁻	44/4 ^{bc}	10/2 ^a	8/44 ^{ab}	0/86 ^b
P ⁻	53/5 ^a	9/7 ^{ab}	8/78 ^{bc}	0/99 ^a
A ⁺	46/4 ^b	10/2 ^a	8/97 ^a	0/92 ^{ab}

حروف غیرمشابه در هر ستون، نشان‌گر اختلاف معنادار در سطح احتمال 5% بر اساس آزمون LSD است.

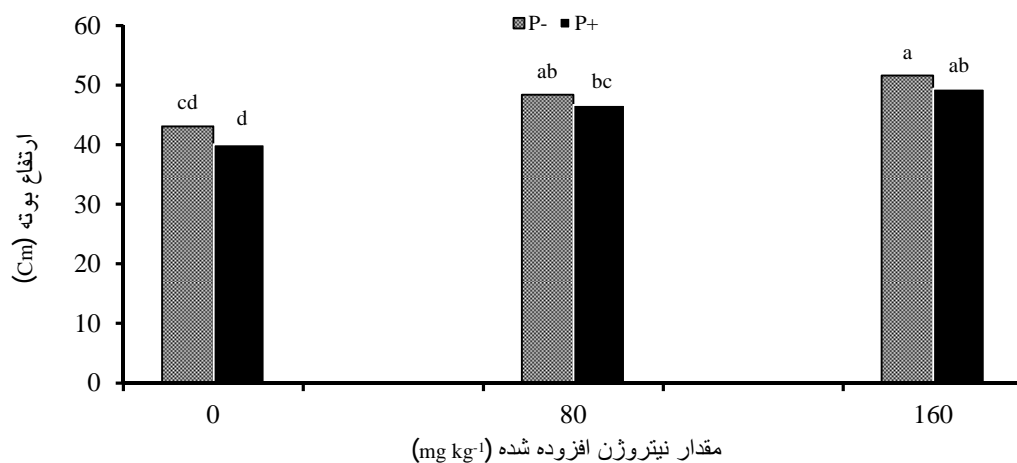
A: Azospirillum P: Pseudomonas

مصرفی نیز می‌توان بهترین نتیجه را به‌دست آورده و در مصرف کود نیز صرفه‌جویی کرد. بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول 2)، اثر متقابل سه جانبه نیتروژن و دو باکتری، تأثیر معنادار در ارتفاع بوته نداشت.

ترکیب تیماری باکتری‌ها و نیتروژن نیز بر این صفت معنادار بوده و بین تیمارها اختلاف معنادار دیده شد. به‌طوری‌که تیمارهای A⁺N₂ و P⁻N₂ بیش‌ترین ارتفاع را ایجاد کردند (شکل‌های 1 و 2). ولی تیمار A⁺N₂ با تیمار A⁺N₁ اختلاف معنادار نداشت و این نشان می‌دهد که در صورت مصرف باکتری، با کاربرد نصف کود



شکل 1- مقایسه میانگین‌های ارتفاع بوته در ترکیب تیماری نیتروژن و باکتری Azospirillum.



شکل 2- مقایسه میانگین‌های ارتفاع بوته در ترکیب تیماری نیتروژن و باکتری *Pseudomonas*.

