

تغییرات عملکرد زراعی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) تحت تأثیر اوره و کود زیستی

مجید آقاعلیخانی^{1*}، آیدا ایرانپور²، حسنعلی نقدی بادی³

1- دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

2- دانش آموخته کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

3- دانشیار پژوهش، گروه پژوهشی کشت و توسعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی
جهاددانشگاهی، کرج، ایران

*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت، صندوق پستی: 336 - 14115

تلفن: 48292099 (021)، نمابر: 48292200 (021)

پست الکترونیک: maghaalikhani@modares.ac.ir

تاریخ تصویب: 92/3/7

تاریخ دریافت: 91/10/30

چکیده

مقدمه: تغذیه گیاه عامل مهمی در رشد و ترکیبات شیمیایی گیاهان است. کاربرد کودهای طبیعی می تواند عملکرد و شاخص های دارویی گیاهان را ارتقاء بخشد.

هدف: در این تحقیق امکان جایگزینی کودهای شیمیایی با کودهای زیستی: نیتروکسین، بیوفسفر و بیوسولفور در تولید گیاه دارویی سرخارگل از طریق مقایسه عملکرد پیکر رویشی و ترکیبات فنلی گیاه در پاسخ به سطوح خالص و یا تلفیقی کودهای زیستی با اوره بررسی شد.

روش بررسی: این آزمایش در قالب بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار و 12 تیمار در سال زراعی 89 - 1388 در مزرعه دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. تیمارها شامل نیتروژن شیمیایی به فرم اوره (C)، بیوسولفور (S)، بیوفسفر (P)، نیتروکسین (N)، اوره + بیوسولفور (CS)، اوره + بیوفسفر (CP)، اوره + نیتروکسین (CN)، بیوفسفر + بیوسولفور (PS)، نیتروکسین + بیوسولفور (NS)، نیتروکسین + بیوفسفر (NP)، تلفیق سه کود زیستی (NPS) و شاهد (بدون کود) بودند.

نتایج: تیمارها اثر معنی داری ($p \leq 0/05$) بر تعداد شاخه جانبی، تعداد گل، قطر گل، ساقه و ریشه، ارتفاع بوته، طول ریشه، عملکرد بیولوژیک خشک، شاخص برداشت، محتوی نیتروژن و فسفر گیاه داشتند و میزان ترکیبات فنولی را تحت تأثیر قرار دادند. تیمار NP منجر به تولید بیشترین وزن خشک برگ، عملکرد بیولوژیک، طول ریشه، قطر ریشه و ساقه، تعداد شاخه جانبی ساقه شد.

نتیجه گیری: کاربرد کودهای زیستی سبب افزایش عملکرد سرخارگل شد. تیمار NP بهترین تیمار از نظر عملکرد کمی و تیمار PS با بیشترین عملکرد فنل ریشه (116 درصد بیشتر از شاهد) بهترین ترکیب تیماری از نظر کیفیت بود. بنابراین با کاربرد کودهای زیستی می توان مصرف کودهای شیمیایی را کاهش داد و به اهداف کشاورزی پایدار نزدیک شد.

گل واژگان: *Echinacea purpurea* L. Moench، ترکیبات فنولی، کود شیمیایی، گیاهان دارویی

مقدمه

پذیرش هستند.

تاکنون در مورد اثر کودهای زیستی بر خصوصیات کمی و کیفی سرخارگل حداقل در سطح ملی تحقیقاتی صورت نگرفته است. سانچز گوین و همکاران [6] در آزمایش بررسی اثر کودهای زیستی روی دو گیاه دارویی بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) و همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) دریافتند که کاربرد این کودها در همیشه‌بهار باعث افزایش عملکرد گل و بهبود کیفیت دارویی شد در حالی که در بابونه فقط افزایش عملکرد گل را به همراه داشت اما بر کیفیت آن اثری نداشت. بنا به گزارش درزی [7] کود زیستی بیوفسفات روی ارتفاع و عملکرد بیولوژیک رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) اثر معنی‌داری داشت. شریفی و حق‌نیا [3] بیان کردند که کود زیستی نیتروکسین بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم رقم سبلان مؤثر است، به طوری که این کود عملکرد دانه و کاه، ارتفاع بوته، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله و تعداد سنبله در متر مربع را افزایش داد.

تأثیر مثبت کود زیستی بر رشد گیاهان دارویی آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) و رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) توسط برخی محققین [9، 8] گزارش شده است. امیدی و همکاران [10] برای حصول حداکثر عملکرد ماده خشک و کیفیت زعفران (*Crocus sativus* L.) در واحد سطح، مصرف کود زیستی نیتروکسین به تنهایی یا مصرف توأم آن با مقادیر کمتر کود شیمیایی اوره را توصیه کرده‌اند. در آزمایشی روی گیاه دارویی بابونه شیرازی (*Marticaria chamomilla* L.) نتایج به دست آمده نشان داد که بیشترین عملکرد گل تر، خشک، اسانس و کامازولن در تیمارهای نیتروکسین و باکتری حل‌کننده فسفات مشاهده شد [11]. همچنین کوچکی و همکاران [1] گزارش کردند که کاربرد کود زیستی نیتروکسین نقش مفید و مؤثری در بهبود ویژگی‌های رشد، عملکرد اندام‌های هوایی و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) دارد.

