اثر قارچ میکوریزا، باکتری های محرک رشد و کود شیمیایی بر عملکرد و میزان اسانس بذر شوید (*Anethum graveolens* L.)

زینب چگنی[۱]، مریم ذوالفقاری[۲*]، فریده صدیقی دهکردی[۲]، محمد محمودی سورستانی[۲]

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۲۱

۱ – دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۲–استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
* مسئول مکاتبه: Email: M.zolfaghari@scu.ac.ir

چکیده

به منظور بررسی اثر قارچ میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد در مقایسه با کود شیمیایی، بر رشد، عملکرد ومیزان اسانس گیاه دارویی شوید، آزمایشی در سال ۹۵-۱۳۹٤ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ٥ تیمار و ٤ تکرار در مزرعه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل تلقیح دو گونه باکتری محرک رشد (*انتروباکتر کلوآسه* R13، *انتروباکتر کلوآسه* R33)، قارچ میکوریزا به صورت مخلوط سه گونه*Rhizophagus irregularis*، *Funneliformis mosseae* ، *Claroideoglomus etunicatum*، کودشیمیایی و شاهد (بدون کود) بود. شاخص‌هایی مانند صفات رویشی و عملکرد، نیتروزن و فسفر برگ، درصد همزیستی میکوریزا، درصد اسانس بذر شوید بررسی شد. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایش تاثیر مثبت و افزایشی داشتند. بیشترین وزن خشک بخش هوایی در تیمار کود شیمیایی (٤٠ گرم)، حاصل شد اما با تیمار قارچ میکوریزا و *انتروباکتر*R13 تفاوت معنی‌داری نداشت. بیشترین تعداد برگ (۱۲ عدد) و ارتفاع(۱٤٥ سانتی متر) در تیمار *انتروباکتر* R13 حاصل شد. در شاخص عملکرد تولید دانه تیمارهای کودی تاثیر مثبت و افزایشی داشتند. بیشترین میزان فسفر برگ در تیمار قارچ میکوریزا (۰/٤درصد) و کمترین در تیمار شاهد (۰/۱درصد) مشاهده شد. بیشترین میزان نیتروژن برگ در تیمار *انتروباکتر*R13 (۳درصد) و R33 مشاهده شد. همچنین تیمار *انتروباکتر* R13 بیشترین میزان اسانس (۱/٤۲درصد) را داشت. به طور کلی در بین تیمارها، باکتری *انتروباکترکلوآسه*R13 و پس از آن *انتروباکترکلوآسه* R33، بیشترین اثر را بر افزایش شاخص های مورد بررسی نشان دادند. با توجه به نتایج این پژوهش، استفاده از تیمارهای تلقیح باکتریایی جهت افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی شوید توصیه می‌گردد.

واژه های کلیدی: اسانس، *انتروباکتر کلوآسه*، شوید، میکوریزا، کود شیمیایی

The Effect of Mycorrhizal Fungi, PGPRs and Chemical Fertilizer on Yield and Essential Oil Content of Dill (*Anethum graveolens* L.) Seed

Zeinab Chegeni[1], Maryam Zolfaghari[2*], Farideh Sedighi Dehkordi[2], Mohammad Mahmoodi Sourestani[2]

Received: May 17, 2017 Accepted: October 13, 2018
1-Msc of Medicinal Plant, Dept. of Horticulture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2-Assist. Prof., Dept. of Horticulture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
*Corresponding Author, Email: M.zolfaghari@scu.ac.ir

Abstract

Anethum graveolens L. commonly known as Dill, is an annual medicinal plant. Dill seeds are widely used in food and pharmaceutical industries. In order to investigate the effect of AMF and two plant growth promoting rhizobactria native to Ahvaz soil, on growth and flowering of *Anethum graveolens* L., this experiment was done based on randomized complete block design with five treatment and four replications, during the 2015-2016 in the farm of agriculture college of Shahid Chamran University of Ahvaz. The PGPRs were *Entrobacter cloace* R13, *Entrobacter cloace* R33, the Mycorrhiza was mix of three species (*Glomuse mosseae, G. intraradices, G. etunicatum*) that compare with chemical fertilizers (NPK) and control (no fertilizer). The result of this experiment showed significant difference in treatment ($p \leq 0.01$). Mean comparison of treatment effects showed that *E. closea* R13 had significant effect on most of parameters. The most increase in flower number, capitol fresh weight, capitol diameter, leaf number, stem branches, had happened in this treatment, that it has no significant difference in most parameters with *E.closea* R33. Also the best result in leaf phosphorus and nitrogen content, leaf chlorophyll and carotenoids content, was obtained by PGPRs. Dill plant inoculated with *E. closea* R13 showed better growth and yield compare to control and chemical, but was not as weel as *E. closea* . The PGPRs in comparison with chemical fertilizers, had positive effects on Dill plant and increased the growth parameters and yield, and could be replace with chemical fertilizers.

