

پاسخ عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی سنبل الطیب (*Valeriana officinalis* L.) به کاربرد کودهای زیستی و شیمیایی فسفره

حسنعلی نقدی بادی¹، محمد لطفی زاد²، نسرین قوامی³، علی مهرآفرین^{4*}، کاظم خاوازی⁵

- 1- دانشیار پژوهش، گروه پژوهشی کشت و توسعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
 - 2- دانش آموخته کارشناسی ارشد خاک شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران
 - 3- دانشجوی دکتری تخصصی باغبانی، عضو گروه پژوهشی کشت و توسعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
 - 4- عضو هیأت علمی گروه پژوهشی کشت و توسعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
 - 5- عضو هیأت علمی گروه بیولوژی، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، تهران
- *آدرس مکاتبه: کرج، گروه پژوهشی کشت و توسعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، صندوق پستی: 1369-31375، تلفن: 19-34764010 (026)، نمابر: 34764021 (026)
پست الکترونیک: A.Mehrafarin@gmail.com

تاریخ تصویب: 91/12/23

تاریخ دریافت: 90/7/10

چکیده

مقدمه: از آنجایی که فسفر از عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان است لذا بررسی تأثیر کودهای فسفره بر عملکرد کمی و کیفی سنبل الطیب ضروری است.

هدف: بررسی تأثیر کاربرد باکتری های حل کننده فسفات به عنوان کودهای زیستی و کود شیمیایی فسفات بر عملکرد کمی و کیفی گیاه سنبل الطیب.

روش بررسی: این بررسی در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در 3 تکرار به اجرا درآمد. فاکتورهای آزمایش شامل عامل کود زیستی در چهار سطح شامل ازتوباکتر، پسودوموناس، تلفیق دو باکتری و عدم تلقیح و عامل کود شیمیایی فسفات به فرم سوپر فسفات تریپل در سه سطح شامل 0، 50 و 100 کیلوگرم در هکتار بود.

نتایج: کودهای زیستی بر عملکرد کیفی و همچنین اغلب پارامترهای مورد بررسی در ارتباط با عملکرد کمی تأثیر معنی داری ($p \leq 0/01$) داشتند. اگرچه مصرف کود زیستی بر مقدار اسید والرینیک تأثیر منفی داشته است، ولی به سبب افزایش عملکرد ماده خشک، به طور معنی داری باعث افزایش عملکرد ماده مؤثره در واحد سطح شده است. کود شیمیایی فسفات بر درصد اسید والرینیک ($p \leq 0/01$)، عملکرد اسید والرینیک ($p \leq 0/05$) و نیز عملکرد وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه ($p \leq 0/01$) تأثیر معنی داری داشت. همچنین نتایج نشان داد که بیشترین مقدار وزن خشک ریشه در تیمار کاربرد توام کود ازتوباکتر و کود شیمیایی فسفات (100 کیلوگرم در هکتار) به دست آمده است.

نتیجه گیری: کود زیستی ازتوباکتر تأثیر مثبت و معنی داری بر عملکرد اسید والرینیک در واحد سطح داشته و نیز بیشترین عملکرد ماده مؤثره در این تیمار مشاهده شده است.

گل واژگان: سنبل الطیب، فسفر، سوپر فسفات تریپل، کود زیستی، عملکرد کمی و کیفی

مقدمه

سنبل الطیب با نام علمی *Valeriana officinalis* L. گیاهی علفی متعلق به خانواده Valerianaceae است که در نواحی معتدل قاره آسیا، اروپا و آمریکا رویش دارد و قسمت مورد استفاده آن ریزوم و ریشه‌های افشان آن است [1]. مهم‌ترین ماده مؤثره سنبل الطیب، اسید والرینیک می‌باشد که از ریشه و ریزوم گیاه استحصال می‌شود. وزن تر ریشه یک بوته سنبل الطیب به طور میانگین 29 گرم و وزن خشک آن 9 گرم می‌باشد. وزن تر بوته کامل به طور میانگین 97 گرم و وزن خشک آن 36 گرم است [2]. سه گروه ترکیبات شیمیایی شامل: مونوسسکویی‌ترین‌ها، ایریدوئید تری‌استرها و آلکالوئیدهای پیریدین در این گیاه وجود دارد [۱،۳]. امروزه اثرات آرام بخشی سنبل الطیب را به روغن‌های فرار آن شامل والرنال و اسید والرینیک نسبت می‌دهند [4]. این گیاه در طب سنتی برای رفع خستگی، اثرات آرام‌بخش و همچنین درمان تشنج، دردهای عصبی و گرفتگی عضلانی استفاده شده است [۱،۳،۵،۶]. در مطالعات بالینی بر روی انسان عصاره آبی سنبل الطیب، کیفیت خواب را بهبود بخشیده و زمان شروع خواب را کاهش می‌دهد. عصاره این گیاه دارای اثر ضد اضطراب ملایم نیز می‌باشد. در فارماکوپه بسیاری از کشورها مانند آلمان، ریشه سنبل الطیب (والریان) برای درمان بی‌قراری و اختلالات خواب پذیرفته شده است [۱،۳،۷،۸]. همچنین مصرف این گیاه در ناراحتی‌های عصبی ناشی از وجود کرم روده، موجب دفع کرم و رفع ناراحتی‌های مربوط به آن در بدن نیز می‌شود [2]. این گیاه دارویی در قرن نوزدهم در اروپا برای درمان هیستری و هیپوکندریاز به کار می‌رفت. در طب سنتی چینی نیز به عنوان داروی ضد صرع به کار می‌رود. امروزه در اروپا، این دارو به عنوان یک آرام‌بخش مهم معروف است [۲،۸،۹].