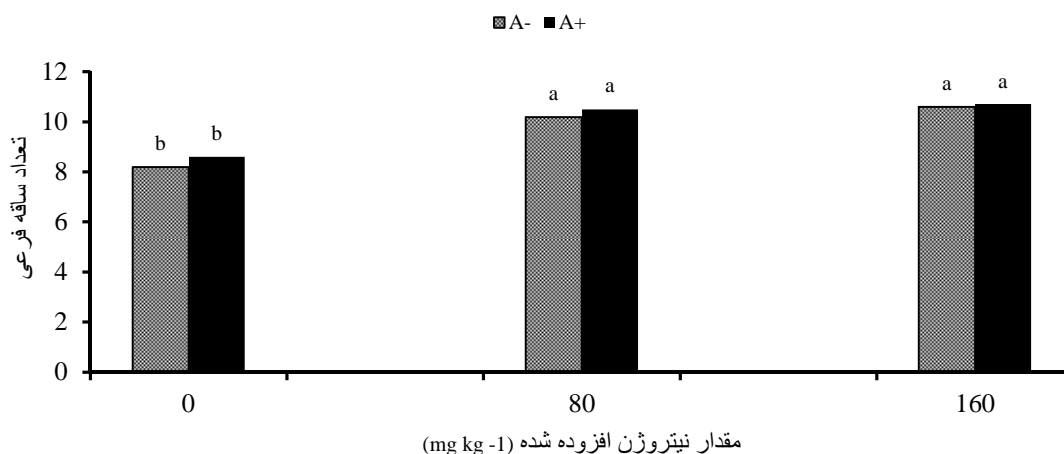
نیز قرار می‌گیرد و در این ارتباط مدیریت‌های زراعی از جمله کاربرد مواد غذایی در خاک، تراکم کاشت و تاریخ کاشت از عوامل عمده تأثیرگذار بر آن هست. اصولاً علت افزایش ارتفاع در اثر کاربرد کود نیتروژن را می‌توان به اثر تشدیدکنندگی نیتروژن در رشد رویشی تقسیمات سلولی در اندام‌های گیاه به‌خصوص ساقه نسبت داد و اشاره کرد که با مصرف کود نیتروژن، طول میانگره، وزن برگ و ساقه افزایش یافته و به دنبال آن، این انتظار می‌رود که مواد فتوسنتزی بیشتری توسط گیاه تولید شود که این مواد شرایط مناسب را برای طویل شدن ساقه فراهم می‌کند. دلیل دیگر تأثیر نیتروژن بر افزایش ارتفاع بوته را می‌توان این‌گونه توجیه کرد که با مصرف کود، گیاهان آسان‌تر به عناصر غذایی دسترسی داشته و بهتر استقرار می‌یابند. بنابراین نیازی ندارند که حجم ریشه را افزایش دهند، در نتیجه انرژی زیادتری برای توسعه بخش‌های هوایی صرف می‌کنند (زارع و همکاران 1392).

تیمار P⁺ و همچنین کاربرد کود نیتروژن، بر تعداد ساقه فرعی در بوته در سطح احتمال یک درصد معنادار گردید (جدول 2). به‌طوری‌که در تیمار P⁺، تعداد ساقه فرعی نسبت به شاهد 7 درصد افزایش یافت. تیمار A⁺ موجب افزایش تعداد ساقه فرعی شد ولی این

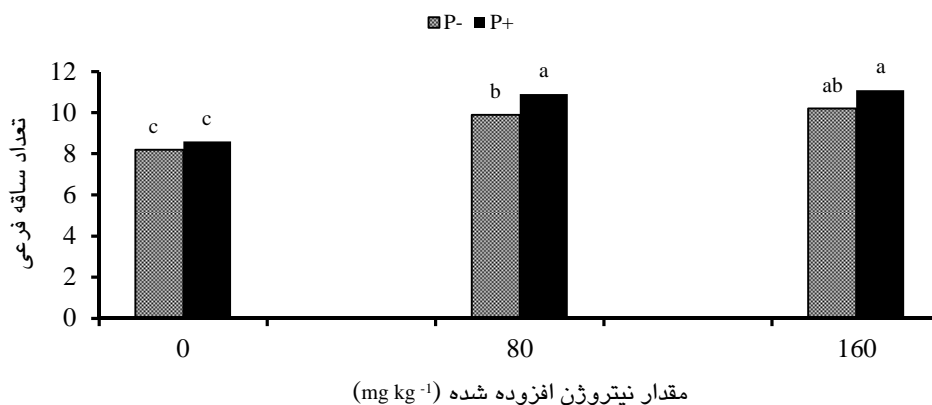
نتایج تحقیق یوسف و همکاران (2004) حاکی از آن است که مصرف کود زیستی (حاوی *Azospirillum* و *Azotobacter*) در گیاه دارویی مریم‌گلی سبب افزایش ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه گردید. عبدالعزیز و همکاران (2007) گزارش کردند با کاربرد توأم کمپوست، *Azotobacter chroococcum* و *Bacillus megaterium*، ارتفاع گیاه رزماری در مقایسه با گیاهانی که فقط با کودهای معدنی NPK تیمار شده بودند، به‌طور معناداری افزایش نشان می‌دهد. عبدالله و همکاران (2012) گزارش دادند که بیشترین ارتفاع گیاه رزماری در تلقیح توأم میکروارگانیسم‌های *Azotobacter chroococcum*، *Bacillus megaterium* و *Bacillus circulans* به‌دست آمد. همچنین بالاتاند و همکاران (2010) بیان کردند که در گیاه دارویی مرزنجوش، تلقیح توأم میکروارگانیسم‌های *Azotobacter* و *Bacillus* موجب افزایش ارتفاع گیاه گردید. در تحقیقی دیگر بر روی گیاه مرزه مشخص شد که با مصرف نیتروژن ارتفاع بوته این گیاه به‌طور معناداری افزایش یافت و بیش‌ترین میانگین ارتفاع، هنگام مصرف متقابل نیتروژن و کمپوست به‌دست آمد (زارع و همکاران 1392). می‌توان چنین استنباط کرد که ارتفاع بوته یک صفت ژنتیکی هست و تحت تأثیر محیط

