

اثرات اسیدهای آلی، میکوریزا و ریزوباکترها بر عملکرد و برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum*) در نظام زراعی کم‌نهاده

محمد بهزاد امیری^{۱*}، پرویز رضوانی مقدم^۲، محسن جهان^۳

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۳

- ۱- استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی گناباد
 - ۲- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
 - ۳- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
- *مسئول مکاتبه: E-mail: m.b2.amiri@gmail.com

چکیده

عاری بودن گیاهان دارویی از بقایای شیمیایی، شرط لازم و اساسی در کلیه مراحل تولید، فرآوری و عرضه آنها می‌باشد، بنابراین کاربرد نهاده‌های بوم‌سازگار در امر تولید این گیاهان امری اجتناب‌ناپذیر است. به منظور بررسی اثر نهاده‌های اکولوژیک بر عملکرد گل و دانه گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum*) آزمایشی در دو سال زراعی متوالی ۹۱-۱۳۹۰ و ۹۲-۱۳۹۱ در دانشگاه فردوسی مشهد در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل هفت نوع نهاده آلی و زیستی مختلف نظیر اسید هیومیک، اسید فولویک، نیتروکسین (حاوی باکتری‌های *Azotobacter spp.* و *Azospirillum spp.*)، بیوفسفر (حاوی باکتری‌های *Bacillus sp.* و *Pseudomonas sp.*)، بیوسولفور (حاوی باکتری‌های *Acidithiobacillus spp.*)، میکوریزا حاوی قارچ *Glomus mosseae* و حاوی قارچ *Rhizophagus intraradices* و عدم استفاده از کود (به عنوان تیمار شاهد) بودند. نتایج آزمایش نشان داد که کودهای اسید هیومیک، اسید فولویک، بیوسولفور و میکوریزا (*G. mosseae*)، عملکرد گل خشک را به ترتیب ۳۶، ۲۷، ۲۶ و ۳۰ درصد و عملکرد دانه را به ترتیب ۳۲، ۲۲، ۲۱ و ۱۶ درصد در مقایسه با شاهد افزایش دادند. بیشترین میزان فنول کل در نتیجه‌ی کاربرد بیوسولفور بدست آمد و میزان آنتوسیانین کل در شرایط استفاده از اسید هیومیک و اسید فولویک به ترتیب ۳۸ و ۳۳ درصد نسبت به شاهد ارتقاء پیدا کرد. کودهای بیولوژیک بیوفسفر و بیوسولفور میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به ترتیب ۸ و ۷ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. هر دو میکوریزای مورد مطالعه (*G. mosseae* و *Rh. intraradices*) به ترتیب افزایش ۲۰ و ۱۵ درصدی روغن دانه و افزایش ۳۰ و ۱۸ درصدی پروتئین دانه را در مقایسه با شاهد در پی داشتند. به طور کلی با توجه به یافته‌های این پژوهش، با کاربرد نهاده‌های بوم‌سازگار ضمن کاهش خسارات ناشی از کودهای شیمیایی، خصوصیات کمی و کیفی گاوزبان ایرانی بهبود یافت.

واژه‌های کلیدی: اسید هیومیک، آنتوسیانین کل، بیوسولفور، فنول کل، گیاه دارویی، نهاده بوم‌سازگار

Effects of Organic Acids, Mycorrhiza and Rhizobacteria on Yield and Some Phytochemical Characteristics in Low-Input Cropping System

Mohammad Behzad Amiri^{۱*}, Parviz Rezvani Moghaddam^۲, Mohsen Jahan^۳

Received: December 26, 2015 Accepted: February 11, 2017

1-Assist. Prof., Dept. of Plant Production, Faculty of Agriculture, University of Gonabad, Iran.

2-Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

3-Assoc. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

*Corresponding Author: m.b2.amiri@gmail.com

Abstract

No chemical residues in medicinal plants is essential principle in all stages of their production, processing and supply, therefore, the use of ecofriendly inputs in the production of these plants is inevitable. In order to evaluate the effects of ecological inputs on flower and seed yield of *Echium amoenum*, an experiment was conducted based on RCBD with three replications during 2011-2013 growing seasons, in Ferdowsi University of Mashhad, Iran. Treatments included seven different types of soil amendments and biofertilizers concluded: 1- humic acid, 2- fulvic acid, 3- Nitroxin (containing *Azotobacter* spp. and *Azospirillum* spp.), 4- Biophosphorous (containing *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp.), 5- Biosulfur (containing *Thiobacillus* spp.), 6- Mycorrhiza (*Glomus mosseae*), 7- Mycorrhiza (*Glomus intraradices*), and 8- no fertilizer as control. The results showed that humic acid, fulvic acid, biosulfur and *Glomus mosseae* increased flower yield 36, 27, 26 and 30% respectively and improved seed yield 32, 22, 21 and 16% compared to control, respectively. The highest total phenol obtained in biosulfur treatment. Total anthocyanin in humic and fulvic acids was 38 and 33% more than control, respectively. Biophosphorous and biosulfur biofertilizers increased the antioxidant activity 8 and 7% compared to control, respectively. *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* increased seed oil 20 and 15% and seed protein 30 and 18% compared to control, respectively. In general, according to the findings of this study, the use of ecofriendly inputs while reducing the damage caused by chemical fertilizers, improved quantity and quality of Iranian Ox-Tongue.

Keywords: Biosulfur, Eco-Friendly Input, Humic Acid, Medicinal Plant, Total Anthocyanin, Total Phenol

مقدمه

زیست، این مواد مانع بزرگی در دستیابی به تولید پایدار می‌باشند. تأکید سیستم‌های آینده‌ی کشاورزی بر مبنای کاهش در مصرف انرژی، نهاده‌ها و مدیریت مناسب آب و خاک و منابع بیولوژیکی و حفظ محیط زیست به-

در دهه‌های اخیر تولید در کشاورزی متکی به مصرف نهاده‌های شیمیایی به منظور کسب عملکرد بالا بوده که علاوه بر ایجاد مشکلات عمده و آلودگی محیط-

ملکوتی (۲۰۰۵). اثر سطوح مختلف اسید هیومیک (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) مطالعه و گزارش شد که بیشترین مقدار عملکرد زیستی، ارتفاع و تعداد گل و برگ در بوته در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک حاصل شد (محمدی‌پور و همکاران ۲۰۱۲). در یک پژوهش، اثر سطوح مختلف اسید هیومیک بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه سویا (*Glycine max* L.) مطالعه و گزارش شد که بیشترین عملکرد دانه در سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک به دست آمد، ضمن اینکه کاربرد ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از این اسید آلی نیز بهبود ارتفاع بوته، وزن هزار دانه و تعداد غلاف در بوته را نسبت به شاهد در پی داشت (الباز و همکاران ۲۰۱۲).

کودهای بیولوژیک ماده‌ای شامل انواع مختلف ریز موجودات آزاد زی بوده (چن ۲۰۰۶) که توانایی تبدیل عناصر غذایی اصلی را از فرم غیرقابل‌دسترس به فرم قابل‌دسترس دارند (راجندران و دواراج ۲۰۰۴). برخی از این ریز موجودات اثرات مفیدی در بهبود رشد گیاه دارند و از آن‌ها تحت عنوان ریزوباکترهای محرک رشد گیاه (PGPR) یاد می‌شود (عبدالجلیل و همکاران ۲۰۰۷). به عبارت دیگر، ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه شامل گروه متنوعی از باکتری‌های کلون‌کننده‌ی محیط ریشه و میکروارگانیسم‌های دیازوتروفیک^۲ هستند و زمانی که به صورت هم‌پار ۳ با یک گیاه رشد می‌کنند، سبب تحریک رشد و نمو گیاهان می‌شوند (گیریش و همکاران ۲۰۰۵). در یک پژوهش اثر کودهای زیستی مختلف بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea angustifolia*) بررسی و گزارش شد که بیشترین ترکیبات فنولی ریشه

منظور دستیابی به عملکرد مطلوب و پایدار است، به طوری که اطمینان از تولید مداوم و پایدار منابع غذایی به‌ویژه گیاهان دارویی همراه با حفظ محیط‌زیست، به یکی از مهمترین موضوعات علوم کشاورزی تبدیل شده و مورد توجه روزافزون تولیدکنندگان، محققین، دولتمردان و سیاست‌گذاران قرار گرفته است (کوچکی و همکاران ۱۹۹۷؛ سخن‌سنج ۲۰۰۱). در سیستم‌های کشاورزی پایدار، استفاده از منابع تجدید پذیری که حداکثر محاسن اکولوژیکی و حداقل مضرات زیست‌محیطی را دارا باشند، امری ضروری است (کیزیلکایا ۲۰۰۸). از جمله این منابع تجدید پذیر می‌توان به استفاده از نهاده‌های بوم‌سازگار نظیر اسیدهای آلی و کودهای بیولوژیک اشاره کرد.