Keywords: Chemical, Dill, *Entrobacter cloace*, Essential Oil, Mycorrhiza

مقدمه

گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens* L.) گیاهی یک ساله از خانواده جعفری یا چتریان (Apiaceae) است که دارای برگ‌های سبز روشن می باشد. میوه‌های شوید به صورت دانه‌های ریز، خشک و پهن به رنگ قهوه‌ای کم‌رنگ می‌باشد (حسینی و توکلی دینانی ۲۰۱۰). شوید از زمان‌های قدیم برای رفع مشکلات دستگاه گوارشی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اثر فارماکولوژیک این گیاه نیز گزارش شده که از جمله آن می‌توان به اثرات ضد میکروبی، ضد اسپاسمی ، ضد چربی و غیره اشاره نمود (بهرامی کیا و یزدان پرست۲۰۰۸). شوید در درمان سرماخوردگی، سرفه، مشکلات ادراری، نفخ و اسپاسم استفاده می‌شود (قاسمی ۲۰۰۳). مهم‌ترین ترکیبات اسانس حاصل از بذرهای

کاملاً رسیده عبارتند از : کاروون[1] (۶۰-۴۰ درصد) و لیمونن
(۲۸-۲۰ درصد). تمامی پیکر رویشی گیاه محتوی اسانس و مقدار آن در اندام های مختلف متفاوت است به طوری که در پیکر رویشی مقدار اسانس ۱/۶- ۰/۸ درصد می‌باشد. بذرهای کاملاً رسیده بیشترین مقدار اسانس را دارا می‌باشند که مقدار آن بین ۵-۲ درصد گزارش شده است.

از آنجا که رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کمیت و کیفیت ماده مؤثره می باشد، بنابراین به نظر می‌رسد که تغذیه‌ی سالم این گیاهان از طریق کاربرد کودهای زیستی دارای بیشترین تطابق با هدف تولید گیاهان دارویی می‌باشد(کاپور و همکاران ۲۰۰۱). اصطلاح کودهای زیستی منحصراً به مواد آلی حاصل از کودهای دامی، بقایای گیاهی، کود سبز و غیره اطلاق نمی‌گردد، بلکه ریزموجودات باکتریایی و قارچی به ویژه باکتری‌های محرک رشد و مواد حاصل از فعالیت آن‌ها در رابطه با تثبیت نیتروژن، فراهمی فسفر و سایر عناصر غذایی از جمله مهمترین کودهای زیستی محسوب می‌گردند (منافی و کلوپر ۱۹۹٤). یکی از روش‌های زیستی برای افزایش تولید محصولات کشاورزی، استفاده از ریزجانداران مفید خاکزی است؛ ازجمله این موجودات می‌توان به باکترهای محرک رشد گیاه (PGPR) اشاره کرد. این گروه از ریز موجودات علاوه برافزایش فراهمی عناصر معدنی خاک از راه‌هایی مثل تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، محلول کردن فسفر و پتاسیم، کنترل عوامل بیماری‌زا و تولید انواع هورمون‌های تنظیم‌کننده و محرک رشد گیاه عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (استراز و کریستی ۲۰۰۳).

در روابط خاک و گیاه برقراری رابطه همزیستی در تغذیه گیاه از اهمیتی خاص برخوردار است در این میان قارچ‌ها میکوریزا با بسیاری از گیاهان زراعی و باغی ارتباط همزیستی برقرار می‌کنند، این قارچ‌ها از متنوع ترین قارچ‌هایی هستند که در تمامی انواع خاک‌ها به رشد و نمو می‌پردازند (ایشیزاکا ۱۹۹۲). قارچ‌های میکوریزایی آربوسکولار (AM) قادرند با بسیاری از گیاهان رابطه همزیستی برقرار نمایند و در کاهش جذب فلزات سنگین، افزایش مقاومت گیاه به عوامل بیماریزای ریشه، افزایش تولیدات فیتوهورمونی، افزایش رشد ریشه‌های موئین، تشدید فعالیت تثبیت ازت و با تشدید میزان فتوسنتز باعث افزایش رشد و نمو گیاه میزبان گردند (وارکاپ ۱۹۷۱). وو و همکاران (۲۰۰۵) در تحقیقی نشان دادند که استفاده از کودهای زیستی باعث بهبود ساختار فیزیکی خاک و هم‌چنین محتوای ماده آلی و نیتروژن قابل دسترس برای گیاه همزیست می‌شود. قارچ‌های میکوریزا موجب افزایش توانایی گیاه میزبان در جذب فسفر و عناصر معدنی از خاک بخصوص از منابع غیر قابل دسترس آن‌ها می‌شود (کریستک و همکاران ۲۰۰۵). قارچ های میکوریزا قادر به تولید و آزادسازی هورمون های گیاهی از جمله سیتوکین‌ها می‌باشند که می‌توانند بر رشد گیاهان تأثیر بگذارند و این تأثیر مستقل از اثر این هم زیستی روی جذب عناصری مانند فسفر است (حاجی بلندی و همکاران ۱۳۸٤). در تحقیقات (مکی زاده تفتی و همکاران ۲۰۱۱) گزارش دادند که کاربرد کودهای زیستی و شیمیایی نیتروژن سبب افزایش معنی‌دار شاخص برداشت، عملکرد ومیزان اسانس شوید نسبت به شاهد شد. (ویسانی و همکاران ۲۰۱٦) در بررسی اثر قارچ میکوریزا بر عملکرد و اجزای عملکرد شوید نشان دادند که کاربرد قارچ میکوریزا باعث افزایش تعداد چتر در بوته، تعداد چترک در بوته، تعداد شاخه فرعی در بوته، عملکرد دانه شد. هدف مورد نظر در این تحقیق بررسی باکتری های محرک رشد درمقایسه با کود شیمیایی در کشت گیاه دارویی شوید است. از آنجایی که باکتری های آزادزی *انتروباکتر کلوآسه* قادر به تثبیت نیتروژن و حل کردن عناصر نامحلول خاک مانند فسفر و پتاسیم هستند،