باکتری *Pseudomonas* و نیتروژن، بیشترین ساقه فرعی مربوط به تیمار $P+N_2$ بوده ولی با تیمار $P+N_1$ اختلاف معنادار نداشت. بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول 2)، اثر متقابل سه جانبه نیتروژن و باکتری‌ها، تأثیر معنادار در تعداد ساقه فرعی نداشت.

افزایش غیر معنادار بود. (جدول 2). بر اساس مقایسه میانگین‌ها (شکل‌های 3 و 4)، در ترکیب تیماری بین باکتری *Azospirillum* و نیتروژن بیشترین تعداد ساقه فرعی مربوط به تیمار $A+N_2$ بوده ولی با تیمار $A+N_1$ اختلاف معنادار نداشت. همچنین در ترکیب تیماری



شکل 3- مقایسه میانگین‌های تعداد ساقه جانبی در ترکیب تیماری نیتروژن و باکتری *Azospirillum*.



شکل 4- مقایسه میانگین‌های تعداد ساقه جانبی در ترکیب تیماری نیتروژن و باکتری *Pseudomonas*.

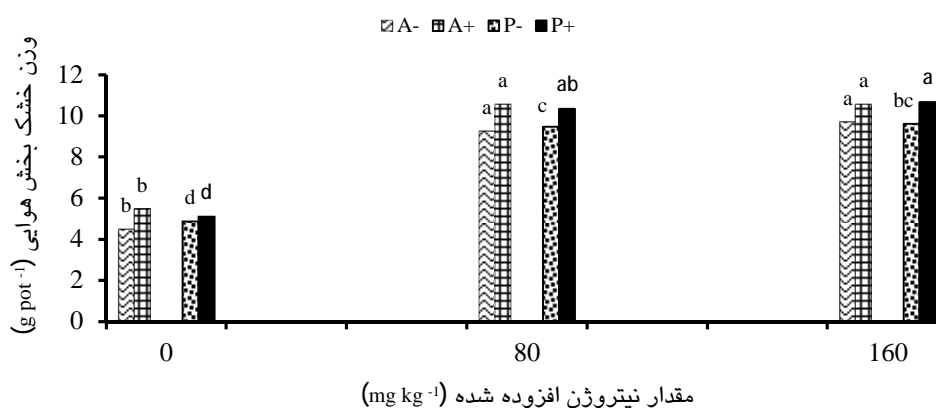
شده بودند، تعداد ساقه فرعی بیشتری داشتند. همچنین کود نیتروژن و کمپوست بر تعداد ساقه فرعی در گیاه مرزه در سطح احتمال یک درصد معنادار بوده و موجب افزایش آن شد. ولی اثر متقابل مصرف نیتروژن و کمپوست بر تعداد ساقه فرعی غیر معنادار بود (زارع و همکاران 1392). همچنین کرمی و همکاران (1390) بیان کردند که در گیاه دارویی گاوزبان، بیشترین تعداد

مصرف کودهای زیستی نظیر *Azotobacter*، *Azospirillum* و *Pseudomonas*، باعث افزایش تعداد ساقه فرعی در گیاه دارویی سیاه‌دانه می‌شود (شالان 2005). نتایج مطالعات عبدالعزیز و همکاران (2007) روی گیاه رزماری نشان داد که گیاهان تیمار شده با ترکیبی از کمپوست، *A. chroococcum* و *B. megaterium* نسبت به گیاهانی که فقط با کودهای معدنی NPK تیمار