قسمت اعظم هوموس خاک‌های مناطق گرمسیری و معتدله را، هیومین تشکیل می‌دهد. اسید هیومیک با وزن مولکولی ۳۰۰-۳۰ کیلودالتون و اسید فولویک با وزن مولکولی کمتر از ۳۰ کیلودالتون به ترتیب سبب تشکیل کمپلکس پایدار نامحلول و محلول با عناصر میکرو می‌گردند (کار ۲۰۰۱). اسید هیومیک دارای درصد کربن بیشتری نسبت به اسید فولویک بوده، ولی اسید فولویک، اکسیژن بیشتری نسبت به اسید هیومیک دارد. کودهای هیومیکی با اکثر کودهای شیمیایی سازگار بوده و قابل اختلاط می‌باشند، در آب به خوبی حل شده و می‌توان آن‌ها را از طریق محلول‌پاشی، مصرف خاکی و سیستم‌های آبیاری تحت فشار مورد استفاده قرار داد (سماوات و ملکوتی ۲۰۰۵). نقش اسید فولویک در گیاه مشابه اسید هیومیک است. اسید فولویک فعال‌ترین ترکیب هیومیکی بوده و باعث حل شدن مواد معدنی در آب شده و به راحتی عناصر غذایی را از طریق یک کمپلکس به گیاه منتقل می‌نماید. قدرت کلات‌کنندگی اسید فولویک در خاک منحصر به فرد است. همچنین اسید فولویک می‌تواند ویتامین‌ها، ایزوآنزیم‌ها، هورمون‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی را در خود حل نموده و از این طریق باعث بهبود رشد و نمو گیاه گردد (سماوات و

1. Plant Growth Promoting Rhizobacteria
2. Deiazotrophic
3. Associative

در یک پژوهش گزارش شد که کاربرد همزمان میکوریزا و کودهای ورمی‌کمپوست و گرانوله‌ی گوگردی، عملکرد دانه کنگد را افزایش داد، به طوری که کاربرد جداگانه‌ی گرانوله‌ی گوگردی اثر چندانی بر صفات مورد مطالعه نداشت، ولی زمانی که این کود به همراه میکوریزا استفاده شد اکثر صفات مورد مطالعه را بهبود بخشید (رضوانی مقدم و همکاران ۲۰۱۵).

ترکیبات ثانویه‌ی موجود در گیاهان، ترکیباتی هستند که نقش چندانی در فرآیندهای اصلی گیاه، مانند فتوسنتز و تنفس ندارند. اغلب این متابولیت‌ها در برخی از اندام‌ها و بافت‌های گیاهی سنتز، ذخیره و نهایتاً ترشح می‌شوند. از مهم‌ترین ترکیبات ثانویه به سه گروه مهم آلکالوئیدها، تریپن‌ها و فنول‌ها می‌توان اشاره کرد. قناعت (۲۰۰۶) طی یک پژوهش در گاوزبان ایرانی، ۲۸ ترکیب ثانویه را جداسازی و شناسایی کرد که مهم‌ترین آن‌ها اسپاتولول، آلفاپینن و دی جرمکین بودند. گاوزبان ایرانی حاوی تانن، لعاب، ساپونین، اسید سالیسیلیک و مواد معدنی مفید است (کیانی ۲۰۰۵). این گیاه دارای ۳ تا ۵ درصد موسیلاژ، ۰/۱۵ درصد فلاونوئید و ۱۳/۴۳ درصد آنتوسیانین به همراه آگلیکون دلفینیدین و سیانیدین است و به مقدار ناچیز آلکالوئید دارد (حمیدی و همکاران ۲۰۱۱). از دیگر ترکیبات ثانویه این گیاه می‌توان به ۱/۹۶ درصد فنول آن اشاره کرد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی گل‌های گاوزبان ایرانی قابل توجه بوده و گل‌ها از میزان مطلوبی فنول، فلاونوئید و آنتوسیانین برخوردار هستند (نادری حاجی باقرکندی و همکاران ۲۰۰۴). در طب سنتی مواد مؤثره موجود در گل‌ها و سرشاخه‌های گاوزبان ایرانی برای تصفیه‌ی خون، نرم‌کنندگی سینه، تقویت قلب، به عنوان مدر، معرق و آرام‌بخش استفاده می‌گردد (صمصام شریعت ۲۰۱۰). گاوزبان ایرانی در درمان التهاب و آماس، سرفه و سایر مشکلات تنفسی مؤثر است (کیانی ۲۰۰۵). تحقیقات اخیر در خصوص خواص درمانی گاوزبان ایرانی نشان داده است که این گیاه باعث

در تیمار ترکیبی بیوسولفور و بیوسولفور حاصل شد (آقاعلیخانی و همکاران ۲۰۱۳). در پژوهشی دیگر بیشترین میزان اسانس گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) در شرایط کاربرد همزمان کودهای زیستی بیوسولفور، نیتروکسین و بیوسولفور به دست آمد (رحیم‌زاده و همکاران ۲۰۱۳). جهان و همکاران (۲۰۱۳) اثر گیاهان پوششی و کودهای بیولوژیک مختلف را بر خصوصیات کمی و کیفی کنگد (*Sesamum indicum* L.) بررسی و گزارش کردند که بیشترین میزان روغن دانه در تیمار بیوسولفور (۳۹/۴ درصد) به دست آمد.

میکوریزا از مهم‌ترین موجودات همزیست با گیاهان هستند که به یک راسته‌ی مونوفیلتیک ۱ به نام گلومرومایکوتا ۲ تعلق دارند و تقریباً در تمام اکوسیستم‌های خشکی حضور دارند. میکوریزاها همزیست‌های اجباری هستند و با ۷۰ تا ۹۰ درصد گونه‌های گیاهی کره‌ی زمین همزیستی نشان می‌دهند و کربن مورد نیاز برای تکمیل چرخه‌ی زندگی‌شان را از گیاه میزبان به دست می‌آورند (ژو و همکاران ۲۰۱۰). میکوریزا ضمن بهبود جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر (روستی و همکاران ۲۰۰۶)، باعث بهبود ساختار خاک (ریلیگ و مومی ۲۰۰۶) و افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی (مارولندا و همکاران ۲۰۰۷) می‌شود. جهان و همکاران (۲۰۰۷) اثر کاربرد همزمان میکوریزا (*Glomus intraradices*) و باکتری‌های آزاد زی تثبیت‌کننده‌ی نیتروژن (*Azospirillum brasilense*) و (*Azotobacter paspali*) را در نظام‌های زراعی رایج و اکولوژیک بررسی و گزارش کردند که بیشترین سرعت فتوسنتز و شاخص کلروفیل نرت (*Zea mays* L.) در تلقیح همزمان میکوریزا و باکتری به دست آمد. نتایج برخی مطالعات حاکی از آن است که کارایی کودهای آلی در حضور میکوریزا تشدید می‌گردد، به عنوان مثال

1. Monophyletic Phylum

2. Glomeromycota

زمان تولید کود)، ۵- بیوسولفور (حاوی باکتری‌های *Acidithiobacillus spp.* با جمعیت ۱۰۸ CFU/ml در زمان تولید کود)، ۶ و ۷ به ترتیب میکوریزا حاوی قارچ *Glomus mosseae* و حاوی قارچ *Rhizophagus intraradices* بودند، ضمن اینکه عدم استفاده از کود به‌عنوان تیمار شاهد مدنظر قرار گرفت.