1-Carvone

می توانند در تغذیه گیاه شوید بسیار موثر عمل کنند و در نتیجه با بهره‌گیری از این ویژگی ها در کشت با حداقل (یا بدون) کود شیمیایی گیاه دارویی با ارزش شوید از آنها بهره جست.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز در سال ۹۵-۱۳۹٤ به صورت طرح بلوکهای کامل تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار انجام گرفت. مشخصات خاک مزرعه در جدول ۱ آورده شده است. تیمارهای این آزمایش مایه زنی خاک با باکتریهای محرک رشد شامل: ۱) *Entrobacter cloace* R13 ؛ ۲) *E. cloace* R33 ؛ ۳) قارچ میکوریزا (AM) ؛ ٤) کودشیمیایی NPK (با نسبت ۸ گرم در مترمربع اوره، ۱۰ گرم در متر مربع اکسیدفسفر، ۸ گرم در متر مربع سولفات پتاسیم) و ٥) شاهد (بدون کود و باکتری) بودند. باکتری‌های مورد استفاده در این آزمایش از باکتری‌های محرک رشد بومی خاک‌های اهواز می‌باشند و از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه بیولوژی گروه خاکشناسی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شدند. مایه قارچ میکوریزا از موسسه تحقیقات آب و خاک کرج تهیه شد (مخلوط سه گونه*Rhizophagus irregularis*، *Funneli formis mosseae*، *Claroideoglomus etunicatum*)، که به صورت ریشه‌های آلوده گیاه میزبان میکوریزا به همراه اسپورهای آنها در محیط کشت ایزوله تهیه شده بودند، به میزان ۱ کیلوگرم در مترمربع استفاده شد که این میزان برای آلوده کردن ریشه گیاهان شوید در مزرعه کافی بود. کشت بذرهای شوید به طور مستقیم و در کرت‌هایی که جداگانه برای هر تیمار آماده شده بودند، به صورت خطی انجام گرفت. قارچ مایکوریزا و کود شیمیایی قبل از کشت بذر به خاک اضافه شد. همچنین برای اعمال تیمارهای باکتریایی، از سوسپانسیون حاصل از کشت شبانه هر کدام از باکتری‌ها به میزانی که جمعیت باکتری معادل $۱/٥\times۱۰^{٥}$ CFU/g soil باشد، بر روی بذرهایی که کاشته شدند، ریخته شد. کشت بذر در ردیف‌هایی به فاصله ۲۵ سانتی‌متر صورت گرفت (امید بیگی ۲۰۰۷).

برداشت گیاه شوید جهت اندازه گیری شاخص-های مورد نظر در دو مرحله صورت گرفت. اولین برداشت در پایان مرحله رویشی گیاهان بود(٤ ماه پش از کاشت)، که زمان مناسبی جهت اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی شامل ارتفاع بوته، ارتفاع تا ساقه گلدهنده، تعداد چتر، تعداد برگ، وزن تر و خشک بخش هوایی بوته بود. برداشت نهایی نیز زمانی صورت گرفت که حداقل ٥۰ درصد میوه ها (بذر شوید) رسیده بودند(٦ ماه پس از کاشت). این مرحله زمان مناسبی جهت اندازه‌گیری شاخص‌هایی مانند : تعداد چتر، وزن بذور چترهای یک بوته، وزن هزار دانه و عملکرد بذور می‌باشد. همچنین اسانس‌گیری از بذور (که همان میوه شوید است) در مرحله پایان رشد و خشک شدن کامل صورت گرفت. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ٥ درصد استفاده شد.

اندازه‌گیری پارامترهای رشد: برداشت گیاه شوید جهت اندازه گیری شاخص‌های مورد نظر در دو مرحله صورت گرفت. اولین برداشت در پایان مرحله رویشی گیاهان بود، که زمان مناسبی جهت اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی شامل ارتفاع بوته، ارتفاع تا ساقه گلدهنده، تعدادچتر، تعدادبرگ، وزن تر و خشک بخش هوایی بوته بود. برداشت نهایی نیز زمانی صورت گرفت که حداقل ٥۰ درصد میوه‌ها رسیده بودند. این مرحله زمان مناسبی جهت اندازه‌گیری شاخص‌هایی مانند : تعداد چتر، وزن بذور چترهای یک بوته، وزن هزار دانه و عملکرد بذور می‌باشد. همچنین اسانس‌گیری از بذور (که همان میوه شوید است) در مرحله پایان رشد و خشک شدن کامل صورت گرفت.

اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی

اندازه‌گیری کلروفیل و کارتنوئید برگ به روش لیختن تالر و ولبورن (۱۹۸۷) صورت گرفت. به این صورت که ابتدا مقدار ۰/۱ گرم از بافت برگ تازه را وزن کرده و در فالکون قرار داده سپس ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ ٪ به نمونه اضافه شد. سپس ظرف حاوی نمونه در تاریکی و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. عصاره به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در ٦۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس میزان جذب نمونه‌ها در طول موج‌های٦٦۳، ٦٤٦، ٤۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل S2100 (SUV ساخت آمریکا) قرائت و غلظت کلروفیل کل و کارتنوئید با استفاده از فرمول های زیر محاسبه گردید.