مدیریت صحیح حاصلخیزی خاک، بهبود و حفظ باروری خاک در سیستم‌های زراعی نوین سبب تأمین مواد غذایی مورد نیاز گیاه و در نتیجه افزایش عملکرد می‌شود که اهمیت ویژه‌ای

در تأمین نیاز مواد غذایی جمعیت رو به رشد دارد. برای این منظور در سال‌های اخیر مطالعات زیادی در راستای استفاده از کودهای زیستی انجام شده است [10]. کودهای زیستی شامل ریزجانداران و متابولیت آنها می‌باشد که قادر به بالابردن حاصلخیزی خاک، افزایش رشد گیاه و عملکرد محصول هستند. همچنین این ریزجانداران قادر به آماده‌سازی عناصر مغذی از حالت غیرقابل جذب به حالت قابل جذب در طی فرآیند زیستی می‌باشند [16 - 11]. به عبارت دیگر، کودهای زیستی نه تنها عملکرد محصول را بالا می‌برند بلکه منجر به افزایش بازده کودهای شیمیایی نیز می‌شوند. ازتوباکتر جزو باکتری‌های محرک رشد گیاه است که در تثبیت بیولوژیکی نیتروژن اهمیت دارد. این باکتری توانایی ساخت و ترشح مواد بیولوژیکی فعال مانند ویتامین‌های B، اسید نیکوتینیک، بیوتین، اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و غیره را در محیط ریشه گیاه دارد که باعث افزایش رشد ریشه می‌شوند. همچنین ازتوباکتر قادر به تولید ترکیبات ضد قارچی بر علیه بیماری‌های گیاهی بوده و سبب تقویت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه شده که در نهایت بهبود رشد پایه گیاه را به دنبال دارد. تأثیر گونه‌های مختلف باکتری ازتوباکتر به ویژه *A. chroococcum* بر رشد و نمو گیاهان به خوبی شناخته شده است [۱۷،۱۸]. در ارتباط با تأثیر کودهای زیستی بر گیاهان دارویی، دهقانی [19] طی تحقیقی اعلام داشت که تیمار کودهای زیستی (شامل ازتوباکتر، ازوسپیریلیوم و باسیلوس) نسبت به تیمارهای کود شیمیایی کامل و شاهد به طور معنی‌داری سبب افزایش ارتفاع بوته، اندازه (قطر) کاپیتول‌ها و تعداد کاپیتول در بوته بابونه شده‌اند. نتایج تحقیق یوسف و همکاران [20] نشان داد که استفاده از کودهای بیولوژیک حاوی آزوسپیریلیوم و ازتوباکتر در گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) سبب افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه شد.

باکتری سودوموناس یکی از مهم‌ترین جنس‌های خانواده باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌باشد. گونه‌های مختلف جنس سودوموناس در کنترل قارچ‌های بیماری‌زا مؤثر بوده و

فسفر و کاهش مصرف کودهای شیمیایی بر روی محصولاتی همچون گندم، سیب زمینی، چغندر قند، نیشکر، ذرت و کاهو شده و همچنین اثرات مفید این گروه از باکتری‌ها به خوبی آشکار شده است [10]. رسی‌پور و علی اصغر زاده [26] در یک آزمایش گلخانه‌ای نشان دادند که تلقیح سویا با باکتری‌های حل کننده فسفات موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی، غلظت عناصر پتاسیم، فسفر و نیتروژن در اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و تعداد گره‌های روی ریشه شد.

با توجه به اهمیت گیاه سنبل‌الطیب و تأثیرات مثبت باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد در تولید گیاهان، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر کاربرد برخی از این باکتری‌ها در سطوح مختلف کود شیمیایی فسفاته بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی سنبل‌الطیب به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق با هدف بررسی تأثیر کاربرد کودهای زیستی بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی سنبل‌الطیب در سطوح مختلف کود شیمیایی فسفاته (سوپر فسفات تریپل) به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در 3 تکرار در مزرعه تحقیقاتی گروه پژوهشی کشت و توسعه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی واقع در هلجرد کرج - 16 کیلومتر اتوبان کرج - قزوین در سال 89 - 1388 اجرا شد (جدول شماره‌های 1 و 2). فاکتورهای آزمایش شامل عامل تلقیح کود زیستی در چهار سطح: ازتوباکتر، سودوموناس، مخلوط دو باکتری ازتوباکتر و سودوموناس و عدم تلقیح (شاهد) و همچنین عامل کود شیمیایی به صورت سوپر فسفات تریپل در سه سطح: ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار بود.

جدول شماره 1- مشخصات مزرعه تحقیقاتی آزمایش

شوری (ds m^{-1})	اسیدیته (pH)	میانگین سالیانه بارندگی (میلی‌متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	میانگین سالیانه دما (درجه سانتی‌گراد)
1/2	8/1	263	50°، 53'	35°، 54'	1461	13/21

Pseudomonas fluorescens از طریق ساز و کارهای مختلفی از جمله تولید سیدروفورها، سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن در گیاه را تنظیم می‌کنند، سبب تحریک رشد گیاه می‌شود [21، 22]. شالان (Shaalan) [23] نتیجه گرفت که افزایش حاصلخیزی خاک به وسیله کودهای بیولوژیک نظیر ازتوباکتر، آزوسپریلوم و سودوموناس باعث افزایش و بهبود خصوصیات رشدی گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) شده است. باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه از طریق غیرمستقیم نیز می‌توانند بر رشد گیاه مؤثر باشند. این مکانیزم‌ها عبارت از، تولید آنتی‌بیوتیک، رقابت با گونه‌های مضر برای اشغال ریشه و رقابت بر سر غذا و تولید آنزیم‌های لیزکننده دیواره سلولی قارچ‌ها و ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاه میزبان می‌باشند [16 - 12].