قبل از انجام آزمایش‌های مزرعه‌ای، به‌منظور تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک محل آزمایش نمونه‌برداری انجام گرفت که خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه‌ای آزمایشی

| بافت خاک | نیترژن (ppm) | فسفر (ppm) | پتاسیم (ppm) | pH | EC (dS.m ⁻¹) |
|-----------|--------------|------------|--------------|-----|--------------------------|
| لومی-سیلت | ۱۵/۶ | ۱۳/۷ | ۴۱۸ | ۷/۴ | ۱/۲ |

جهت آماده‌سازی زمین با تأکید بر عملیات زراعی اکولوژیک، خاک‌ورزی حداقل انجام شد، به‌این‌ترتیب که پس از انجام دیسک سبک، کرت‌های آزمایشی با ابعاد ۴/۸۰×۲/۵۰ متر ایجاد شدند. به‌منظور تلقیح میکوریزا، خاک حاوی این قارچ‌ها به میزان ۲۰ گرم به - ازای هر بوته در هنگام کاشت زیر بذور قرار داده شد. بذره‌های گاوزبان ایرانی با منشأ توده‌ی مشهد از مزرعه‌ی تحقیقاتی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه و اواخر فروردین‌ماه ۱۳۹۱ در ردیف‌هایی به فاصله‌ی ۵۰ سانتی‌متر و با فاصله‌ی روی ردیف ۴۰ سانتی‌متر از یکدیگر کشت شدند. هم‌زمان با کاشت و به منظور اعمال کودهای بیولوژیک (نیتروکسین، بیوفسفر و بیوسولفور)، میزان دو لیتر در

افزایش توان سیستم ایمنی بدن می‌شود و به دلیل وجود موادی مثل پیرولیزیدین، آکالوئیدها، کینون و کینوفوران دارای اثرات ضد میکروبی و ضد عفونی‌کننده است (مهربانی ۲۰۰۵).

علیرغم تحقیقات گسترده‌ای که در مورد تأثیر اسیدهای آلی و کودهای بیولوژیک بر گیاهان زراعی انجام شده، اطلاعات موجود در مورد اثر این نهاده‌ها بر بسیاری از گیاهان دارویی اندک است، لذا با توجه به مصرف بی‌رویه‌ی کودهای شیمیایی، همچنین نظر به اهمیت گاوزبان ایرانی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات دارویی که در بسیاری از صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی کاربرد دارد، این پژوهش با هدف ارزیابی اثرات اسیدهای آلی، دو گونه میکوریزا و ریزوباکترهای محرک رشد گیاه بر عملکرد کمی و برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گل و دانه گاوزبان ایرانی در یک نظام زراعی کم‌نهاده انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دو سال زراعی متوالی ۹۱-۱۳۹۰ و ۹۲-۱۳۹۱ در مزرعه‌ی تحقیقاتی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در زمینی به مساحت حدود ۵۰۰ مترمربع در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل هفت نوع اصلاح‌کننده‌ی خاک و کود بیولوژیک مختلف نظیر ۱- اسید هیومیک (POW HUMUS®, Bioactive 85% WSG, HUMIN TECH, Germany, www.humintech.com)، ۲- اسید فولویک (Fulvital® Plus WSP, Bioactive 75% WSG, HUMIN TECH, Germany, www.humintech.com)، ۳- نیتروکسین (حاوی باکتری‌های *Azotobacter spp.* و *Azospirillum spp.* با جمعیت ۱۰۸ CFU/ml در زمان تولید کود)، ۴- بیوفسفر (حاوی باکتری‌های *Bacillus sp.* و *Pseudomonas sp.* با جمعیت ۱۰۷ CFU/ml در

۱- میکوریزای مورد نیاز توسط شرکت هفت گردون سمنان تأمین شد.

هم، برای هر بلوک آزمایشی یک لوله‌ی آبیاری جداگانه در نظر گرفته شد. کاربرد اسیدهای آلی در دو نوبت به صورت محلول‌پاشی روی برگ‌ها در مراحل شش تا هفت برگی و قبل از گلدهی انجام گرفت و در دومین سال زراعی (۹۲-۱۳۹۱) نیز همین میزان کود در اختیار گیاه قرار گرفت. محلول‌پاشی به هنگام غروب آفتاب و توسط پمپ دستی با حجم پاشش ۴۰۰ لیتر در هکتار انجام شد. اسید هیومیک و اسید فولویک مورد استفاده در آزمایش، به ترتیب با نام‌های تجاری پوهوموس و فولویتال، گرانول قابل حل در آب با منشأ معدنی (کشور آلمان) بودند (جدول ۲).

هکتار از این کودها با بذرهای هر یک از کرت‌های آزمایشی بسته به تیمار آزمایشی مربوطه آغشته شدند، ضمن اینکه در هر دو سال زراعی مورد مطالعه، این کودها در مرحله‌ی شش تا هفت برگی همراه با آب آبیاری به کرت‌های مربوطه اضافه گردیدند. لازم به ذکر است که برای افزایش کارایی بیوسولفور، ۴۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار (توماس ۱۹۸۴) به خاک کرت‌های مربوطه اضافه شد. اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت و آبیاری‌های بعدی به فاصله هر ۷ روز یکبار تا آخر فصل رشد به روش نشتی انجام شد. به دلیل کودی بودن ماهیت تیمارها و جلوگیری از اختلاط تیمارها با

جدول ۲- مشخصات اسید هیومیک و اسید فولویک مورد استفاده در آزمایش

| خصوصیات اسید هیومیک مورد استفاده در آزمایش | | | | | | | | | |
|--|--------------------|---------------------|-------------------|------------|------------------|---------------|--------------|------------------|-----|
| نام تجاری | اسید هیومیک (درصد) | اکسید پتاسیم (درصد) | نیترژن آلی (درصد) | آهن (درصد) | سایر مواد (درصد) | pH | | | |
| پوهوموس WGS85% | ۸۵ | ۱۲ | ۱/۱ | ۰/۸ | ۱/۱ | ۹-۱۰ | | | |
| خصوصیات اسید فولویک مورد استفاده در آزمایش | | | | | | | | | |
| نام تجاری | اسید فولویک (درصد) | آهن (درصد) | منگنز (درصد) | مس (درصد) | روی (درصد) | منیزیم (درصد) | گوگرد (درصد) | سایر مواد (درصد) | pH |
| فولویتال WGS75% | ۷۵ | ۴ | ۲/۵ | ۱ | ۲/۵ | ۶-۷ | ۵-۶ | ۲ | ۴-۵ |

زمین و در طول دوره‌ی رشد، هیچ‌گونه علف‌کش، آفت‌کش و قارچ‌کش شیمیایی استفاده نشد. در سال زراعی دوم (۹۲-۱۳۹۱)، از ابتدا تا انتهای فصل گلدهی، گل‌های تمام سطح کرت‌های آزمایشی به صورت روزانه برداشت و وزن تر و خشک گل‌ها اندازه‌گیری شد. به منظور حفظ کمیت و کیفیت مواد مؤثره‌ی گیاه، نمونه‌های گل در سایه و در درجه حرارت محیط خشک شدند. مجموع وزن خشک گل‌ها در طی دوره‌ی گلدهی به عنوان عملکرد گل در هر کرت در نظر گرفته شد.

برای رسیدن به تراکم مناسب، پس از رسیدن گیاه به مرحله‌ی ۴ برگی عملیات تنک کردن انجام گرفت. به منظور کنترل علف‌های هرز، تنها سه نوبت و جین دستی در سال اول (به ترتیب ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز پس از کاشت) و یک نوبت و جین دستی در سال دوم (۳۰ روز پس از رشد مجدد گیاه در سال دوم) انجام شد. مهم‌ترین علف‌های هرز موجود در مزرعه، سلمه‌تره (*Chenopodium album*)، پیچک (*Convolvulus arvensis*)، خاکشیر شیرین (*Descurainia sophia*) و خاکشیر تلخ (*Sisymbrium officinale*) بودند. در زمان آماده‌سازی

مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

عملکرد گل خشک و عملکرد دانه

اثر اسیدهای آلی و کودهای بیولوژیک مختلف بر عملکرد گل خشک معنی‌دار بود (جدول ۳)، به طوری که تمامی کودهای مورد استفاده در آزمایش منجر به افزایش عملکرد گل خشک نسبت به شاهد شدند که البته بیشترین مقدار عملکرد گل خشک (۱۰۰۴ کیلوگرم در هکتار) در نتیجه‌ی کاربرد اسید هیومیک به دست آمد (شکل ۱).

کودهای اسید فولویک، نیتروکسین، بیوسفور، بیوسولفور، میکوریزا (*Glomus mosseae*) و میکوریزا (*Rhizophagus intraradices*) نیز به ترتیب افزایش ۲۷، ۲۰، ۴، ۲۶، ۳۰ و ۲۸ درصدی عملکرد گل خشک را در مقایسه با شاهد سبب شدند (شکل ۱). عملکرد دانه به طور معنی‌داری تحت تأثیر اسیدهای آلی و کودهای بیولوژیک قرار گرفت (جدول ۳)، به طوری که کودهای اسید هیومیک، اسید فولویک، بیوسولفور و میکوریزا (*Glomus mosseae*) به ترتیب افزایش ۳۲، ۲۲، ۲۱ و ۱۶ درصدی عملکرد دانه را در مقایسه با شاهد به همراه داشتند (شکل ۱).