$[C_a= 12.25\ A_{663} - 2.79\ A_{647}]$
$[C_b= 21.50\ A_{647} – 5.10\ A_{663}]$
$[C_{(a+b)} = (1000\ A_{470} – 1.82\ C_a – 85.02\ C_b)/198]$
$[Chl_T=chla+chlb]$

اندازه‌گیری میزان فسفر و نیتروژن برگ

میزان نیتروژن و فسفر برگ‌های شوید، به ترتیب با روش کجلدال (مالاولتا و همکاران ۱۹۹۷) و رنگ سنجی در طول موج٤۱۰ نانومتر (چاپمن و پرات ۱۹٦۱) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش (عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر)

بافت خاک	اسیدیته (pH)	هدایت الکتریکی ($dS.m^{-1}$)	مواد آلی (٪)	نیتروژن کل (٪)	فسفر قابل جذب ($mg.kg^{-1}$)	پتاسیم قابل جذب ($mg.kg^{-1}$)
لوم شنی	۷/۱۱	۳	۰/۵	۰/۰۳	۱٦/٦	۲٦۷

نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که تیمارهای آزمایش تاثیر معنی‌داری بر شاخص‌هایی مانند وزن خشک اندام هوایی، تعداد برگ، ارتفاع بوته، عملکرد بذر، وزن هزار دانه، درصد فسفر برگ، درصد نیتروژن برگ و درصد اسانس گیاه دارویی شوید داشتند.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر شاخص های مود بررسی گیاه شوید

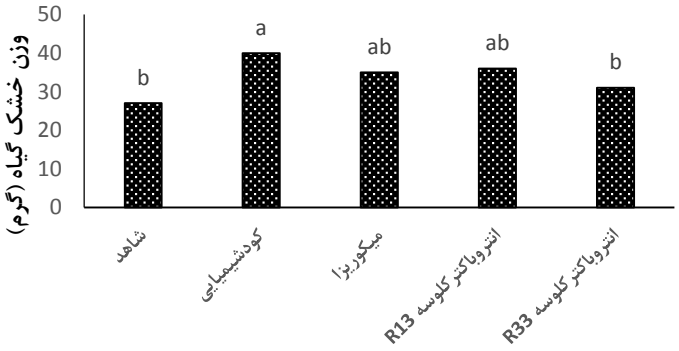
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک	تعداد برگ	ارتفاع بوته	وزن بذر تک بوته	وزن هزاردانه
بلوک	۳	۱٤/۸٤^{ns}	۰/۵۵۷۳^{ns}	۱۷/۰۲^{ns}	۱/۷۲۱^{ns}	۰/۰٤۳۷*
تیمار	٤	۱۰۵/۲۱*	۱/۵۰۳۰^{ns}	۲۷۱/۱٦**	۱۹/۱۸^{ns}	۰/۱۳۳۰*
خطای آزمایش	۱۲	۲۵/۱۹	۰/٦۳۲۳	۳۳/۰۰۱	۸/۱۷۸	۰/۰۵۷
ضریب تغییرات(٪)		۱۵/۲٦	٦/۹۸۷	٤/۱۷٦	۲٤/۵٦	۱۱/۲۰

**،*و ^{ns}به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۱٪، ۵٪ و عدم معنی داری می باشد.

وزن خشک اندام هوایی

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای کود شیمیایی، باکتری R13 و قارچ میکوریزا بر وزن خشک بخش هوایی گیاه دارویی شوید در سطح ۵٪ معنی‌دار است (جدول ۱). مقایسه میانگین نشان داد (شکل ۱) بیش‌ترین وزن خشک بخش هوایی بترتیب در تیمار کود شیمیایی، باکتری R13 و قارچ میکوریزا با میانگین‌های ٤۰/۰۹، ۳٤/۲٦ و ۳۳/۳۵ گرم گیاه می‌باشد.

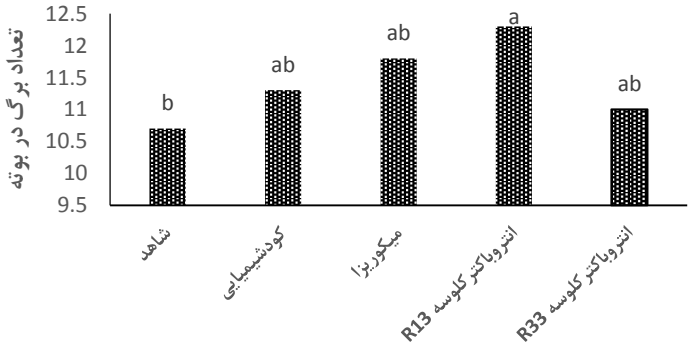
وزن خشک بخش هوایی در تیمار R33 و شاهد با میانگین ۳۰/۵۵ و ۲۶/۱۲ گرم، دارای کمترین وزن‌تر بوده و با سه تیمار قبلی تفاوت معنی‌داری داشت. نیتروژن یکی از مهم‌ترین عناصر غذایی است که نقش مهمی در رشد و نمو و تولید ماده خشک گیاه دارد. زمانی که نیتروژن کافی در اختیار گیاه باشد سرعت فتوسنتز افزایش می‌یابد و گیاه را قادر می‌سازد که سریع‌تر رشد نماید و زیست توده بیشتری تولید می‌کند که در افزایش بیوماس گیاه اثر گذار است(اشرف و همکاران ۲۰۰۵).