فسفر از نظر اهمیت بعد از نیتروژن دومین ماده مغذی معدنی است که کمبودش محدود کننده رشد گیاه است و یکی از مهم‌ترین عناصر در تولید محصول می‌باشد. حدود 0/2 درصد از وزن خشک گیاهان توسط فسفر تأمین می‌شود. برای تأمین نیاز گیاهان به فسفر از کودهای شیمیایی فسفاته استفاده می‌شود [24]. تحقیقات نشان می‌دهد که افزایش مصرف کودهای شیمیایی فسفره طی سال‌های اخیر نه تنها عملکرد محصولات زراعی را چندان افزایش نداده است، بلکه در نتیجه برهم زدن تعادل عناصر غذایی، کاهش محصول را نیز به دنبال داشته است [25]. مطالعه روی گیاه سورگوم نشان داد که تلقیح بذور با باکتری‌های محلول‌کننده فسفات سبب افزایش جذب فسفر، انتقال فسفات فعال از غشاء پلاسمایی ریشه و در نهایت بهبود تغذیه عنصر فسفر در این گیاه شد. مطالعه دیگری نشان داد که استفاده از این باکتری‌ها سبب بهبود جذب عنصر

جدول شماره 2- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی (از عمق 30 - 0 سانتی متری) خاک مزرعه تحقیقاتی

OM (%)	N (%)	P mg ml ⁻¹	K mg ml ⁻¹	CaCO ₃ mg ml ⁻¹	Sp (%)	Clay (%)	Texture Silt (%)	Sand (%)
0/82	0/75	11/9	125	4/91	31/62	27/2	27/3	45/5

اندازه‌گیری شد. برای این منظور ابتدا 5 گرم پودر گیاه سنبل‌الطیب داخل بالن ژوژه 100 میلی‌لیتری ریخته شد و به آن 100 میلی‌لیتر الکل 70 درصد افزوده شد. جهت حل شدن کامل پودر گیاه و تهیه محلول یکنواخت، مخلوط به دست آمده به وسیله دستگاه شیکر به مدت 2 هکتار در درجه حرارت اتاق هم‌زده شد. محلول به دست آمده داخل دستگاه سانتریفوژ قرار گرفته پس از سانتریفوژ، محلول شفاف بالایی به وسیله فیلتر سر سرنگ 0/45 میکرونی صاف و به دستگاه HPLC تزریق شد [5]. دستگاه HPLC مورد استفاده نوع KNAUER که دارای K Pump 1001 و C₁₈ ستون 2501 می‌باشد. از دیگر مشخصات ستون دستگاه می‌توان به ابعاد ستون (25 سانتی متر × 4/6 میلی‌متر) اشاره کرد. برای اندازه‌گیری ماده مؤثره، سرعت فلو 105 میلی‌لیتر بر دقیقه و طول موج 225 نانومتر مورد استفاده قرار گرفت.

برای سهولت در نامگذاری تیمارهای هر عامل و اثر متقابل آنها از حروف اختصاری معادل استفاده شد. به طوری که حروف C، A، S و M به ترتیب برای تیمارهای کود زیستی شامل عدم تلقیح باکتری (شاهد)، تلقیح با ازتوباکتر، تلقیح با سودوموناس و تلقیح با تلفیق دو باکتری ازتوباکتر و سودوموناس بوده و همچنین حروف P₀، P₅₀ و P₁₀₀ به ترتیب برای تیمارهای کود شیمیایی (سوپرفسفات تریپل) شامل عدم مصرف کود، مصرف 50 و 100 کیلوگرم در هکتار سوپرفسفات تریپل می‌باشد. اثر متقابل تیمارها نیز بر اساس تلفیق این حروف در کنار هم نام‌گذاری شدند.

مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 5 درصد و آنالیز داده‌های این مطالعه توسط نرم‌افزار آماری SPSS (Ver. 17) انجام شد.

کرت‌های آزمایشی دارای ابعادی معادل 3 متر × 2 متر (6 مترمربع)، شامل 4 خط کاشت به طول 3 متر بود. بذرها در تاریخ 3 اسفند 1388 در خزانه کاشته و در تاریخ 14 اسفند سبز شدند. کود شیمیایی سوپر فسفات تریپل در حین آماده‌سازی زمین به خاک افزوده شد. باکتری‌های مورد استفاده به عنوان حل‌کننده‌های فسفات و تثبیت‌کننده نیتروژن از مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه شد. تلقیح کود زیستی شامل باکتری حل‌کننده فسفات *Pseudomonas fluorescens* strain 187 و باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن *Azotobacter chroococcum* strain 5 به ترتیب با جمعیت‌های (CFU/ml) $1/2 \times 10^9$ و $5/8 \times 10^8$ پیش از انتقال نشاءها به زمین اصلی، از طریق خوابانیدن ریشه نشاءها در مایه تلقیح مایع به مدت 10 دقیقه در تاریخ 21 اردیبهشت 1389 صورت پذیرفت. کاشت نشاءهای یکسان در زمین اصلی به روش خطی و فاصله بوته‌ها روی ردیف 25 سانتی‌متر و فاصله دو ردیف 60 سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

پارامترهای اندازه‌گیری شده شامل میزان ماده مؤثره اسید والرینیک (بر اساس درصد ماده خشک)، عملکرد ماده مؤثره در هکتار و خصوصیات کمی شامل عملکرد وزن تر و خشک اندام هوایی در هکتار، عملکرد وزن تر و خشک ریشه در هکتار، طول و عرض برگ، طول و قطر ریشه، مقدار کلروفیل بود. جهت اندازه‌گیری مقدار کلروفیل (SPAD) با دستگاه کلروفیل متر (Minolta 502, Osaka, Japan) یک روز قبل از برداشت گیاه، قرائت صورت پذیرفت. برداشت گیاه در تاریخ 27 مهر انجام شد. به منظور تعیین عملکرد کمی و کیفی پس از جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی، نمونه‌ها در دمای اتاق و دور از نور خشک شدند. میزان ماده مؤثره با دستگاه HPLC