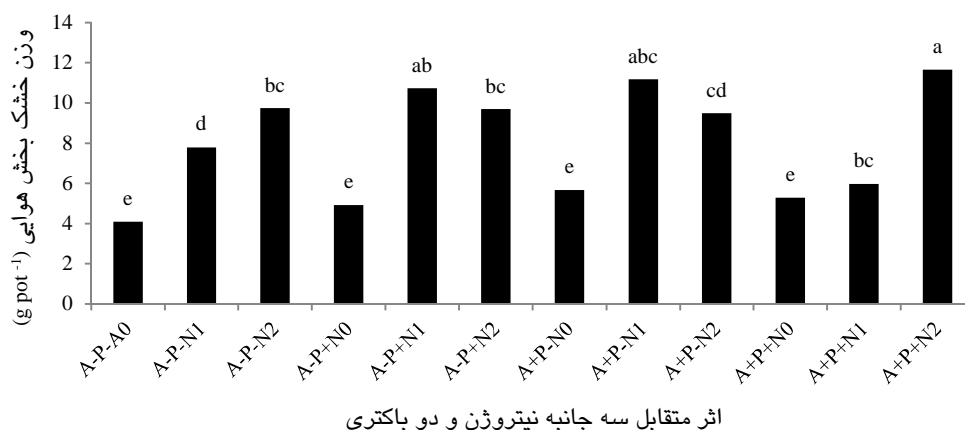
در ترکیب تیماری نیتروژن و باکتری *Pseudomonas* بیشترین وزن به دست آمده مربوط به تیمار P^+N_2 بوده ولی اختلاف معناداری با تیمار P^+N_1 نداشته است (شکل 5). در حضور و عدم حضور باکتری *Pseudomonas* (در سطوح N_1 و N_2) اختلاف معنادار مشاهده شد که علت آن این است که *Pseudomonas* با تأمین فسفر سبب افزایش رشد معنادار در گیاه می شود. نتایج در مورد اثر متقابل نیتروژن و باکتری *Pseudomonas* نیز به این صورت بود. بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول 2)، اثر متقابل سه جانبه نیتروژن و باکتری ها تأثیر معنادار در وزن خشک بخش هوایی ایجاد کرد و بیشترین وزن مربوط به تیمار حضور توأم باکتری *Azospirillum* و *Pseudomonas* به همراه مصرف 160 mg kg^{-1} نیتروژن ($A^+P^+N_2$) بود. ولی این تیمار اختلاف معنادار با تیمار عدم حضور باکتری *Azospirillum* و حضور باکتری *Pseudomonas* و مصرف 80 mg kg^{-1} نیتروژن ($A^-P^-N_1$) یا با تیمار عدم حضور باکتری *Pseudomonas* و حضور باکتری *Azospirillum* و مصرف 80 mg kg^{-1} نیتروژن ($A^+P^-N_1$) اختلاف معنادار نداشت (شکل 6).

ساقه فرعی در شرایط بدون تنش و با مصرف 50% کود شیمیایی و زیستی (نیتروکسین و بیوفسفات) به دست آمد به علاوه، افزایش تعداد شاخه فرعی در گیاه بایونه با افزایش سطح کود نیتروژنی، توسط لچامو و وم (1989) گزارش شده است. دلیل این امر می تواند تأثیر عناصر غذایی به ویژه نیتروژن در تحریک رشد رویشی و طولانی کردن دوره رشد باشد که منجر به تولید شاخه های بیشتر در بوته می شود (زارع و همکاران 1392).

اثر تیمارهای A^+ و P^+ به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد، بر وزن خشک بخش هوایی معنادار بوده است (جدول 2). در تیمار A^+ و P^+ ، وزن خشک بخش هوایی نسبت به زمانی که از این باکتری ها استفاده نشد، به ترتیب 11 و 8 درصد افزایش یافت. اما با توجه به مقایسه میانگین ها، در ترکیب تیماری باکتری *Azospirillum* و نیتروژن بیشترین وزن خشک به دست آمده در تیمارهای A^+N_1 و A^+N_2 بوده است (شکل 5). ولی اختلاف معنادار در صورت حضور و عدم حضور *Azospirillum* (در سطوح N_1 و N_2) وجود نداشت که علت آن این است که در سطوح زیاد نیتروژن، *Azospirillum* نتوانسته اثر خود را نشان دهد. همچنین



شکل 5- مقایسه میانگین های وزن خشک بخش هوایی در ترکیب تیماری نیتروژن و باکتری *Azospirillum* و باکتری *Pseudomonas*



شکل 6- مقایسه میانگین‌های وزن خشک بخش هوایی در ترکیب تیماری نیتروژن و دو باکتری *Pseudomonas* و *Azospirillum*.