شکل ۱- وزن خشک گیاه شوید در تیمارهای کودی

تعداد برگ

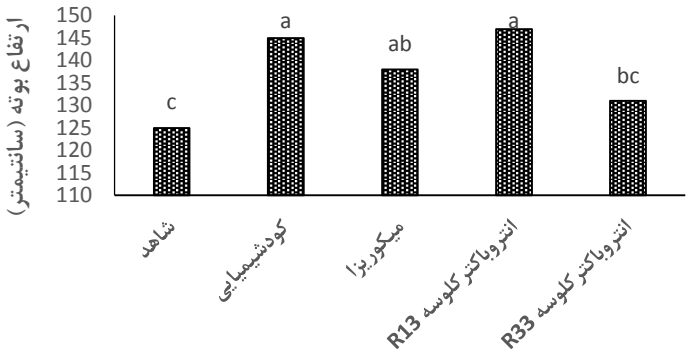
نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای آزمایش بر تعداد برگ گیاه شوید معنی‌دار نشده است (جدول۱). نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۲) بیش‌ترین تعداد برگ بترتیب در تیمارهای باکتری R13 ، قارچ میکوریزا و کود شیمیایی با میانگین‌های ۱۲/۲۰، ۱۱/۷۵ و ۱۱/۲ می‌باشد. تعداد برگ در تیمار R33 و شاهد با میانگین۱۱/۱۵ و ۱۰/٦دارای کمترین تعداد برگ بوده و با سه تیمار قبلی تفاوت معنی‌داری داشتند. مطالعات شرف‌الدین و همکاران (۲۰۰۸) افزایش تعداد برگ زعفران را در اثر کودهای زیستی نشان دادند. با نظر به اهمیت نقش عناصر نیتروژن و فسفر در ساختار رنگیزه‌های فتوسنتزی و انجام فرآیند فتوسنتز و اثر مثبت کاربرد کودهای زیستی بر تعداد برگ گیاه شوید می‌توان چنین استدلال کرد کاربرد کودهاتی زیستی توانسته است با تأمین کافی عناصر فوق، میزان کلروفیل و توان فتوسنتزی گیاه را بالا برده و از این طریق سبب افزایش ماده خشک و در نهایت افزایش صفات رویشی گیاه همچون ارتفاع، تعداد ساقه جانبی و تعداد برگ گردد.



شکل ۲- تعداد برگ گیاه شوید در تیمارهای کودی

ارتفاع بوته

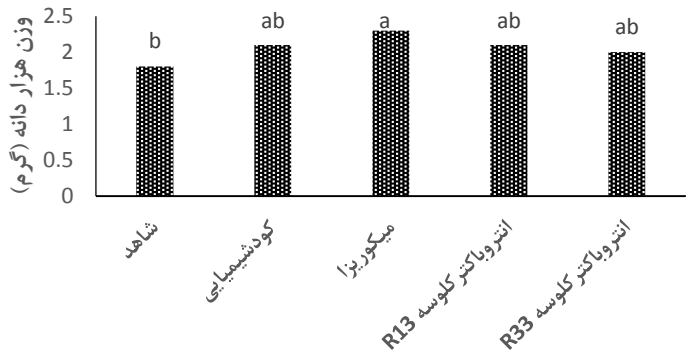
نتایج جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر تیمارهای آزمایش بر ارتفاع بوته شوید در سطح ۱٪ معنی دار شده است (جدول۱). نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۳) بیش‌ترین ارتفاع بوته بترتیب در تیمارهای R13 و کود شیمیایی با میانگین‌های ۱٤٥/٥، ۱٤٤/۷ سانتی‌مترمی‌باشد. ارتفاع بوته در تیمار شاهد با میانگین-۱۲٥/ سانتی متر دارای کمترین ارتفاع بوته بوده است. رضوانی مقدم و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهش خود مشاهده نمودند که مصرف کودهای بیولوژیک (نیتراژین، نیتروکسین و ورمی‌کمپوست) سبب افزایش ارتفاع بوته درگیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) شد. عنصر نیتروژن با شرکت در ساختار کلروفیل به عنوان مهم‌ترین رنگیزه فتوسنتزی و عنصر فسفر با حضور فعال و گسترده در ترکیب مولکول‌های حامل انرژی دارای نقش مهم و اساسی در فرآیند فتوسنتز می‌باشند (هاسگاوا و همکاران ۲۰۰۸). کمبود این دو عنصر در گیاه سبب آسیب‌هایی چون کاهش شدید فعالیت فتوسنتزی، کوتاه و نازک شدن ساقه، کاهش تعداد گل و برگ و ریزش آن‌ها و در نهایت مرگ گیاه می‌گردد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان چنین استدلال کرد باکتری‌ها با تثبیت بیولوژیک نیتروژن و میکوریزا با فراهم ساختن عنصر فسفر توانسته‌اند میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و نرخ فتوسنتز خالص گیاه را بالا برده و سبب بهبود رشد رویشی و افزایش ارتفاع آن گردند.



شکل ۳- ارتفاع گیاه شوید در تیمارهای کودی

وزن هزار دانه

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر تیمارهای آزمایش بر وزن هزار دانه شوید در سطح ٥٪ معنی‌دار بوده است (جدول۱). مقایسه میانگین‌ها (شکل ٤) نشان می‌دهد که بیش‌ترین وزن هزار دانه در تیمار قارچ میکوریزا با میانگین ۲/۳۳ گرم در هر بوته مشاهده شد. تیمارهای کود شیمیایی با ۲/۲۱ گرم، R13 با ۲/۱۹ گرم و R33 ۲/۰۲ گرم در سطح پایین‌تری از تیمار قارچ میکوریزا بدون اختلاف معنی‌داری از هم قرار می‌گیرند. کم‌ترین وزن هزار دانه در تیمار شاهد با میانگین ۱/۸۷ گرم مشاهده گردید. افزایش وزن هزار دانه در اثر تلقیح قارچ ممکن است در اثر افزایش فتوسنتز و انتقال شیره پرورده بیشتر به دانه در مرحله پر شدن دانه در اثر بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط قارچ باشد، یافته‌های دیگر محققین در گیاهانی مانند سویا نشان داد که قارچ میکوریزا سبب افزایش عملکرد و وزن هزار دانه آن شد (پروسل و همکاران ۲۰۰٤).