جهت تعیین ترکیبات ثانویه و مواد مؤثره‌ی گل‌ها، از هر یک از تیمارهای آزمایشی مقدار ۵۰ گرم گل خشک شده به آزمایشگاه منتقل و توسط دستگاه سوکسله عصاره‌گیری و در نهایت میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی، درصد فنول کل، درصد فلاونوئید کل و میزان آنتوسیانین کل آن تعیین شد. میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی با استفاده از روش به دام‌اندازی رادیکال دی-فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)^۱ تعیین شد (شیمادا و همکاران ۱۹۹۲). به منظور تعیین محتوای ترکیبات فنولی از روش فولین سیوکیوکالتیو^۲ استفاده شد (أردن ۲۰۰۸). محتوای فلاونوئید کل با استفاده از روش رنگ-سنجی تعیین گردید (چانگ ۲۰۰۲). روش اختلاف pH^۳ برای تعیین میزان آنتوسیانین کل مورد استفاده قرار گرفت (موآندا و همکاران ۲۰۱۱).

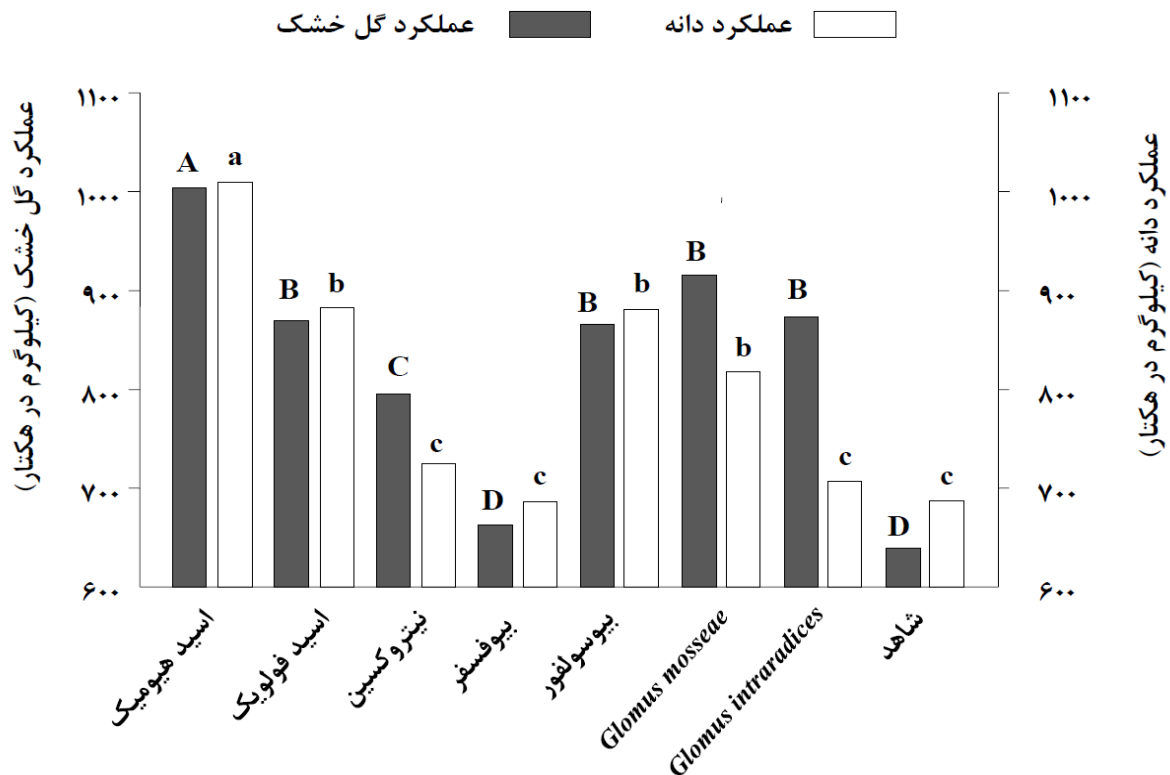
در اواخر فصل رشد، با آغاز مرحله‌ی رسیدگی دانه‌ها و خشک شدن اندام هوایی گیاه، برای تعیین عملکرد دانه و عملکرد ماده‌ی خشک، بوته‌های تمام سطح کرت‌های آزمایشی با رعایت اثر حاشیه‌ای از سطح زمین برداشت و وزن دانه آن‌ها تعیین گردید، سپس مقداری از بذور هر کرت آزمایشی برای تعیین درصد روغن و پروتئین دانه به آزمایشگاه ارسال شد. روغن دانه با استفاده از روش استخراج گرم AOAC (41.1.22) Official Method 972.28 و پروتئین دانه به روش AOAC Official Method 968.06 (4.2.04) بر اساس تعیین نیتروژن به روش کجلدال و با استفاده از دستگاه Semi-Automated Distillation Unit انجام شد (هیلتبرونر و همکاران ۲۰۰۷).

تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها (ANOVA) و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزارهای Ver. 9.1 SAS، MS Excel Ver. 11 و Slide Write Ver. 2

1. Diphenyl Picrylhydrazyl

2. Folin-Ciocalteu

3. pH Different Method



شکل ۱- عملکرد گل خشک و عملکرد دانه گاوزبان ایرانی در تیمار اسیدهای آلی و کودهای بیولوژیک برای هر صفت، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی ویژگی‌های کیفی گاوزبان ایرانی تحت تأثیر اسیدهای آلی و کودهای بیولوژیک مختلف

| منابع تغییر | درجه آزادی | عملکرد گل خشک | عملکرد دانه | میانگین مربعات | | | میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی | میزان فنول کل | میزان فلاونوئید کل | میزان آنتوسیانین کل | روغن دانه | پروتئین دانه |
|---------------------|------------|---------------|-------------|----------------|--------|--------|----------------------------|---------------|--------------------|---------------------|-----------|--------------|
| | | | | میزان | میزان | میزان | | | | | | |
| بلوک | ۲ | ns ۱۷۰۸/۳۸ | ns ۱۸۱۹/۰۰ | ۶۳/۹۶ | ۳۲/۸۱ | ۳۱۶۲ | ns ۰/۰۰۰۰۰۱ | ns ۰/۴۰ | ns ۰/۴۰ | ۱۵/۱۰ | ** ۹/۴۵ | |
| تیمارهای آزمایشی | ۷ | ** ۹۲۵۶۳/۳۶ | ** ۸۳۵۹۶/۲۸ | ۱۷۹/۰۷ | ۵۲۶/۰۶ | ۲۸۹۸۴ | ** ۰/۰۰۰۰۰۲ | * ۱۵/۱۰ | ** ۹/۴۵ | ۱/۶۸ | ۱/۶۸ | |
| خطای آزمایشی | ۱۴ | ۲۵۵۳/۷۰ | ۳۵۷۴/۴۷ | ۸/۸۵ | ۱۶/۸۰ | ۲۶۹/۸۳ | ۰/۰۰۰۰۰۰۱ | ۴/۵۱ | ۱/۶۸ | ۱/۶۸ | ۱/۶۸ | |
| ضریب تغییرات (درصد) | - | ۱۵/۲۶ | ۱۷/۳۴ | ۱۳/۷۹ | ۱۷/۸۱ | ۱۶/۵۲ | ۱۸/۸۹ | ۱۵/۵۷ | ۱۷/۳۸ | ۱۷/۳۸ | ۱۷/۳۸ | |

ns, *, ** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم معنی‌داری می باشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین برخی ویژگی‌های کیفی گاوزبان ایرانی تحت تأثیر اسیدهای آلی و کودهای بیولوژیک مختلف

| پروتئین | روغن دانه | میزان آنتوسیانین کل | میزان فلاونوئید کل | میزان فنول کل | میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی | |
|----------|-----------|---------------------|------------------------|----------------------|----------------------------|---------------------------------|
| (%) دانه | (%) | mg/g flower (DW) | mg QE/100g (flower DW) | mg GAE/g flower (DW) | (mg/ml) | |
| ۹/۳۱c | ۱۹/۱۵b | ۰/۰۰۵۵a | ۲۵۳/۸۸c | ۳۷/۱۴d | ۶۴/۱۸e | اسید هیومیک |
| ۹/۶۶c | ۱۸/۵۱b | ۰/۰۰۵۱ab | ۲۸۹/۹۹b | ۴۰/۴۲d | ۸۱/۲۷bc | اسید فولویک |
| ۸/۱۱de | ۱۸/۷۳b | ۰/۰۰۴۸b | ۱۵۸/۲۲e | ۶۱/۶۹b | ۷۹/۰۶c | نیتروکسین |
| ۹/۴۹c | ۱۸/۶۵b | ۰/۰۰۳۰c | ۳۸۷/۴۱a | ۴۸/۰۳c | ۸۷/۲۴a | بیوفسفر |
| ۱۱/۲۹a | ۲۱/۸۵a | ۰/۰۰۳۴c | ۳۹۵/۱۱a | ۷۳/۷۸a | ۸۶/۰۴ab | بیوسولفور |
| ۱۰/۴۶ab | ۲۱/۳۶a | ۰/۰۰۳۷c | ۲۰۴/۵۷d | ۵۰/۱۰c | ۷۹/۸۳c | <i>Glomus mosseae</i> |
| ۸/۹۲cd | ۱۹/۹۷b | ۰/۰۰۳۳c | ۱۶۰/۲۹e | ۶۶/۰۸b | ۷۰/۳۳d | <i>Rhizophagus intraradices</i> |
| ۷/۳۱e | ۱۷/۰۴c | ۰/۰۰۳۴c | ۱۶۳/۰۴e | ۴۲/۵۸cd | ۸۰/۲۶c | شاهد |