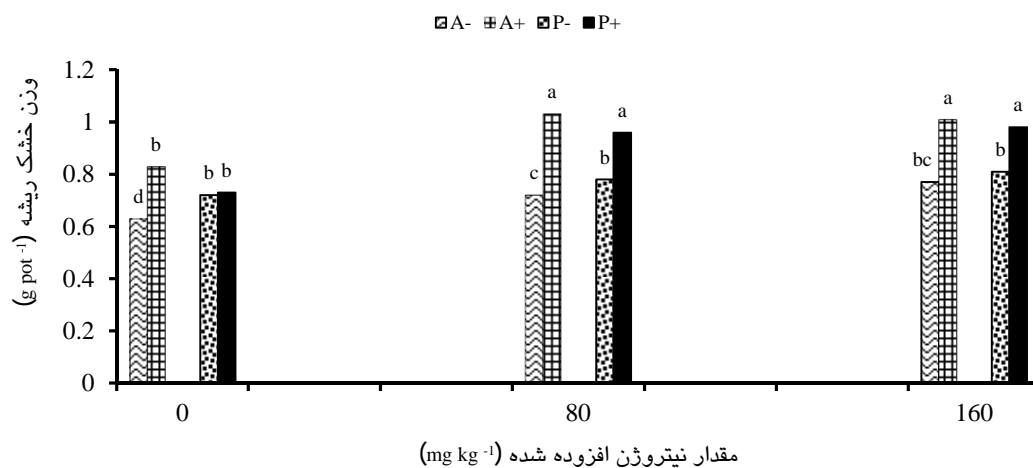
ارتفاع بوته و تعداد ساقه فرعی نسبت داد. باکتری‌های *Pseudomonas* و *Azospirillum* جزء باکتری‌های محرک رشد بوده و ممکن است به‌وسیله تولید هورمون‌هایی از قبیل اکسین، سیتوکنین، جیبرلین و ... موجب تحریک و افزایش رشد گیاه شده و در نتیجه وزن آن را افزایش دهد. به‌علاوه شرکت نیتروژن در ساختار ماکرومولکول‌هایی نظیر پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و اسیدهای نوکلئیک را می‌توان از جمله عوامل مؤثر در افزایش وزن تر و خشک برگ و بخش هوایی در نتیجه مصرف کودهای نیتروژنی دانست (نیاکان و همکاران 1383). همچنین کودهای آلی و بیولوژیک با تأمین عناصر پرمصرف و کم‌مصرف مورد نیاز گیاه، افزایش ظرفیت نگهداری آب در خاک و به‌طور کلی بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک می‌توانند باعث افزایش وزن گیاه شوند (خالید و همکاران 2006).

تیمار A^+ و P^+ در سطح احتمال یک درصد، موجب افزایش معنادار وزن خشک ریشه شد. در تیمار A^+ و P^+ ، وزن خشک ریشه نسبت به زمانی که از این باکتری‌ها مصرف نشد، به‌ترتیب 26 و 13 درصد افزایش یافت. علت اثر بسیار مثبت *Azospirillum* و *Pseudomonas* بر رشد ریشه (در مقایسه با بخش هوایی)، این است که احتمالاً این باکتری‌ها با ترشح