شکل ۴- وزن هزار دانه شوید در تیمارهای کودی

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر شاخص های مود بررسی گیاه دارویی شوید

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a+b	کارتنوئید	نیتروژن برگ	فسفر برگ	اسانس
بلوک	۳	۰/۰۹^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۰/۱۲^{ns}	۰/۰۰٤^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}
تیمار	٤	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۰۳^{ns}	۰/۷۲**	۰/۰۳*	۰/۰٤*
خطای آزمایشی	۱۲	۰/۱۲	۰/۰۱	۰/۱۱٥	۰/۰۱	۰/۰۰۷
ضریب تغییرات(٪)		۱۸/۳۹	۲۰/۰٤	۱۲/۸۹	٤۰/۳۲	۷/۰۲

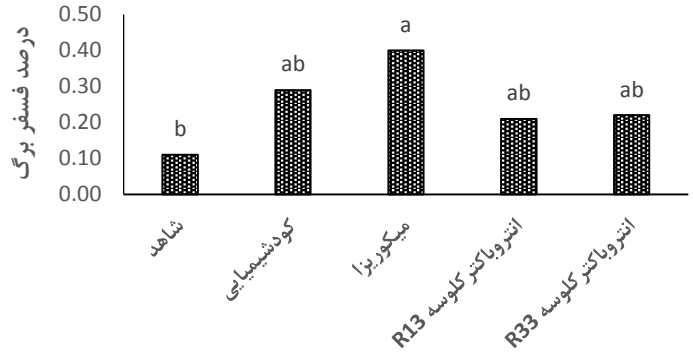
**،*و ^{ns}به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۱٪،٥٪و عدم معنی داری می باشد.

میزان کلروفیل و کارتنوئید برگ

نتایج تجزیه واریانس تفاوت معنی داری در میزان کلروفیل و کارتنوئید برگ‌های شوید نشان نداد (جدول ۳).

درصد فسفر برگ

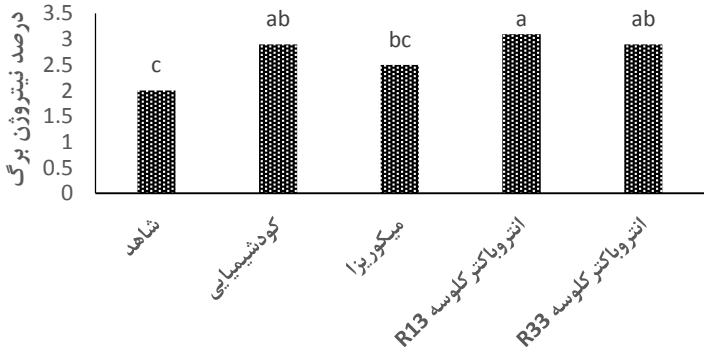
نتایج جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر تیمارهای آزمایش بر درصد فسفر شوید در سطح ٥٪ معنی‌دار بوده است (جدول۲). بر اساس مقایسه میانگین-ها (شکل٥) نشان می‌دهد که بیش‌ترین درصد فسفر گیاه در تیمارقارچ میکوریزا با میانگین۰/٤٪ مشاهده شد. بین تیمارهای *انتروباکترکلوآسه* R13 ، *انتروباکترکلوآسه* R33و کود شیمیایی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کم‌ترین درصد فسفر گیاه برای تیمار شاهد با میانگین۰/۱۲٪ مشاهده شد. گزارش شده است که قارچ میکوریزا از طریق نفوذ در حفرات بسیار ریز خاک که برای ریشه‌های مویین قابل دسترس نیست و نیز افزایش سطح جذب مواد غذایی، باعث افزایش توان سیستم ریشه‌ای گیاه جهت بهره برداری از حجم بیشتری از خاک شده و میزان جذب عناصر غذایی کم مصرف و پرمصرف به خصوص فسفر را بهبود می‌بخشد و از این طریق بر وضعیت رشدی گیاه اثرات مثبتی بر جا می-گذارد (قضی و همکاران ۲۰۰۷). عنصر فسفر در واکنش های حیاتی سلوا نقش اساسی دارد، همچنین با افزایش تشکیل جوانه گل در گیاه سبب تغییر رشد رویشی گیاه به سمت رشد زایشی می گردد (داودی ۱۳۸٥). که این امر در گیاه همیشه بهار که گل محصول اصلی بسیار با اهمیت است.



شکل ۵- درصد فسفر برگ شوید در تیمارهای کودی

درصد نیتروژن برگ

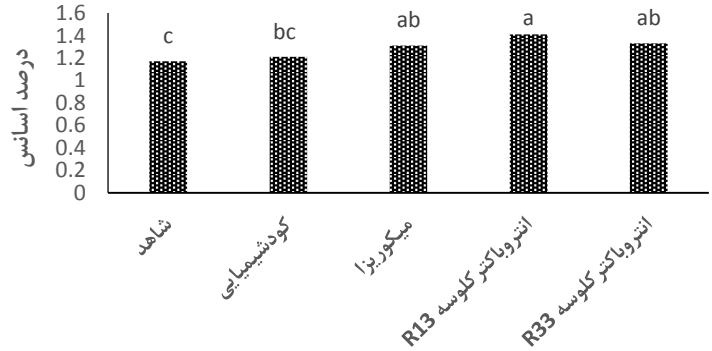
براساس نتایج جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر درصد نیتروژن برگ شوید در سطح ۱٪ معنی‌دار بوده است (جدول۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ٦) نشان می‌دهد که بیش‌ترین درصد نیتروژن برگ گیاه در تیمار انتروباکترکلوآسهR13 با میانگین ۳/۱۹ ٪ مشاهده گردید. بین تیمارهای کود شیمیایی با ۲/۸۱ ٪ و انتروباکترکلوآسه R33 با ۲/٦٦ ٪ اختلاف معنی داری وجود نداشت. کم‌ترین درصد نیتروژن برگ در تیمار شاهد با میانگین۲/۰٦ ٪ مشاهده شد. در پژوهش بخشنده و همکاران (۲۰۱٤) تاثیر کودهای زیستی حاوی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن (*ازتوباکتر* و *آزسپیریلوم*) در گیاه ریحان بررسی شد که نتایج نشان از افزایش معنی دار میزان جذب عنصر نیتروژن در مقایسه با شاهد بود. در پژوهشی دیگر در بررسی اثر کودهای زیستی بر جذب عناصر فسفر و نیتروژن در گیاه دارویی همیشه بهار ، نتایج حاکی از افزایش ۵۰ درصدی میزان عناصر نیتروژن و فسفر گیاه بود (حسین زاده و همکاران، ۲۰۱۱). باکتری های تثبیت کننده نیتروژن مانند آزوسپیریلوم که کاربرد بیشتری دارند و همچنین انتروباکتر، علاوه بر قابلیت تثبیت نیتروژن، با تولید مواد محرک رشد، سبب بهبود رشد ریشه و متعاقب آن افزایش سرعت جذب آب و عناصر گیاهی گردیده و از این طریق افزایش عملکرد تاثیرگذار می‌باشد (تیلاک و همکاران ۲۰۰۵).