نتایج

عملکرد کمی

نتایج نشان داد که استفاده از کود زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل کاربرد آنها در مقایسه با تیمار شاهد (فاقد هر گونه کود اعم از زیستی و شیمیایی) تأثیر معنی داری بر اندازه قطر ریشه نداشت (جدول شماره 3). با این حال در بین تیمارهای تلقیحی با باکتری بیشترین و کمترین قطر ریشه به ترتیب مربوط به تیمار A (1/85 میلی متر) و تیمار C (1/48 میلی متر) بود (جدول شماره 4). همچنین تیمار P_{100} (1/77 میلی متر) بیشترین و تیمار P_0 (1/53 میلی متر) کمترین نتایج در میان تیمارهای مصرف کود شیمیایی را از خود نشان دادند (جدول شماره 5) و به طور کلی بیشترین و کمترین اثر متقابل تیمارها بر قطر ریشه به ترتیب مربوط به تیمار AP_{100} (2/01 میلی متر) و تیمار CP_0 (1/38 میلی متر) بود (جدول شماره 6). در ارتباط با طول ریشه تنها عامل تلقیح باکتری تأثیر معنی داری ($p \leq 0/01$) را نشان داد (جدول شماره 3). به طوری که تیمار A (17/54 سانتی متر) بیشترین و تیمار S (13/95 سانتی متر) کمترین طول ریشه را داشتند (جدول شماره 4). با این وجود تیمار P_{100} (16/27 سانتی متر) و تیمار P_0 (15/16 سانتی متر) بیشترین و کمترین طول ریشه را در تیمارهای کود شیمیایی داشته (جدول شماره 5) و از سوی دیگر بیشترین و کمترین تیمار اثر متقابل نیز توسط تیمار AP_{100} (18/63 سانتی متر) و تیمار SP_0 (12/81 سانتی متر) به دست آمد (جدول شماره 6).

در میان فاکتورهای اجرا شده در ارتباط با میزان کلروفیل (SPAD) تنها عامل تلقیح باکتری دارای تأثیر معنی داری ($p \leq 0/01$) بود (جدول شماره 3) و تیمار S بیشترین (38/08) و تیمار C کمترین (31/78 SPAD) میزان کلروفیل را نشان داد (جدول شماره 4). تیمار P_{100} و تیمار P_0 به ترتیب

کمترین (34/25 SPAD) و بیشترین (36/25 SPAD) میزان کلروفیل را در بین تیمارهای کود شیمیایی داشتند (جدول شماره 5). بیشترین اثر متقابل میزان کلروفیل (39/23 SPAD) مربوط به تیمار SP_{100} در برابر کمترین میزان کلروفیل (28/63 SPAD)، متعلق به تیمار CP_0 به دست آمد (جدول شماره 6).

تمامی فاکتورها تأثیر معنی داری ($p \leq 0/01$) بر عملکرد وزن تر ریشه داشتند (جدول شماره 3). بیشترین و کمترین عملکرد در تیمارهای تلقیحی مربوط به تیمار A (1224/4 کیلوگرم بر هکتار) و تیمار S (859 کیلوگرم بر هکتار) (جدول شماره 4) و در تیمارهای کود شیمیایی متعلق به تیمار P_{100} (1062/3 کیلوگرم بر هکتار) و تیمار P_0 (925/35 کیلوگرم بر هکتار) (جدول شماره 5) و در تیمارهای اثر متقابل، مربوط به تیمار AP_{100} (1315/2 کیلوگرم بر هکتار) و تیمار CP_0 (582/6 کیلوگرم بر هکتار) بود (جدول شماره 6). اثر متقابل تیمارها بر عملکرد وزن خشک ریشه تأثیر معنی داری ($p \leq 0/05$) را نشان داد و سایر عوامل آزمایش هریک خود به تنهایی نیز دارای اثر معنی دار ($p \leq 0/01$) در این صفت بودند (جدول شماره 3). تیمار A (469/73 کیلوگرم بر هکتار) و تیمار S (176/6 کیلوگرم بر هکتار) بیشترین و کمترین مقدار عملکرد در تیمارهای تلقیحی را داشتند (جدول شماره 4). همچنین تیمار P_{50} (329/95 کیلوگرم بر هکتار) و تیمار P_0 (204/4 کیلوگرم بر هکتار) بیشترین و کمترین مقدار عملکرد را در تیمارهای کود شیمیایی دارا بودند (جدول شماره 5). با اجرای تیمار AP_{100} (563/2 کیلوگرم بر هکتار) و تیمار CP_0 (102/6 کیلوگرم بر هکتار) بیشترین و کمترین مقدار عملکرد تحت اثر متقابل مشاهده شد (جدول شماره 6).