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

دانه‌ی این گیاه را ۳۲/۵ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (هاشم‌زاده و همکاران ۲۰۱۳). برخی دیگر از محققین (حیدری و کرمی ۲۰۱۴) نیز گزارش کردند که کاربرد میکوریزا (*Glomus etunicatum*) نقش مؤثری در بهبود عملکرد دانه‌ی آفتابگردان (*Helianthus annuus*) داشت. در یک پژوهش، گزارش شد که اثر میکوریزا (*Rhizophagus intraradices*) بر اجزای عملکرد، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، شاخص برداشت و محتوی و عملکرد اسانس رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) و زنیان (*Trachyspermum ammi*) معنی‌دار بود، به طوری- که تلقیح با میکوریزا به ترتیب باعث افزایش ۳۵ و ۸۵ درصدی عملکرد این دو گیاه دارویی شد (شبهانگ و همکاران ۲۰۱۳). در پژوهشی دیگر، اثر میکوریزا بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی کدو پوست‌کاغذی (*Cucurbita pepo* L.) مورد مطالعه قرار گرفت و گزارش شد که در شرایط کاربرد این کود بیولوژیک، خصوصیات مورفولوژیکی گیاه و به‌ویژه رشد اندام‌های زایشی گیاه به‌طور چشمگیری افزایش یافت (بغدادی و همکاران ۲۰۱۲).

به‌نظر می‌رسد که اسیدهای آلی مورد مطالعه از طریق بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک (ناتسان و همکاران ۲۰۰۷) شرایط مساعدی را برای رشد مطلوب‌تر گیاه فراهم کردند، لذا افزایش عملکرد گل و دانه در شرایط کاربرد این کودها منطقی به‌نظر می‌رسد.

در یک پژوهش، اثر سطوح مختلف اسید هیومیک بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه سویا مطالعه و گزارش شد که بیشترین عملکرد دانه در سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک به دست آمد، ضمن این- که کاربرد ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از این اسید آلی نیز بهبود ارتفاع بوته، وزن هزار دانه و تعداد غلاف در بوته را نسبت به شاهد در پی داشت (الباز و همکاران ۲۰۱۲). گونه‌های مختلف میکوریزا احتمالاً از طریق تولید متابولیت‌ها و هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین (بن- عبدالله و همکاران ۲۰۱۱) باعث بهبود عملکرد گل و دانه گیاه شدند. گزارش شده است که تلقیح با میکوریزا (*Glomus mosseae*) خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens*) و به‌ویژه عملکرد

گیاه می‌شوند. این میکروارگانیسم‌ها با برقراری کنش متقابل با ریشه گیاهان در ریزوسفر، سبب بروز فواید بسیاری می‌شوند (عبدالجلیل و همکاران ۲۰۰۷). کودهای بیولوژیک از طریق مکانیسم‌های مختلفی نظیر افزایش دسترسی به نیتروژن به وسیله تثبیت نیتروژن (ساهین و همکاران ۲۰۰۴)، آزاد کردن متابولیت‌ها، تولید هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین (ایگامبردیوا ۲۰۰۵)، افزایش جذب آب و مواد غذایی و کنترل بیولوژیک پاتوژن‌های خاکزاد باعث بهبود رشد گیاه می‌شوند.

میکوریزا احتمالاً از طریق بهبود جذب و انتقال عناصر غذایی (روستی و همکاران ۲۰۰۶) و تولید متابولیت‌ها و هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین باعث افزایش رشد گیاه (مارولاندا و همکاران ۲۰۰۷) می‌شود. بن‌عبدالله و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که میکوریزا به‌طور وسیعی هدایت روزنه‌ای را کاهش و محتوای رطوبت نسبی برگ را افزایش می‌دهد، لذا تحمل تنش‌های محیطی آسان می‌گردد. گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) پس از بررسی اثر میکوریزا بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی نعناع (*Mentha arvensis*) گزارش کردند که کلونیزاسیون ریشه تحت تأثیر تلقیح با این قارچ بهبود یافت و در نتیجه خصوصیات رشدی، عملکرد ماده‌ی خشک و محتوای اسانس گیاه از افزایش قابل توجهی در مقایسه با شاهد برخوردار شدند.

در یک پژوهش اثر کودهای زیستی مختلف بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی سرخارگل بررسی و گزارش شد که بیشترین ترکیبات فنولی ریشه در تیمار ترکیبی بیوسولفور و بیوفسفر حاصل شد (آقاعلیخانی و همکاران ۲۰۱۳). در پژوهشی دیگر بیشترین میزان اسانس گیاه دارویی بادرشبو در شرایط کاربرد همزمان کودهای زیستی بیوسولفور، نیتروکسین و بیوفسفر به دست آمد (رحیم‌زاده و همکاران ۲۰۱۳).

پاسخ آنتی‌اکسیدانی، فرآیندی مهم برای حفاظت گیاهان در مقابل آسیب‌های اکسیداتیوی است که در اثر

به نظر می‌رسد که کودهای بیولوژیک احتمالاً از طریق افزایش دسترسی گیاه به نیتروژن به وسیله تثبیت نیتروژن (ساهین و همکاران ۲۰۰۴)، آزاد کردن متابولیت‌ها، تولید هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین، افزایش جذب آب و مواد غذایی و کنترل بیولوژیک پاتوژن‌های خاکزاد باعث بهبود عملکرد گل خشک و دانه شده‌اند (ایگامبردیوا ۲۰۰۵). آزاز و همکاران (۲۰۰۹)، با بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر روی گیاه رازیانه گزارش کردند که استفاده از تیمار *Azotobacter* نسبت به شاهد، باعث افزایش ۱۸ درصدی عملکرد گیاه شد. سانچزگوین و همکاران (۲۰۰۵) در آزمایشی اثر کودهای بیولوژیک را در دو گیاه دارویی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) و همیشه‌بهار بررسی و گزارش کردند که کاربرد این کودها در همیشه‌بهار باعث افزایش عملکرد و بهبود کیفیت گیاه شد، درحالی‌که در بابونه افزایش عملکرد را به همراه داشت، ولی اثری بر کیفیت آن نداشت.

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنول کل

اسیدهای آلی و کودهای بیولوژیک مختلف به‌طور معنی‌داری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنول کل تأثیر داشت (جدول ۳). کودهای بیولوژیک بیوفسفر و بیوسولفور میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به ترتیب ۸ و ۷ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند (جدول ۴). بیشترین میزان فنول کل (۷۴ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک گل) در نتیجه‌ی کاربرد بیوسولفور به دست آمد، به‌طوری‌که میزان فنول کل در این تیمار ۴۲ درصد بیشتر از شاهد بود (جدول ۴). کودهای نیتروکسین و میکوریزا (*Rhizophagus intraradices*) نیز به ترتیب افزایش ۳۱ و ۳۶ درصدی میزان فنول کل را در مقایسه با شاهد در پی داشتند (جدول ۴). یکی از شیوه‌های بیولوژیکی برای افزایش تولید در کشاورزی، استفاده‌ی بالقوه از میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی است که به طرق مختلف باعث افزایش رشد و عملکرد

به ۴- کوماریل کوآنزیم A می‌شود که این ترکیب پیش‌ساز فعال در تولید ترکیبات فلاونوئیدی است و از طرفی فنیل آلانین آمونیاک‌لیاز و کالون سینتاز هر دو در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین‌ها استفاده می‌شوند (کیلو و همکاران ۱۹۹۸)، لذا به نظر می‌رسد نهاده‌های اکولوژیک مورد مطالعه احتمالاً از طریق مکانیسم‌هایی نظیر انحلال ویتامین‌ها، ایزوآنزیم‌ها، هورمون‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی (سماوات و ملکوتی ۲۰۰۵) و افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی (مارولندا و همکاران ۲۰۰۷)، سنتز آنزیم فنیل آلانین آمونیاک‌لیاز را فعال و در نتیجه منجر به افزایش میزان فلاونوئید و آنتوسیانین در گاوزبان ایرانی شدند.