شکل ۶- درصد نیتروژن برگ شوید در تیمارهای کودی

درصد اسانس

براساس نتایج جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر درصد اسانس گیاه شوید در سطح ۵٪ معنی دار بوده است (جدول۲). بر اساس نتایج مقایسه میانگین-ها (شکل۷) بیشترین درصد اسانس در تیمار R13 با میانگین ۱/۳۷ ٪ گزارش شد. تیمارهای قارچ میکوریزا با ۱/۳۳ ٪ و R33 با ۱/۳۱ ٪ در یک گروه آماری و کود شیمیایی با ۱/۲۱ ٪ در گروه آماری بعد قرار گرفتند. کم‌ترین درصد اسانس گیاه برای تیمار شاهد با میانگین ۱/۱۲ ٪ مشاهده شد. فاطما و همکاران (۲۰۰۶) به دنبال کاربرد کودهای بیولوژیک باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفات روی گیاه مرزنجوش (*Majorana hortensis* L.) ، افزایش در شاخص‌های رشدی و میزان اسانس این گیاه را گزارش دادند. در پژوهشی دیگر کاربرد گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا سبب افزایش میزان اسانس گیاه دارویی ریحان شد (ذوالفقاری و همکاران ۱۳۹۳). هدف از کشت و پرورش گیاهان دارویی افزایش کمّیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه در آن‌هاست. گرچه میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی تحت کنترل ژن‌هاست اما مقدار، غلظت و تجمع آن‌ها به‌طور قابل توجهی تحت تاثیر شرایط محیطی و ادافیکی است. یکی از عوامل تاثیر گذار بر کمّیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه، تأمین کافی عناصر غذایی می‌باشد و حاصلخیزی خاک و تغذیه صحیح گیاه نقش عمده‌ای در ارتقاء کمّی و کیفی این ترکیبات دارد. ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس، ترکیباتی سنگین و پیچیده‌اند و ساخت آن‌ها مستلزم صرف انرژی و مولکول‌های ATP و NADPH می‌باشد. با توجه به نقش عنصر فسفر در ساختار واحدهای سازنده ترکیبات اسانس و مولکول‌های حامل انرژی ATP و NADPH، تأمین کافی و متعادل این عنصر جهت تشکیل اسانس در این گیاهان، ضروری می‌باشد (لومیس و کورتیو۱۹۷۲). با توجه به این که درصد اسانس در گیاهان دارویی، حاصل‌ضرب میزان اسانس در عملکرد پیکره رویشی گیاه است، نقش عناصر پرمصرفی همچون نیتروژن و فسفر در افزایش آن مهم و اساسی است.



شکل ۷- درصد اسانس شوید در تیمارهای کودی

نتیجه گیری

به طورکلی نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که کودهای زیستی می توانند در کشاورزی پایدار به عنوان جایگزینی مهم برای کودهای شیمیایی در تولید گیاه دارویی شوید مطرح باشند..استفاده از کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی ضمن کاهش هزینه های تولید ناشی از مصرف این قبیل کودها، از آسیب وارد کردن به محیط زیست و اکوسیستم‌های زراعی به ویژه در اثر کاربرد نیتروژن به شکل نیترات، جلوگیری می نماید.

باکتری‌های محرک رشد علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا و متعادل کردن جذب عناصر اصلی پر مصرف و

کم مصرف مورد نیاز گیاه با سنتز و ترشح مواد محرک رشد گیاه و هم چنین ترشح اسید های آمینه مختلف و انواع آنتی بیوتیک موجب رشد و توسعه ریشه و اندام هوایی گیاه شده که این مساله سبب تولید اسیمیلات بیشتر و انتقال آن ها به دانه و افزایش وزن هزار دانه می‌شود با افزایش میزان اسانس در اثر مصرف تیمارهای مختلف کودی می توان گفت از آن جا که اسانس‌ها ترکیبات ترپنوئیدی بوده و بیوسنتز واحد های سازنده آن‌ها (ایزوپرنوئیدها) نیازمند ATP و NADPH هستند و با توجه به این مطلب که حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیبات اخیر ضروری می باشد لذا مصرف کودهای زیستی و شیمیایی نیتروژنی موجب افزایش اسانس گیاه شوید می‌شود (کاپور و همکاران ۲۰۰۲).