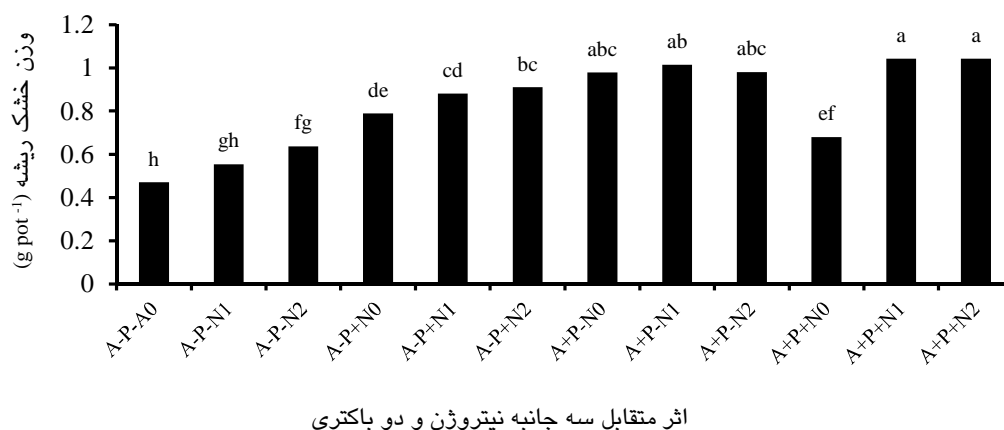
کاربرد کود بیولوژیک منجر به افزایش وزن تر و خشک بوته گیاه زوفا گردید که در این میان کود سوپر نیتروپلاس بیش‌ترین تأثیر را داشت (کوچکی و همکاران 1387). در گیاه دارویی رازیانه بیش‌ترین وزن خشک زمانی به‌دست آمد که تلفیقی از باکتری‌های (*Bacillus*، *Azospirillum*، *Azotobacter*) و نصف کود شیمیایی توصیه‌شده مصرف شد (محفوظ و شرف‌الدین 2007). کندیل و همکاران (2002) بیان کردند که در گیاه دارویی ریحان، تلقیح *Azospirillum* و *Azotobacter* به‌همراه نصف کود شیمیایی نیتروژن توصیه‌شده، ارتفاع گیاه، تعداد ساقه فرعی، وزن تر و خشک برگ‌ها و ریشه را افزایش داد. نتایج تحقیقات گاد (2001) در مورد رازیانه و شوید نیز به‌همین‌صورت بوده و با مصرف کود زیستی، رشد این گیاهان افزایش یافت. عبدالله و همکاران (2012) گزارش دادند که تلقیح توأم میکروارگانیسم‌های *Azotobacter chroococcum*، *Bacillus megaterium* و *Bacillus circulans* موجب افزایش معنادار وزن تر و خشک گیاه رزماری گردید. با تلقیح دانه گیاهان رازیانه، زیره سیاه و گشنیز توسط *Azospirillum* و *Azotobacter* و به‌همراه نصف نیتروژن توصیه‌شده، رشد گیاهان افزایش یافت (امین 1997). افزایش وزن بخش هوایی در نتیجه مایه‌زنی با دو باکتری و مصرف کود نیتروژن را می‌توان به افزایش

جانبه نیتروژن و باکتری‌ها تأثیر معنادار در وزن خشک ریشه ایجاد کرد و بیش‌ترین وزن مربوط به تیمار حضور توأم باکتری *Azospirillum* و *Pseudomonas* به-همراه مصرف 160 mg kg^{-1} نیتروژن ($A^+P^+N_2$) بود. ولی این تیمار اختلاف معنادار با تیمار حضور باکتری *Azospirillum* و *Pseudomonas* و مصرف 80 mg kg^{-1} نیتروژن (P^+N_1+A) یا با تیمار عدم حضور باکتری *Pseudomonas* و حضور باکتری *Azospirillum* و مصرف 80 mg kg^{-1} نیتروژن ($A^+P^+N_1$) اختلاف معنادار نداشت (شکل 8).

هورمون اکسین، سبب افزایش حجم ریشه می‌شوند. بر اساس مقایسه میانگین‌های اثر متقابل *Azospirillum* و *Pseudomonas* (جدول 4)، اثر متقابل *Pseudomonas* نیتروژن و *Azospirillum* نیتروژن (شکل 7) در وزن خشک ریشه معنادار بودند. در ترکیب تیماری نیتروژن و *Pseudomonas*، بیش‌ترین وزن خشک ریشه مربوط به تیمار P^+N_2 بود ولی اختلاف معناداری با تیمار P^+N_1 نداشت. در مورد ترکیب تیماری نیتروژن و *Azospirillum* نیز، بیش‌ترین وزن مربوط به تیمار A^+N_1 بود ولی با تیمار A^+N_2 اختلاف معناداری نداشت. بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول 2)، اثر متقابل سه



شکل 7- مقایسه میانگین‌های وزن خشک ریشه در ترکیب تیماری نیتروژن و باکتری *Azospirillum* و باکتری *Pseudomonas*.