جدول شماره ۳- تجزیه واریانس میانگین مربعات ویژگی های کمی و کیفی سبیل الطیب تحت تاثیر تیمار کودهای زیستی و شیمیایی فسفوره												
میانگین مربعات (M.S)												
منابع تغییرات	درجه آزادی (D.F)	واریات	واریات	میان اسید	طول برگ	معرض برگ	صمغکرد وزن تر	صمغکرد وزن خشک	رشته	کلروفیل	طول ریشه	ظفر ریشه
کود زیستی (B)	۳	۴۲۵۵۳۲**	۰/۰۰۵۹**	۰/۰۰۵۸**	۹۰/۸۵۱**	۰/۳۶۵ NS	۲۲۱۶۸۷۰/۰۰۵**	۸۸۴۳۶/۸۳۰**	۲۴۲۰۳۰/۶۸۵**	۱۶۲۷۸۴/۰۰۲۰**	۱۹/۸۱۳**	۰/۳۷۵ NS
کود شیمیایی (C)	۲	۱۷۴۹۵۷*	۰/۰۰۱۹**	۰/۰۰۱۷*	۴۳/۴۰۴*	۰/۰۰۷۳ NS	۹۲۵۵۰۶/۶۳**	۳۳۹۱۳۶/۴۰**	۶۷۱۷۵۷/۱**	۵۵۹۴۶/۸۱**	۳/۶۹۴ NS	۰/۱۷۱ NS
اثر متقابل (B×C)	۶	۷۴۶۹۴ NS	۰/۰۰۰۷**	۰/۰۰۰۸ NS	۴/۲۵۵ NS	۰/۰۰۸ NS	۲۵۹۸۴/۹۱**	۱۲۲۱۴/۳۱۷**	۲۱۱۷۱/۳۶**	۱۴۴۲۱/۲۵۷*	۱/۳۷۵ NS	۰/۳۷ NS
تکرار (R)	۲	۱۸۵۰۴	۰/۰۰۰۴	۱/۸۵۷	۱/۴۱۱	۱۷۸۷۳۹/۵۲	۱۳۳۴/۵۹	۳۳۲۴/۱۳	۳۰۶۴/۹۶	۳۰۶۷	۰/۰۰۵۱	۰/۰۰۵۱
خطا (E)	۲۲	۳۶۱۲۷	۰/۰۰۰۱	۹/۲۱۹	۰/۰۰۱۲	۶۷۳۰۹/۷۴۴	۴۴۸۴/۲۴۱	۳۱۸۷/۳۳۴	۲۹۷۵/۳۳۴	۶/۳۴۱	۱/۱۹۹	۰/۰۰۹۸
تغییرات ضرب	-	۲۳	۹/۹۱۳	۱۷/۹۶۲	۱۰/۱۱۴	۲۱/۱۶۵	۲۱/۳۰۴	۲۱/۳۱۱	۶/۶۲۲	۷/۱۱۷	۶/۹۵۹	۱/۸/۹۹
C.V(%)												

جدول شماره ۴- مفاهیم میانگین اثر کودهای زیستی فسفر بر ویژگی‌های کمی و کیفی سنبل‌الطیپ

تیمار*	قطر ریشه (میلی متر)	طول ریشه (سانتی متر)	مقدار کلروفیل (SPAD)	ریشه (کیلوگرم بر هکتار)	وزن خشک ریشه (کیلوگرم بر هکتار)	وزن تر ریشه (کیلوگرم بر هکتار)	اندام هوایی (کیلوگرم بر هکتار)	هوازی (کیلوگرم بر هکتار)	معرض برگ (سانتی متر)	طول برگ (سانتی متر)	میزان اسید وازیکی (درصد)	عملکرد اسید وازیکی (گرم بر هکتار)
CP ₀	۱/۳۸	۱۵/۶۹	۷۸/۳۳	۱۰۲/۶ ^{cd}	۱۳۳/۸ ^c	۳۹۱/۲ ^b	۲/۶۱	۱۰/۰۸	۰/۴۵۰۶۷ ^a	۴۵۵		
CP ₅₀	۱/۴۶	۱۵/۹۶	۳۲/۶	۲۱۹/۸ ^{cd}	۹۱۸/۸ ^{ef}	۱۹۰ ^{de}	۸۹۳/۶ ^{def}	۲/۸۵	۱۵/۲۸	۰/۳۹۱۳۳ ^b	۸۶۳	
CP ₁₀₀	۱/۶۲	۱۶/۳۶	۳۴/۱۳	۲۳۶/۶ ^c	۹۸۳/۶ ^{de}	۲۱۵/۸ ^{cde}	۱۰۵۴/۸ ^{def}	۳/۸۸	۱۵/۵۱	۰/۳۷۳۳۳ ^b	۸۸۲	
AP ₀	۱/۷۴	۱۶/۴۸	۳۵/۱۶	۳۷۹/۴ ^b	۱۱۵۶/۴ ^{bc}	۳۱۹/۶ ^{bc}	۱۵۵۶/۲ ^{bc}	۴/۱۸	۱۸/۸۱	۰/۲۶۰۶۷ ^{cd}	۹۸۹	
AP ₅₀	۱/۸۲	۱۷/۵	۳۵/۵۶	۴۶۶/۶ ^{ab}	۱۲۰۱/۶ ^{ab}	۳۹۱/۶ ^{ab}	۱۸۲۶/۴ ^{ab}	۴/۲	۲۰/۳۶	۰/۲۲۹ ^{de}	۱۰۳۶	
AP ₁₀₀	۲/۰۱	۱۸/۶۳	۳۵/۲۶	۵۶۳/۲ ^a	۱۳۱۵/۲ ^a	۴۰۶/۴ ^{ab}	۲۰۱۰/۲ ^{ab}	۴/۳	۲۲/۴	۰/۱۳۸۱۳ ^{de}	۱۳۲۴	
SP ₀	۱/۴۳	۱۲/۸۱	۳۷/۰۶	۱۴۳ ^{cd}	۸۳۷/۶ ^f	۱۳۹/۸ ^e	۶۱۱/۸ ^{fg}	۳/۸	۱۲/۸۵	۰/۴۷۸۲۳ ^{ab}	۶۱۲	
SP ₅₀	۱/۴۴	۱۴/۰۱	۳۷/۹/۶	۱۸۷/۴ ^{cd}	۸۳۹/۶ ^f	۱۶۱/۴ ^c	۷۶۰/۸ ^{cfg}	۳/۸۸	۱۵/۱۸	۰/۴۱۲ ^{ab}	۷۸۱	
SP ₁₀₀	۱/۷۳	۱۵/۰۳	۳۹/۲۳	۱۹۹/۴ ^{cd}	۸۹۹/۸ ^{ef}	۲۴۱/۶ ^{cde}	۱۱۵۴/۸ ^{cde}	۳/۹۳	۱۶/۸	۰/۲۶۸۶۷ ^{cd}	۵۳۰	
MP ₀	۱/۵۸	۱۵/۶۶	۳۶/۱۳	۱۹۲/۶ ^{cd}	۸۸۱/۸ ^{ef}	۲۲۶/۶ ^{cde}	۱۰۶۳ ^{def}	۴/۰۳	۱۷/۱۶	۰/۳۱۵۶۷ ^c	۶۰۱	
MP ₅₀	۱/۹۳	۱۵/۵۸	۳۶/۴	۴۴۶ ^b	۱۲۲۴/۲ ^{ab}	۴۶۹/۸ ^a	۲۱۲۲/۲ ^a	۴/۰۸	۲۰/۰۵	۰/۱۹۶۶۷ ^c	۸۷۷	
MP ₁₀₀	۱/۷۲	۱۵/۰۵	۳۶/۴	۲۵۵/۶ ^c	۱۰۵۰/۶ ^{cd}	۲۷۸/۶ ^{cd}	۱۲۶۳ ^{cd}	۴/۱۳	۱۸/۳۱	۰/۲۶۴۳۳ ^{cd}	۶۵۵	

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای داکن دارای تفاوت معنی‌داری نمی‌باشند.