منابع مورد استفاده

Abdou MAH, El-Sayed AA, Badran FS and El- Deen RMS. 2004. Effect of planting density and chemical and biofertilization on vegetative growth, yield and chemical composition of fennel (*Foeniculum vulgare* Miller): I- Effect of planting density and some chemical (Nofatrein) and biochemical (Biogen) fertilizers. Annals of Agricultural Science, 42(4): 1907-1922.

Ashraf M, Ali Q, Raha ES. 2005. The effect of applied nitrogen on the growth and nutrient concentration of Kalonji (*Nigella sativa*). Australian Journal of Experimental Agriculture. 45(4): 459-463.

Bahramikia S and Yazdanparast R. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activities of different fractions of *Anethum graveolens* leaves using in vitro models. Pharmacology online, 2, pp.233-219.

Chapman HD and Pratt PF. 1961. Methods of analysis for soils, plants and waters. University of California. Division of Agricultural Sciences.

Fatma EM, El-Zamik I, Tomader T, El-Hadidy HI, Abd El-Fattah L and Seham Salem H, 2006. Efficiency of biofertilizers, organic and in organic amendments application on growth and essential oil of marjoram *(Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous .Agriculture Microbiology Deptartment Faculty of Agriculture. Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Dept., Desert Research Center, Cairo, Egypt.

Ghasemi M. 2002. Healing properties of fruits and vegetables. Tihoo publication. 104 p. (In Persian).

Ghazi A, Nehad A and Yahia-Othman. 2007. Application of mycorrhizae fungi to improve drought tolerance in two onion cultivars. African Crop Science Society, 8: 1-5.

Gupta MLA, Prasad MR and Kumar S. 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus Glomus fasiculatum 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.

Hajibolandi R, Barzegar R and Asgharzadeh NA. 2005. Studying the effect of mycorrhiza on root morphology and rhizosphere's pH in rice with rizobox system. The Proceeding of 9th Iranian Soil Science Congress, Tehran, 28-31 August. (In Persian).

Hosseini N and Tavakolli Dinani A. 2009. Assess the efficiency of inputs in the culture of Dill (*Anethum graveolens* L.) medicinal plant in Roodehen region. Journal of Herbal Drugs, 57-62. (In Persian).

Ishizuka J. 1992. Trends in biological nitrogen fixation research and application. Plant and Soil, 141:197-209.

Kapoor R, Giri B and Mukerji KJ. 2002. Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum*) to enhance the concentration and quality of essential oil. Journal of the Science of Food and Agriculture, 82 (4): 339-342.

Kristek S, Kristek A and Pavlovic H. 2005. The influence of mycorrhizal fungi (*Glomus* sp.) on field pea plant survival and growth in drought caused stress conditions. Plant soil and environment, 51(9):385.

Lichtenthaler HK and Wellburn AR. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11: 591 – 592.

Malavolta E, Vitti GC, Oliveira SA. 1997. Avaliacão do estado nutricional das planta: princípios e aplicacões, 2 ed. Potafos, Piracicaba, p. 319.

Makkizadeh M, Chaichi M, Nasrollahzadeh S, Khavazi K. 2011. The Effect of Biologic and Chemical Nitrogen Fertilizers on Growth, Yield and Essential Oil Constituents of Dill (*Anethum graveolens* L.). Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 21(4): 91-100.(In Persian).

Manaffee WF and Kloepper JW. 1994. Applications of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture: 23-31. In: Pankhurst, C. E., Double, B. M., Gupta, V. V. S. R. and Grace, P. R. (Eds.). Soil biota management insustainable farming systems. CSiRO, Australia, 262p.

Omidbaigi R..2001. Production and processing of medicinal plants. 3rd ed. Mashhad: Astan Quds Razavi Pub. (In Persian).

Porcel R, Ruiz-lozano JM, 2004. Arbuscular mycorrhiza influence on leaf water potential, soluteaccumulation,and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. Journal of experimental botany 55, 1743-1750.

Qazi MA, Akram M, Ahmad N, Artiola J and Tuller M. 2009.Economical and environmental implications of solid waste compost applications to agricultural fields in Punjab, Pakistan. Waste Management, 29(9): 2437-2445.

Rezvani Moghaddam P and Moradi R. 2012. Assessment of planting date, biological fertilizer and intercropping on yield and essential oil of cumin and fenugreek. Iranian Journal of Field Crop Sciences 2: 217-230. (In Persian).

Sharaf-Eldin MA, Elkholy S, Fernández JA, Junge H, Cheetham RD, Guardiola JL. and Weathers PJ. 2008. The effect of Bacillus subtilis FZB24 on flowers quantity and quality of saffron (*Crocus sativus* L.). Planta Medica, 74 (10): 1316-1320.

Sturz AV and Christie BR. 2003. Beneficial microbial allelopathies in the root zone: management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. Soil and Tillage Research, 72:107-123.

Tilak K, Ranganayaki KK, Pal R, De A, Saxena C, Shekhar N, Shilpi A, Tripathi JK and Johri B. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. Current Science. 89: 136-150.

Warcup JH. 1971. Specificity of mycorrhizal association in some Australian terrestrial orchids. New Phytologist, 70:41-46.

Weisany W, Raei Y, Zehtab Salmasi S, Sohrabi Y. 2016. Effect of Arbuscular Mycorrhiza Fungi on Yield and Yield Components of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and Dill (*Anethum graveolens* L.) in Mono and Intercropping System. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 26(3): 1-19. (In Persian).

Wu SC, Cao ZH, Li ZG, Cheung KC and Wong MH. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma, 125(1), pp.155-166.

Zolfaghari M, Nazeri V, Sefidkon F and Rejali F. 2012. The effect of different species of AMF on growth parameter and essential oil content of *Ocimum basilicam*. Plant Production. 34 (4). 47-56. (In Persian).