اثر متقابل سه جانبه نیتروژن و دو باکتری

شکل 8- مقایسه میانگین‌های وزن خشک ریشه در ترکیب تیماری نیتروژن و دو باکتری *Azospirillum* و *Pseudomonas*.

با افزایش مصرف نیتروژن وضعیت رشد گیاه بهبود یافت ولی در برخی موارد، در سطوح بالاتر، اثر متقابل آن با باکتری *Azospirillum*، باعث کاهش کارایی *Azospirillum* شد. به طور کلی مصرف 80 میلی‌گرم در کیلوگرم نیتروژن به صورت کود اوره، به همراه تلقیح توأم باکتری‌های *Azospirillum* و *Pseudomonase* اثر مطلوب بر رشد و صفات مورفولوژیک گیاه دارویی مرزه داشت. در واقع با مصرف میکروارگانیسم‌ها در کنار مقدار مناسبی از کود شیمیایی نیتروژن، نه تنها عملکرد گیاه دارویی و رشد آن کاهش نمی‌یابد، بلکه بیشتر از زمانی خواهد بود که تنها از کود شیمیایی استفاده می‌شود ولی برای توصیه، باید آزمایش‌های مشابه مزرعه‌ای نیز صورت گیرد.

شرفی و همکاران (1390) گزارش کردند که در گیاه دارویی بابونه کاربرد نیتروژن موجب افزایش وزن خشک ریشه گردید. همچنین بانچیو و همکاران (2008) نتیجه گرفتند که باکتری‌های *Pseudomonas* و *Bradyrhizobium* در گیاه پونه کوهی موجب افزایش وزن خشک ریشه گردید. توسعه ریشه در ارتباط مستقیم با تغذیه گیاه بوده و بر رشد اندام‌های هوایی گیاه تأثیر زیادی دارد (توحیدی نژاد و همکاران 2008). نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که هر دو باکتری *Azospirillum* و *Pseudomonas* موجب بهبود وضعیت رشد و خصوصیات مورفولوژیک گیاه دارویی مرزه گردیدند. تأثیر باکتری *Pseudomonas* بیشتر بر روی رشد گیاه بود تا ویژگی‌های مورفولوژیک. همچنین

منابع مورد استفاده

- امید بیگی ر، 1374. رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد اول). انتشارات فکر روز. تهران.
- امید بیگی ر، 1388. تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد اول). انتشارات آستان قدس رضوی (شرکت به نشر).
- بلالی مر، ملکوتی مج، گلچین ا، مجیدی ع، درودی مس، ضیائی‌ان ع، لطف الهی م، شهابیان م، بصیرت م، منوچهری س، داودی مح، خادمی ز و شهبازی ک، 1379. توصیه بهینه کودی برای محصولات زراعی و باغی استان زنجان. مؤسسه تحقیقات خاک و آب. تهران.
- زارع ش، سیروس مهرع، قنبری ا و طباطبایی ج، 1392. تغییرات اسانس و برخی ویژگی‌های کمی گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) تحت تأثیر مقادیر مختلف کود نیتروژن و کمپوست زباله شهری. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، جلد 11، شماره 1، صفحه‌های 199 تا 207.
- زمان س، 1376. گیاهان دارویی. انتشارات ققنوس. تهران.
- شرفی ق، رفیعی م و خورگامی ع، 1390. اثر فاصله کاشت و کود نیتروژن بر صفات مورفولوژیک و درصد اسانس بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.). فصلنامه دانش نوین کشاورز پایدار، سال 7، شماره 3، صفحه‌های 280 تا 292.
- کریمی ا، سپهری ع، حمزه‌ای ج و سلیمی ق، 1390. تأثیر کودهای زیستی فسفر و نیتروژن بر صفات کمی و کیفی گیاه دارویی گاوزبان (*Borago officinalis* L.) تحت تنش کمبود آب. فناوری تولیدات گیاهی، جلد 11، شماره 1، صفحه‌های 37 تا 50.
- کوچکی ع، تبریزی ل و قربانی ر، 1387. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیکی بر ویژگی‌های رشد، عملکرد و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.). مجله پژوهش‌های زراعی ایران، جلد 6، شماره 3، صفحه‌های 127 تا 136.
- نیاکان م، خاوری نژاد ر و رضایی م، 1383. اثر نسبت‌های مختلف سه کود P، K و N بر وزن تر، وزن خشک، سطح برگ و میزان اسانس گیاه نعناع لعلی *Mentha piperita* L. فصلنامه پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد 20، شماره 2، صفحه‌های 131 تا 148.
- Abdelaziz M, Pokluda R and Abdelwahab M, 2007. Influence of compost, microorganism and NPK fertilizer upon growth, chemical composition and essential oil production of *Rosmarinus officinalis* L. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 35: 86-90.