ترتیب برای بیمارهای کود شیمیایی (سوپر فسفات تریپل) شامل عدم مصرف کود، مصرف ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هنگام سوپر فسفات تریپل می‌باشد. اثر متقابل بیمارها بر اساس تلفیق این حروف در کنار هم نامگذاری شده‌اند.

* حروف C, A, M و به ترتیب برای بیمارهای کودکانی شامل عدم تلفیح باکتری (شاهد)، تلفیح با ازوباکتر، تلفیح با سودوموناس و تلفیح با باکتری ازوباکتر و سودوموناس بوده و همچنین حروف P₅₀ و P₁₀₀ به

سانتی متر) (جدول شماره 5) و نیز در تیمارهای اثر متقابل مربوط به تیمار AP_{100} (22/4 سانتی متر) و تیمار CP_0 (10/08 سانتی متر) بودند (جدول شماره 6).

عملکرد کیفی

نتایج نشان داد که کلیه فاکتورها در مقایسه با شاهد، تأثیر معنی داری ($p \leq 0/01$) بر درصد اسید والرینیک داشتند (جدول شماره 3). به طوری که بیشترین و کمترین درصد اسید والرینیک به ترتیب مربوط به تیمار CP_0 (0/45 درصد) و تیمار MP_{50} (0/19 درصد) بوده و بیشترین و کمترین درصد اسید والرینیک در تیمارهای تلقیحی مربوط به تیمار C (0/405 درصد) و تیمار A (0/24 درصد) (جدول شماره 4) و در تیمارهای کود شیمیایی متعلق به تیمار P_0 (0/36 درصد) و تیمار P_{100} (0/28 درصد) بود (جدول شماره 5).

در ارتباط با عملکرد اسید والرینیک در هکتار عامل تلقیح ($p \leq 0/01$) و عامل کود شیمیایی ($p < 0/05$) معنی دار شدند و اثر متقابل آنها تأثیر معنی داری بر عملکرد اسید والرینیک در هکتار نداشت (جدول شماره 3). بیشترین و کمترین عملکرد در تیمارهای تلقیحی مربوط به تیمار A (1123 گرم بر هکتار) و تیمار S (641 گرم بر هکتار) (جدول شماره 4) و در تیمارهای کود شیمیایی متعلق به تیمار P_{50} (889 گرم بر هکتار) و تیمار P_0 (664 گرم بر هکتار) بود (جدول شماره 5).

بحث

در مجموع نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات و تثبیت کننده نیتروژن و همچنین مصرف کود شیمیایی فسفات به عملکرد کمی و کیفی سنبل الطیب تأثیر معنی داری داشتند.

تحقیقی توسط شارما (Sharma) و همکاران [27] مشاهده شد، گیاه *Mung bean* تلقیح شده با سودوموناس افزایشی را در میزان کلروفیل نسبت به گیاه بدون تلقیح، پس از 45 روز

تمامی فاکتورها بر عملکرد وزن تر اندام هوایی تأثیر معنی داری ($p \leq 0/01$) داشتند (جدول شماره 3). بیشترین و کمترین عملکرد در تیمارهای تلقیحی مربوط به تیمار A (با 1797/6 کیلوگرم بر هکتار) و تیمار C (با 779/86 کیلوگرم بر هکتار) (جدول شماره 4) و در تیمارهای کود شیمیایی متعلق به تیمار P_{50} (با 1401 کیلوگرم بر هکتار) و تیمار P_0 (با 905/55 کیلوگرم بر هکتار) (جدول شماره 5) و در تیمارهای اثر متقابل مربوط به تیمار MP_{50} (با 2123/2 کیلوگرم بر هکتار) و تیمار CP_0 (با 391/2 کیلوگرم بر هکتار) بود (جدول شماره 6). تمام فاکتورها بر عملکرد وزن خشک اندام هوایی نیز تأثیر معنی داری ($p \leq 0/01$) داشتند (جدول شماره 3). بیشترین و کمترین عملکرد در تیمارهای تلقیحی مربوط به تیمار A (372/53 کیلوگرم بر هکتار) و تیمار C (179/86 کیلوگرم بر هکتار) (جدول شماره 4) و در تیمارهای کود شیمیایی متعلق به تیمار P_{50} (303/2 کیلوگرم بر هکتار) و تیمار P_0 (204/95 کیلوگرم بر هکتار) (جدول شماره 5) و در تیمارهای اثر متقابل مربوط به تیمار MP_{50} (469/8 کیلوگرم بر هکتار) و تیمار CP_0 (133/8 کیلوگرم بر هکتار) بود (جدول شماره 6).