فسفر یکی از عناصر غذایی ضروری برای بهبود رشد کیفی و کمی گیاهان به شمار می‌رود که کمبود آن کاهش ۳۰ تا ۴۰ درصد عملکرد (وانسه و همکاران ۲۰۰۳) و افت گلدهی رزماری (ساردانز و همکاران ۲۰۰۵) را موجب شد.

یکی از راهکارهای مؤثر در زمینه‌ی بهبود فراهمی و افزایش دسترسی به این عنصر پرمصرف، تلقیح گیاه با قارچ میکوریزا می‌باشد (کاپور و همکاران ۲۰۰۷). برخی محققان (آناندهام و همکاران ۲۰۰۷؛ کرتز و میرلو ۲۰۰۴) گزارش کردند که به دلیل کمبود گوگرد، سنتز برخی پروتئین‌ها و ویتامین‌های ضروری گیاهان با مشکل مواجه می‌شود، از این رو استفاده از نهاده‌های گوگردی بوم‌سازگار نظیر گوگرد گرانوله برای بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاهان ضروری به نظر می‌رسد. همچنین گزارش شده است که مصرف گوگرد و تولید اسید سولفوریک حاصل از اکسایش آن، باعث کاهش pH خاک و افزایش دسترسی فسفر می‌شود (زاپاتا و روی ۲۰۰۴). در شرایط هوایی باکتری‌های کمولیتوترو، مسئول اکسیداسیون هستند. بعضی باکتری‌های هتروتروف، اکتینومیسیت‌ها و قارچ‌ها دارای توانایی اکسیداسیون سولفید هیدروژن می‌باشند. با این

طیف وسیعی از تنش‌های محیطی شامل شوری، خشکی، فلزات سنگین، سرما و کمبود عناصر غذایی خاک ایجاد می‌شود (میتلر و همکاران ۲۰۰۴)، بنابراین به نظر می‌رسد که نهاده‌های بوم‌سازگار مورد مطالعه احتمالاً از طریق تأمین عناصر غذایی کافی و همچنین افزایش ظرفیت نگهداری آب تنش‌های محیطی را کاهش داده و در نتیجه با کاربرد آنها میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه افزایش یافته است.

در برخی مطالعات به نقش اسیدهای آلی و کودهای بیولوژیک در کاهش جمعیت پاتوژن‌ها و بیماری‌های خاکزاد اشاره شده است و از آنجاییکه میزان ترکیبات فنولیک در بوته‌های سالم بیشتر از بوته‌های بیمار است (آنجوم و همکاران ۲۰۱۲)، به نظر می‌رسد نهاده‌های اکولوژیک مورد مطالعه از این طریق منجر به افزایش میزان فنول کل شدند.

میزان فلاونوئید کل و آنتوسیانین کل

اثر اسیدهای آلی و کودهای بیولوژیک مختلف بر میزان فلاونوئید کل و آنتوسیانین کل معنی‌دار بود (جدول ۳). اسیدهای آلی هیومیک و فولویک به ترتیب منجر به افزایش ۳۶ و ۴۴ درصدی میزان فلاونوئید کل نسبت به شاهد شدند، ضمن این‌که میزان آنتوسیانین کل نیز در شرایط استفاده از اسید هیومیک و اسید فولویک به ترتیب ۳۸ و ۳۳ درصد نسبت به شاهد ارتقاء پیدا کرد (جدول ۴). کودهای بیولوژیک بیوفسفر و بیوسولفور به ترتیب افزایش ۵۸ و ۵۹ درصدی میزان فلاونوئید کل را در مقایسه با شاهد سبب شدند (جدول ۴). میزان فلاونوئید کل تحت تأثیر کود میکوریزا (*Glomus mosseae*) ۲۰ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول ۴). کود بیولوژیک نیتروکسین افزایش ۲۹ درصدی میزان آنتوسیانین کل را در مقایسه با شاهد در پی داشت (جدول ۴).

آنزیم فنیل آلانین آمونیاک‌لیاز به عنوان اولین آنزیم در مسیر فنیل پروپانوئید موجب تبدیل فنیل آلانین

آلی هیومیک و فولویک روغن دانه را به ترتیب ۱۱ و ۸ درصد و پروتئین دانه را به ترتیب ۲۱ و ۲۴ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند، کودهای بیولوژیک نیتروکسین، بیوسفور و بیوسولفور به ترتیب افزایش ۹، ۹ و ۲۲ درصدی روغن دانه و افزایش ۱۰، ۲۳ و ۳۵ درصدی پروتئین دانه را نسبت به شاهد سبب شدند، هر دو میکوریزای مورد مطالعه (*Glomus mosseae* و *Rhizophagus intraradices*) به ترتیب افزایش ۲۰ و ۱۵ درصدی روغن دانه و افزایش ۳۰ و ۱۸ درصدی پروتئین دانه را در مقایسه با شاهد به همراه داشتند (جدول ۴).

بین دو سال زراعی از نظر میزان روغن دانه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، ولی میزان پروتئین دانه در سال زراعی سوم ۶ درصد بیشتر از سال زراعی دوم بود (جدول ۴). بیشترین میزان روغن دانه در سال‌های زراعی دوم و سوم به ترتیب در تیمارهای بیوسولفور و میکوریزا (*Glomus mosseae*) به دست آمد، ضمن این‌که در هر دو سال زراعی تیمار بیوسولفور دارای بیشترین میزان پروتئین دانه بود (جدول ۴). کودهای هیومیکی با اکثر کودهای شیمیایی سازگار بوده و قابل اختلاط می‌باشند، در آب به خوبی حل شده و می‌توان آن‌ها را از طریق محلول‌پاشی، مصرف خاکی و سیستم‌های آبیاری تحت فشار مورد استفاده قرار داد. تأثیر این کودها بر رشد گیاه ممکن است به صورت مستقیم (افزایش کل وزن خشک گیاه) و یا به صورت غیرمستقیم (افزایش راندمان مصرف کود و کاهش فشردگی خاک) باشد (سماوات و ملکوتی ۲۰۰۵).

مهم‌ترین نقشی که گوگرد در گیاهان ایفا می‌کند شرکت در ساخت اسیدهای آمینه ضروری سیستمین، سیتین و متیونین است، بنابراین نقش اساسی در سنتز پروتئین ایفا نموده و حضور گوگرد و استفاده از تیوباسیلوس برای جذب بهتر این عنصر باعث افزایش پروتئین دانه می‌گردد (فلاح و همکاران ۲۰۰۹). باکتری‌های موجود در کود بیولوژیک بیوسولفور با

حال اکسیداسیون گوگرد به‌طور عمده توسط گونه‌های کمولیتوتروف اسیدی تیوباسیلوس انجام می‌شود. کاپور و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که تلقیح بذر رازیانه با میکوریزا، به دلیل افزایش باروری فسفر خاک باعث افزایش معنی‌دار رشد و همچنین بهبود عملکرد اسانس گیاه شد. در پژوهش دیگری روی گیاه دارویی نعناع گزارش شد که کاربرد ۴ گونه میکوریزا منجر به بهبود مقدار اسانس و میزان منتول آن نسبت به شاهد شد (فریتاس و همکاران ۲۰۰۴). جهان و همکاران (۲۰۰۷) اثر کاربرد همزمان میکوریزا (*Rhizophagus intraradices*) و باکتری‌های آزاد زی تثبیت‌کننده نیتروژن (*Azospirillum* و *Azotobacter*) را در نظام‌های زراعی رایج و اکولوژیک بررسی و گزارش کردند که بیشترین سرعت فتوسنتز و عدد کلروفیل متر نرت در تلقیح همزمان میکوریزا و باکتری به دست آمد. در یک پژوهش گزارش شد که میزان فلاونوئید کل، میزان اسانس و میزان کامازولن گیاه دارویی بابونه شیرازی (*Chamaemelum nobile* L.) تحت تأثیر کود بیولوژیک بیوسولفور به میزان قابل‌توجهی نسبت به شاهد افزایش یافت (دهقانی‌مشکانی و همکاران ۲۰۱۱). در پژوهشی دیگر واکنش گیاه ریحان به کاربرد کودهای بیولوژیک و سوپرچادب بررسی و گزارش شد که بیشترین عملکرد اسانس به ترتیب در تیمارهای بیوسولفور به‌علاوه‌ی سوپرچادب، بیوسولفور به‌علاوه‌ی نیتروکسین و نیتروکسین به‌علاوه‌ی سوپرچادب به دست آمد (شاه‌حسینی و همکاران ۲۰۱۲).