- Abdullah AT, Hanafy MS, El-Ghawwas EO and Ali ZH, 2012. Effect of compost and some biofertilizers on growth, yield, essential oil productivity and chemical composition of *Rosmarinus officinalis* L. plants. *Journal of Horticultural Science and Ornamental Plant* 4: 201-214.
- Amin IS, 1997. Effect of bio- and chemical fertilization on growth and production of *Coriandrum sativum*, *Foeniculum vulgare* and *Carum carvi* plants. *Annals of Agricultural Sciences* 35: 2327-2334.
- Balathand AK, Monaharan M, Cheruth AJ and Muthukumar D, 2010. Effect of root inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on plant growth, alkaloid content and nutrient control of *Catharanthus roseus* L. *Natural Croatica* 9: 205-215.
- Banchio E, Bogino PC, Zygadlo J and giordano W, 2008. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yeild in *Organom majorana* L. *Biochemical Systematic and Ecology* 36: 766-771.
- Bashan Y, Holguin G and Lifshitz R, 1993. Isolation and Characterization of Plant Growth- Promoting Rhizobacteria. CRC Press. USA.
- Dong S, Neilsen D, Neilsen GH and Fuchigami LH, 2005. Foliar N application reduces soil NO₃-N leaching loss in apple orchards. *Plant and Soil* 268: 357- 366.
- EL-Komy HM, Hamdia MA and Abdel-Baki GK, 2003. Nitrate reductase in wheat plants grown under water stress and inoculated with *Azospirillum* spp. *Biologia Plantarum* 46: 281-287.
- Gad WM, 2001. Physiological studies on *Foeniculum vulgare* Mill. and *Anethum graveolens* L. M.Sc. Thesis. Faculty of Agriculture. Tanta university. Egypt.
- Gruandwald J and Buttle K, 1996. The European phytotherapeutics market. *Drugs Made in Germany* 36: 6-11.
- Kandeel AM, Naglaa SAT and Sadek AA, 2002. Effect of biofertilizers on the growth, volatile oil yield and chemical composition of *Ocimum basilicum* L. plant. *Annals of Agricultural Sciences* 47: 351-371.
- Khalid AKh, Hendawy SF and El-Gezawy E, 2006. *Ocimum basilicum* L. production under organic farming. *Research Journal of Agriculture and Biological Science* 2: 25-32.
- King EO, 1954. Media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 44: 301-309
- Letchamo W and vomel A, 1989. The relationship between ploidy levels and certain morphological characteristics of *chamomilla recutita*. *Planta Medica* 55: 527-528.
- Mahfouz SA and Sharaf Eldin MA, 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield and essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysics* 21: 361-366.
- Olsson PA, Rahm J and Aliasgharzag N, 2010. Carbon dynamics in mycorrhizal symbioses is linked to carbon costs and phosphorus benefits. *FEMS Microbial Ecology* 72: 123-131
- Shaalán MN, 2005. Influence of biofertilizer and chicken manure on growth, yield and seeds quality of (*Nigella sativa* L.) plants. *Egyptian Journal of Agricultural Research* 83: 811-828.
- Tohidynejad EM, Korky GT, Mohammadinejad MM, Majidi K and Ahmadi Afzadi M, 2008. The effect of planting date and nitrogen levels on performance and essence of *matricaria* (*Matricaria chamomilla*). *Journal of Agriculture and Natural Rresources of Gorgan* 1: 15-24.
- Yousef AA, Edris AE and Goma AM, 2004. A comparative study between some plant growth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of *Salvia officinalis* L. *Plant Annals of Agricultural Science* 49: 299-311.