نتایج نشان داد که هیچ یک از فاکتورها تأثیر معنی داری بر عرض برگ نداشتند (جدول شماره 3). با این حال بیشترین و کمترین عرض برگ در تیمارهای تلقیحی مربوط به تیمار A (4/22 سانتی متر) و تیمار C (3/78 سانتی متر) (جدول شماره 4) و در تیمارهای کود شیمیایی متعلق به تیمار P_{100} (4/06 سانتی متر) و تیمار P_0 (3/9 سانتی متر) (جدول شماره 5) و در تیمارهای اثر متقابل مربوط به تیمار AP_{100} (4/3 سانتی متر) و تیمار CP_0 (3/61 سانتی متر) بود (جدول شماره 6). در ارتباط با طول برگ اثر عامل تلقیح ($p \leq 0/01$) و عامل کود شیمیایی ($p \leq 0/05$) معنی دار شد و اثر متقابل آنها اثر معنی داری بر طول برگ نداشت (جدول شماره 3). بیشترین و کمترین طول برگ در تیمارهای تلقیحی مربوط به تیمار A (20/52 سانتی متر) و تیمار C (13/62 سانتی متر) (جدول شماره 4) و در تیمارهای کود شیمیایی متعلق به تیمار P_{100} (18/25 سانتی متر) و تیمار P_0 (14/72

نشان داد. آنها علت را به افزایش فراهمی آهن در اثر تولید سیدروفور توسط سودوموناس نسبت دادند.

ویژگی‌های سیستم ریشه ارثی است ولی می‌تواند توسط فاکتورهای محیطی تحت تأثیر قرار گیرد [28] و از آنجا که ریشه این گیاه افشان است، تفاوت چندانی بین قطر آنها دیده نمی‌شود. اما تغییر در مورفولوژی ریشه و رشد آن تا حدی به غلظت مواد تنظیم‌کننده رشد به ویژه اکسین، اتیلن و سیتوکنین بستگی دارد [12]. اسچپرس (Schippers) و همکاران [11] معتقدند بعضی از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه با تولید ریزوبیوتوکسین، تولید اتیلن را در گیاه کاهش می‌دهند و باعث افزایش رشد ریشه می‌شوند. تناسب صحیح بین ازت و فسفر نه تنها سبب افزایش عملکرد ریشه می‌شود بلکه تأثیر مطلوبی بر رویش گیاه خواهد داشت [29]. توانایی ازتوباکتر در افزایش حلالیت فسفر از ترکیبات نامحلول معدنی به اثبات رسیده است که از جمله روش‌های افزایش تحرک و قابلیت جذب عناصر غذایی می‌باشد. بنابراین ممکن است ازتوباکتر تناسب صحیحی بین ازت و فسفر ایجاد نموده باشد و یا با تولید هورمون‌های مناسب و یا از طریق کاهش اتیلن موجب افزایش رشد ریشه و گیاه شده باشد [۱۱، ۲۹]. در تحقیقی اسوایی (Swaefy) و همکاران [30] نشان دادند که تیمار گیاه نعنای فلفلی با ازتوباکتر کروکوکوم باعث افزایش ارتفاع گیاه و وزن تر و خشک گیاه می‌شود.

با افزایش سطح کود شیمیایی و تلقیح ازتوباکتر درصد اسید والرینیک نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت که این مطلب را می‌توان با توجه به افزایش وزن خشک ریشه در این تیمارها، این‌چنین تفسیر کرد که هر چه وزن خشک ریشه بیشتر باشد، نشان‌دهنده شرایط مطلوب زراعی برای گیاه سنبل‌الطیب می‌باشد و از آنجا که اسید والرینیک جزء متابولیت‌های ثانویه است و در شرایط تنش افزایش می‌یابد، می‌توان انتظار افزایش

درصد اسید والرینیک را در تیمارهای دارای وزن کم خشک ریشه (و در شرایط غیرمطلوب زراعی) داشت. محمدی [2] نیز اعلام نمود که ریشه سنبل‌الطیب‌هایی که به حالت خودرو در ماسه‌زارها و زمین‌های خشک می‌رویند، دارای مقدار اسانس بیشتری نسبت به گیاهانی هستند که در اراضی مطلوب رشد می‌کنند. اما از سوی دیگر، اگرچه در تیمار AP₁₀₀ درصد اسید والرینیک کمتری را نسبت به تیمار CP₀ به دست آوردیم لیکن با افزایش عملکرد ریشه در واحد سطح این مطلب جبران شده و بهترین عملکرد اسید والرینیک در هکتار را در این تیمار داشتیم.

به طور کلی در ارتباط با صفات مورد بررسی، تیمار ازتوباکتر بهترین نتایج را در میان تیمارهای تلقیحی باکتری به خود اختصاص داد که عملکرد وزن خشک ریشه (مهم‌ترین صفت کمی) و عملکرد اسید والرینیک در هکتار (مهم‌ترین صفت کیفی) نیز جزو این صفات بود. حتی تیمارهای ازتوباکتر در مقایسه با بهترین نتایج تیمارهای کود شیمیایی نیز نتایج بهتری را حاصل نمود. لذا ازتوباکتر نه تنها می‌تواند جایگزین مناسبی برای کود شیمیایی در تولید این گیاه شود بلکه منجر به افزایش محصول (از لحاظ کمی و کیفی) نسبت به مصرف کودهای شیمیایی نیز می‌شود. استفاده همزمان کود زیستی و شیمیایی به غیر از صفت طول برگ در ده صفت دیگر نتایج بهتری را نسبت به استفاده جداگانه آنها نشان داد که نشان‌دهنده تأثیر مثبت و هم‌افزایی این دو کود بر یکدیگر می‌باشد و نشان می‌دهد مصرف کود زیستی منجر به افزایش بازده کود شیمیایی شده است. نظر به این که حداکثر وزن خشک ریشه و عملکرد اسید والرینیک در هکتار توسط تیمار AP₁₀₀ حاصل شده است، به عنوان بهترین تیمار شناخته شده و تحقیقات بر روی سایر سویه‌های ازتوباکتر به ویژه سویه‌های بومی تهیه شده از ریزوسفر گیاه سنبل‌الطیب توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت گروه کشت و توسعه پژوهشکده

گیاهان دارویی و معاونت پژوهش و فناوری جهاددانشگاهی در پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی انجام شده است.