میزان روغن و پروتئین دانه

اثر اسیدهای آلی و کودهای بیولوژیک بر میزان روغن و پروتئین دانه معنی‌دار بود (جدول ۳)، به‌طوری‌که تمامی کودهای مورد مطالعه منجر به افزایش روغن و پروتئین دانه شدند، که البته بیشترین میزان روغن (۲۲ درصد) و پروتئین دانه (۱۱ درصد) در نتیجه‌ی کاربرد بیوسولفور به دست آمد (جدول ۴). اسیدهای

کردند. در یک پژوهش کاربرد ۴۵۰ کیلوگرم گوگرد همراه با تیوباسیلوس و ۵۰ تن در هکتار کود دامی منجر به تولید بیشترین میزان روغن دانه‌ی کلزا (*Brassica napus L.*) شد (کریمی و همکاران ۲۰۱۲). در پژوهشی دیگر بیشترین درصد روغن و پروتئین کنجد به ترتیب در تیمارهای بیوسولفور و بیوفسفر گزارش شد (جهان و همکاران ۲۰۱۳).

نتیجه گیری کلی

به‌طور کلی، نتایج این آزمایش نشان داد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر تیمارهای بیوفسفر و بیوسولفور نسبت به شاهد افزایش یافت. کودهای نیتروکسین، بیوسولفور و میکوریزا (*Rhizophagus intraradices*) میزان فنول کل را در مقایسه با شاهد افزایش دادند و تیمارهای اسید هیومیک و اسید فولویک از میزان آنتوسیانین کل بیشتری نسبت به شاهد برخوردار بودند، ضمن این‌که تمامی نهادهای اکولوژیک مورد مطالعه به جز نیتروکسین و میکوریزا (*Rhizophagus intraradices*) افزایش میزان فلاونوئید کل را در مقایسه با شاهد سبب شدند. به‌طور کلی با توجه به نتایج آزمایش، به‌نظر می‌رسد که با استفاده از اسیدهای آلی و کودهای بیولوژیک می‌توان ضمن بهبود عملکرد گل و دانه گاوزبان ایرانی، سلامت محصول و محیط‌زیست را تضمین کرد و خسارات ناشی از نهاده‌های شیمیایی را به حداقل رساند.

اکسایش گوگرد، می‌تواند در اصلاح خاک، تأمین سولفات مورد نیاز گیاه، انحلال برخی از عناصر غذایی و افزایش قابلیت جذب آن‌ها مؤثر واقع شوند (راجندران و دواراج ۲۰۰۴) و احتمالاً از این طریق منجر به بهبود خصوصیات کمی و کیفی گاوزبان ایرانی شدند. به‌نظر می‌رسد باکتری‌های موجود در بیوفسفر احتمالاً با انحلال فسفات نامحلول و افزایش مقدار فسفر در دسترس گیاه، باعث افزایش تثبیت نیتروژن شده (الیورا و همکاران ۲۰۰۲) و با توجه به نقش کلیدی عنصر نیتروژن در میزان پروتئین دانه، از این طریق منجر به افزایش پروتئین دانه شده است.

در یک پژوهش گزارش شد که اسید هیومیک در افزایش جذب فسفر، افزایش مقادیر رنگدانه‌های فتوسنتزی و بهبود عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa L.*) مؤثر بود (حیدری و خلیلی ۲۰۱۴). در پژوهش دیگری، اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک بر عملکرد گل، عملکرد زیست‌توده و نیز غلظت عناصر فسفر، پتاسیم و کلسیم اندام‌های گل و برگ گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis*) مثبت گزارش شد (حیدری و مینایی ۲۰۱۴). بسیاری از پژوهشگران ضمن بررسی‌های خود تأثیر مثبت تلقیح باکتری‌های تیوباسیلوس بر افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی را گزارش کرده‌اند (اخوان و فلاح نصرت‌آباد ۲۰۱۳). برخی محققان اثر بیوسولفور را در بهبود عملکرد روغن و پروتئین دانه‌ی کنجد (ال‌هاباشا و همکاران ۲۰۰۷) و پروتئین دانه‌ی گندم (*Triticum aestivum*) (شایند و همکاران ۲۰۰۴) مثبت گزارش

منابع مورد استفاده

- Abdul Jaleel C, Manivannan P, Sankar B, Kishorekumar A, Gopi R, Somasundaram R and Panneerselvam R, 2007. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60:7–11.
- Agha Alikhani M, Iranpoor A and Naghdibadi H, 2013. Variation of agronomic and phytochemistry of *Echinaceae purpurea* (L.) Moench affected by urea and biofertilizer. *Journal of Medicinal Plant*, 12: 121-138. (In Persian).

- Akhavan Z and Fallah Nosrat Abad AR, 2013. The effect of sulfur and Thiobacillus inoculant on soil pH, dry matter weight and phosphorus absorption by Canola. Journal of Soil Management and Sustainable, 3: 1-14. (In Persian).
- Anandham R, Sridar R, Nalayini P, Poonguzhali S, Madhaiyan M and Tongmin S, 2007. Potential for plant growth promotion in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cv. ALR-2 by co-inoculation of sulfur-oxidizing bacteria and Rhizobium. Microbiological Research, 162: 139-153.
- Anjum T, Fatima S and Amjad S, 2012. Physiological changes in wheat during development of loose smut. Trop Plant Pathol, 37: 102-107.
- Azzaz NA, Hassan E and Hamad EH, 2009. The chemical constituent and vegetative and yielding characteristics of fennel plants treated with organic and bio-fertilizer instead of mineral fertilizer. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3: 579-587.
- Baghdadi H, Daneshian J, Yousefi M, Alimohammadi M and Kheybari M, 2012. Influence of cattle manure and mycorrhiza fungi on vegetative growth of pumpkin under water deficit conditions. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 4: 1362-1365.
- Benabdellah K, Abbas Y, Abourouh M, Aroca R and Azcon R, 2011. Influence of two bacterial isolates from degraded and non-degraded soils and arbuscular mycorrhizae fungi isolated from semi-arid zone on the growth of *Trifolium repens* under drought conditions: Mechanisms related to bacterial effectiveness. European Journal, 47: 303-309.
- Chang YL, 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. Journal Agricultural Food Chemistry, 50: 3713-3717.
- Chen J, 2006. The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizer for crop growth and soil fertility. International Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient crop Production and Fertilizer Use. October, 16-20. Thailand.
- Clive L, Sze-Chung S and Nicholson R, 1998. Reduction of light induced anthocyanin accumulation in inoculated sorghum mesocotyls implication for a compensatory role in the defense response. Plant Physiology, 116: 979-989.
- Dehghani Mashkani M, Naghdi Badi H, Darzi M, Mehrafarin A, Rezazadeh S and Kadkhoda Z, 2011. The effect of biological and chemical fertilizers on quantitative and qualitative yield of shirazian baboonch (*Matricaria recutita* L.). Journal of Medicinal Plants, 2: 35-48. (In Persian).
- Egamberdiyeva D, 2005. Plant-growth-promoting rhizobacteria isolated from a Calcisol in a semi-arid region of Uzbekistan: Biochemical characterization and effectiveness. Journal of the Plant Nutrition and Soil Science, 168: 94-99.
- El-Baz SM, Abbas EE and Mostafa RAIA, 2012. Effect of sowing dates and humic acid on productivity and infection with rot diseases of some soybean cultivars cultivated in new reclaimed soil. International Journal of Agricultural Research, 7: 345-357.
- El-Habbasha SF, Abdel Salam MS and Kabesh MO, 2007. Response of two sesame varieties (*Sesamum indicum* L.) to partial replacement of chemical fertilizers by bio-organic fertilizers. Research Journal of Agriculture and Biology Sciences, 3: 563-571.
- Fallah B, Besharati H and Khosravi H, 2009. Soil microbiology. Ayeezh Press. (In Persian).
- Freitas MS, Martins M and Vieira EIJC, 2004. Yield and quality of essential oils of *Mentha arvensis* in response to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 39: 887-894.
- Ghenaat J, 2006. Isolation and study of quantitative and qualitative ingredients aromatic essential oils of several plant species of the Boraginaceae family. M.S. Thesis of Mazandaran University. (In Persian).
- Girish N and Umesha S, 2005. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on bacterial canker of tomato. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 38: 235-243.