منابع

1. Der Marderosian A. The Review of Natural Product. Fact and comparisons. USA. 2001, pp: 609 - 11.
2. Mohammadi GH. Result of culture of Medicinal Plants in first stage. Research Institute of Forests Rangelands Iran. 1993, pp: 45.
3. Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke C. PDR for herbal Medicine. Economics Company. USA. 2000, pp: 783 - 5.
4. Rezaie A, Pashazadeh M, Ahmadizadeh Ch, Jafari B and Jalilzadeh HM. Study of Sedative and Anxiolytic Effect of Herbal Extract of *Nardostachys jatamansi* in Comparison With Dizepam in Rats. *Journal of Medicinal Plants* 2010; 9 (36): 169 - 74.
5. Ekhteraei H, Rajabian T, Ebrahimzade H and Niknam V. Enhanced Production of Valerinic Acids and Valepotriates by in Vitro Cultures of *Valeriana officinalis* L. *International Journal of Plant Production* 2010; 4 (3): 209 - 21.
6. Duke JA. Handbook of Medicinal Herbs. CRC Press. UK. 2000, pp: 503 - 4.
7. Fernandez S, Wasowski C, Paladini A. C and Mariel M. Sedative and Sleep-enhancing Properties of Linarin, a Flavonoid-isolated from *Valeriana officinalis* L. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2007; 77 (2): 399 - 404.
8. Houghton PJ. The scientific basis for the reputed activity of Valerian. *J. Pharm. Pharmacol.* 1999; 5: 505 - 12.
9. Akhondzadeh S and Daliri. Herbal medicine in sleep disorders. *J. Medicinal Plants* 2004; 3 (9): 79.
10. Dokora FD, Matiru V, King M, and Phillips DA. Plant growth promotion in legumes and cereals by lumichrome, a rhizobial signal metabolite. In: Finan TM, o'Brain MR, layzell DB, vessey K, Newton WE, eds. Nitrogen fixation: global perspectives. Walling ford, UK: CABI publishing. 2002; 321 - 2.
11. Schippers B, Bakker AW, Bakker PA and Vanpeer R. Benefical deleterious effects of HCN-production *Pseudomonas* on rhizosphere interaction. *Plant Soil.* 1990; 129: 75 - 83.
12. Casson SA and Lindsey K. Genes and ignalling in root development. *New Phytologist* 2003; 11 - 38.
13. Soleimanzadeh H, Habibi D, Ardakani M.R, Paknejad F and Rejali F. Response of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) to Inoculation with *Azotobacter* under different Nitrogen levels. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 2010; 7 (3): 256 - 68.
14. Wensing A, Braun S.D, Buttner P, Expert D, Volksch B, Ullrich M.S and Weingart H. Impact of Siderophore Production by *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae* 22d/93 on Epiphytic Finess and Biocontrol Activity against *Pseudomonas syringae* pv. *Glycinea* 1a/96. *Applied and Environmental Microbiol.* 2010; 2704 - 11.
15. Glick BR, Karaturovic D and Newell P. A novel procedure for rapid isolation of plant growth-promoting rhizobacteria. *J. Microbiol.* 1995; 41: 533 - 6.
16. Mikovacki N, Marinkovic J, Cacic N and Bgelic D. Microbial abundance in rhizosphere of

- Sugarbeet in dependence of fertilization and inoculation with *Azotobacter Chroococcum*. *Research Journal of Agricultural Sci.* 2010; 42 (3): 260 - 4.
17. Mikovacki N and Milic V. Use of *Azotobacter chroococcum* as potentially useful in agricultural application. *Annals of Microbiol.* 2001; 51: 145 - 58.
18. Kumar V, Behl R K and Narula N. Establishment of phosphate solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* in rhizosphere and their effect on wheat under green house conditions. *Microb. Res.* 2001; 156: 87 - 93.
19. Dehghani M. The Effect of Biological and Chemical Fertilizers on Qualitative Yield of Shirazian Babooneh, *Matricaria Recutita* L. *Islamic Azad University Press.* Iran. 2010; 83 - 97.
20. Youssef A A, Edris A E and Gomaa A M. 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* 2004; 49: 299 - 311.
21. Mirzaei A, Vazan S and Naseri R. Response of yield and yield camponents of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to seed inoculation with *Azotobacter* and *Azospirillum* and different Nitrogen levels under dry land condition. *World Applied Sci. J.* 2010; 11 (10): 1287 - 91.
22. Stajkovic O, Delic D, Josic D, Kuzmanovic D, Rasulic N and Knezevic-Vukcevic J. Improvement of common bean growth-promoting bacteria. *Romanian Biotechnological Letters* 2011; 16 (1): 5919 - 26.
23. Shaalan M N. Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of (*Nigella sativa* L.) plants. *Egyptian Journal of Agricultural Res.* 2005; 83: 811 - 28.
24. Karimian N. Results of Extravagance in consumption of Phosphorous chemical Fertilizer. *Soil and Water Institute* 1999; 12 (4): 145.
25. Saleh Rastin N. Biofertilizers and their role for achievement to constant agriculture. *Emission of Agriculture Instruction* 1999; 1 - 45.
26. Rasipour L and Aliasgharzadeh N. Interactive effect of phosphate solubilizing bacteria and bradyrhizobium japonicum on growth, nodule indices and some nutrient uptake of soybean. *J. Sci. & Technol. Agric. & Natur. Resour.* 2007; 11 (40): 53 - 64.
27. Sharma AK. Biofertilizers for sustainable agriculture. *Agrobios* 2003, p: 407.
28. Russel R. Plant root systems (the function and interaction with the soil). Marcel. Dekter. USA. 1977, p: 298.
29. Omidbaigi R. Approaches to Production and Processing of Medicinal Plants. 1st ed. Tarrahan Nashr Press. Iran. 1998, pp: 35.
30. Swaefy Hend M F, Sake Weaam R A, Sabh A Z and Ragab A A. Effect of some chemical and bio-fertilizers on peppermint plants grown in sandy soil. *Annals Agric. Sci.* 2007; 52 (2): 451 - 63.