- Gupta ML, Prasad A, Ram M and Kumar S, 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technology*, 81: 77-79.
- Hamidi EM, Khaksari M and Hojabri Kh, 2011. The effects of aqueous extracts of *Echium amoenum* and *Citrus aurantifolia* on blood pressure and heart rate before and after phenylephrine injection in rat. *Journal of Kerman University of Medical Science*, 18: 349-357. (In Persian).
- Hashemzadeh F, Mirshekari B, Khoe FR, Yarnia M and Tarinejad A, 2013. Effect of bio and chemical fertilizers on seed yield and its components of dill (*Anethum graveolens*). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7: 111-117.
- Heidari M and Karami V, 2014. Effects of different mycorrhiza species on grain yield, nutrient uptake and oil content of sunflower under water stress. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 13: 9-13.
- Heidari M and Khalil S, 2014. Effect of humic acid and phosphorus fertilizer on seed and flower yield, photosynthetic pigments and mineral elements concentration in sour tea (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Iranian Journal of Field Crop Science*, 45: 191-199. (In Persian).
- Heidari M and Minaei A, 2014. Effects of drought stress and humic acid application on quantitative yield and content of macro-elements in medicinal plant borage (*Borago officinalis* L.). *Journal of Plant Production Research*, 21: 167-182. (In Persian).
- Hiltbrunner J, Streit B and Liedgens M, 2007. Are seeding densities an opportunity to increase grain yield of winter wheat in a living mulch of white clover. *Field Crops Research*, 102: 163-171.
- Jahan M, Koocheki A and Nasiri Mahallati M, 2007. The effects of arbuscular mycorrhizal fungus and free living nitrogen fixing bacteria on growth, photosynthesis and yield of corn. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 5: 53-67. (In Persian).
- Jahan M, Aryaee M, Amiri MB and Ehyae HR, 2013. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on quantitative characteristics of *Sesamum indicum* L. with application of cover crops of lathyrus sp. And Persian clover (*Trifolium resopinatum* L.). *Agroecology*, 1-15. (In Persian).
- Kapoor R, Giri B and Mukerji KG, 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in (*Foeniculum vulgare* mill.) on mycorrhizal inoculation supplemented with P- fertilizer. *Bioresource Technology*, 93: 307-311.
- Kapoor R, Chaudhary V, and Bhatnagar AK, 2007. Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. *Mycorrhiza*, 17: 581- 587.
- Karimi F, Bahmanyar MA and Shahabi M, 2012. Improving the content of oil, protein and some yield components of canola in two calcareous soil, Consequence the sulfur and cattle manure application. *Journal of Sustainable Agriculture and Production Science*, 22: 289-298. (In Persian).
- karr M, 2001. Oxidized lignites and extracts from oxidized lignites in agriculture. *Soil Science*, 1-23.
- Kertesz MA and Mirleau K, 2004. The role of soil microbes in plant sulfur nutrition. *Journal of Experimental Botany*, 55: 1-7.
- Kiani K, 2005. Benefits and harms of medicinal plants, fruits and vegetables. Zar Ghalam Press. (In Persian).
- Kızılkaya R, 2008. Yield response and nitrogen concentrations of springwheat (*Triticum aestivum*) inoculated with *Azotobacter chroococcum* strains. *Ecological Engineering*, 33:150-156.
- Koocheki A, Nakhforoosh A and Zarif Ketabi H, 1997. Organic Farming. Ferdowsi University of Mashhad Press. (In Persian).
- Ordone AAL, 2008. Antioxidant activities of sechium edule swartz extracts. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 97: 452-458.

- Marulanda A, Porcel R, Barea JM and Azcon R, 2007. Drought tolerance and antioxidant activities in laundrer plants colonized by native drought-tolerant of drought-sensitive *Glomus* species. *Microbial Ecology*, 54: 543-552.
- Mehrabani M, 2005. Sugar of *Echium amoenum*. Second Symposium of Medicinal Plants, Mey 25, Shahed University of Tehran. (In Persian).
- Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M and Vanbreusegem F, 2004. Reactive oxygen network of plants. *Trends Plant Science*, 9: 490-498.
- Mohammadipour E, Golchin A, Mohammadi J, Negahdar N and Zarchini M, 2012. Effect of humic acid on yield and quality of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Annals of Biological Research*, 3: 5095-5098.
- Muanda FN, Soulimani R, Diop B and Dicko A, 2011. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 44: 1865-1872.
- Naderi Hagy Bagher Candy M and Rezaee M, 2004. Primory phytochemical investigation of *Echium amoenum*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 20: 377-383. (In Persian).
- Natesan R, Kandasamy S, Thiyareshwari S and Boopathy PM, 2007. Influence of lignite humic acid on the micronutrient availability and yield of blackgram in an alfisol. *Scientific World Journal*, 7: 1198-1206.
- Olivera M, Iribarne C and Lluch C, 2002. Effect of phosphorus on nodulation and N₂ fixation by bean (*Phaseolus vulgaris*). *Proceedings of the 15th international Meeting on Microbial Phosphate Solubilization*. Salamanca University, 16-19 July, Salamanca, Spain.
- Rahimzadeh S, Sohrabi Y, Heidari GhR, Eivazi AR and Hoseini SMT, 2013. Effect of biofertilizers on macro and micro nutrients uptake and essential oil content in *Dracocephalum moldavica* L. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 11: 179-190. (In Persian).
- Rajendran K and Devaraj P, 2004. Biomass and nutrient distribution and their return of *Casuarina equisetifolia* inoculated with biofertilizers in farm land. *Biomass and Bioenergy*, 26: 235-249.
- Rezvani Moghaddam P, Amiri MB and Ehyae HR, 2015. Effect of simultaneous application of mycorrhiza with compost, vermicompost and sulfur geranole on some quantitative and qualitative characteristics of sesame (*Sesamum indicum* L.) in a low input cropping system. *Agroecology*, 7: 563-577. (In Persian).
- Rillig MC and Mummey DL, 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171: 41-53.
- Roesti D, Gaur R, Johri BN, Imfeld G, Sharma S, Kawaljeet K and Aragno M, 2006. Plant growth stage, fertilizer management and bio-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect the rhizobacterial community structure in rain-fed wheat fields. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 1111-1120.
- Sahin F, Cakmakci R and Kantar F, 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil*, 265: 123-129.
- Samavat S and Malakooti M, 2005. The necessity of using organic acids to increase the quality and quantity of agricultural products. *Technical Journal*, 463. Sana Press, Tehran. (In Persian).
- Samsam Shariat H, 2010. Propagation and cultivation of medicinal plants. Mani Press. (In Persian).
- 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* L. y *Matricaria recutita* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 10: 1.
- Sardans J, Roda F and Penuelas J, 2005. Effect of water and a nutrient pulse supply on *Rosemarinus officinalis* growth, nutrient content and flowering in the field. *Environmental and Experimental Botany*, 53: 1-11.

- Shabahang J, Khorramdel S and Ghes R, 2013. Evaluation of symbiosis with mycorrhizal on yield, yield components and essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and ajowan (*Carum copticum* L.) under different nitrogen levels. *Agroecology*, 5: 289-298. (In Persian).
- Shahhoseini R, Omidbaigi R and Kiani D, 2012. Effect of biological fertilizers of biosulfur, nitroxin and super absorbent polymer on growth, yield and essential oil content of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Horticulture Science*, 26: 246-254. (In Persian).
- Shimada K, Fujikawa K, Yahara K and Nakamura T, 1992. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 945-948.
- Shinde DB, Kadam RM and Jadhav AC, 2004. Effect of sulfur oxidizing micro-organism on growth of soybean. *Journal of Maharashtra Agriculture University*, 29: 305-307.
- Sokhan Sanj M, 2001. Products free of chemical residue. *Journal of Zeitoon*, 11: 6-9. (In Persian).
- Thomas Ph, 1984. *Canola Grower Manual*. Publication of Canada.
- Vance CP, Uhde-Stone C and Allan DL, 2003. Phosphorus acquisition and use: Critical adaptation by plants for securing a non-renewable resource. *New Physiology*, 157: 423-447.
- Zapata F and Roy RN, 2004. Use of phosphate rocks for sustainable agriculture. Publication of the FAO Land and Water Development Division, Pp: 117 - 122.
- Zhu CX, Song BF and Xu WH, 2010. Arbuscular mycorrhizae improves low temperature stress in maize via alterations in host water status and photosynthesis. *Plant and Soil*, 331: 129-137.