رویکرد روز افزون به استفاده از گیاهان دارویی در سطح جهان، اهمیت کشت و تولید این گیاهان را روشن‌تر می‌سازد. در حال حاضر تقاضا برای گیاهان دارویی به عنوان تولیدات قابل مصرف در صنایع بهداشتی و دارویی در حال افزایش است [1]. سرخارگل (*Echinaceae purpurea*) یکی از گیاهان تیره میناسانان (*Asteraceae*) است که بومی آمریکای شمالی است ولی امروزه در اکثر نقاط اروپا و آسیا و همچنین ایران کشت می‌شود. در گذشته این گیاه را برای درمان مارگزیدگی، بیماری‌های لثه و دهان، سرماخوردگی، سرفه و گلودرد استفاده می‌نمودند. در 50 سال اخیر این گیاه به دلیل خواص ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد باکتریایی شهرت جهانی یافته است و ترکیبات حاصل از آن در گروه مواد تقویت‌کننده سیستم ایمنی (*Immuno stimulator*) بدن به شمار می‌روند. فرآورده‌های سرخارگل هم اکنون به عنوان تصفیه‌کننده خون، ضد عفونی‌کننده و آرام‌بخش معرفی می‌شوند [2].

کاربرد کودهای بیولوژیک در کشاورزی قدمت زیادی دارد ولی بهره‌برداری علمی از این گونه منابع سابقه چندانی ندارد. امروزه با توجه به مشکلات زیست محیطی متعددی که مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی به همراه داشته است استفاده از کودهای زیستی در کشاورزی مجدداً مطرح شده است [3] و سعی بر آن است تا از پتانسیل ارگانیزم‌های خاک و مواد آلی به منظور تولید حداکثر محصول و در عین حال ارتقای کیفیت خاک و رعایت بهداشت و ایمنی محیط زیست استفاده شود [4]. امروزه کودهای زیستی به عنوان جایگزینی برای کودهای شیمیایی با هدف افزایش باروری خاک و تولید محصولات در کشاورزی پایدار محسوب می‌شوند [5]. کودهای بیولوژیک در مقایسه با مواد شیمیایی مزیت‌های قابل توجهی دارند از جمله این که در چرخه غذایی، تولید مواد سمی و میکروبی نمی‌نمایند، قابلیت تکثیر خودبخودی دارند، باعث اصلاح خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک می‌شوند [4] و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه و از دیدگاه زیست محیطی قابل

ضرورت کاهش مصرف کودهای شیمیایی در راستای تولید ارگانیک گیاهان دارویی، در این مطالعه تأثیر اوره و کودهای زیستی (نیتروکسین، بیوفسفر و بیوسولفور) بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی سرخارگل بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی 89 - 1388 در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس واقع در کیلومتر 16 اتوبان تهران - کرج با مختصات جغرافیایی 35 درجه و 44 دقیقه عرض شمالی و 51 درجه و 10 دقیقه طول شرقی و ارتفاع 1215 متر از سطح دریا در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل: کود شیمیایی نیتروژن از منبع اوره (C= chemical nitrogen)، کود زیستی بیوسولفور (S)، کود زیستی بیوفسفر (P)، کود زیستی نیتروکسین (N)، اوره + بیوسولفور (CS)، اوره + بیوفسفر (CP)، اوره + نیتروکسین (CN)، بیوفسفر + بیوسولفور (PS)، نیتروکسین + بیوسولفور (NS)، نیتروکسین + بیوفسفر (NP)، تلفیق سه کود زیستی (NPS) و شاهد (بدون مصرف کود) بود. پس از اجرای عملیات خاکورزی و پیاده کردن نقشه طرح، کرت‌هایی به ابعاد 2/5 در 3/5 متر ایجاد و در داخل هر کرت، 5 پشته (10 خط کاشت) در نظر گرفته شد. نشاهای 90 روزه سرخارگل که در گلخانه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی تولید شده بودند در 20 آبان ماه به صورت دستی در زمین اصلی کاشته شدند. فاصله نشاءها روی خطوط کشت 30 سانتی‌متر در نظر گرفته شد. آرایش کشت به صورت ضربدری بوده و بلافاصله پس از کشت آبیاری صورت گرفت [2]. در طول دوره رشد عملیات داشت شامل آبیاری، وجین علف‌های هرز و تنک بر حسب نیاز گیاه و مزرعه انجام شد. علف‌های هرز در ابتدای بهار وجین دستی شدند و آفت خاصی در مزرعه مشاهده نشد. بر این اساس هیچ نوع علف‌کش و آفت‌کش در مزرعه استفاده نشد. تیمار کودی به صورت تقسیط شده و در دو مرحله اعمال

درزی [7] در آزمایشی گزارش کرد که کود فسفات زیستی روی ارتفاع، عملکرد بیولوژیک و اسانس در دانه رازیانه اثر معنی‌داری دارد. چاندرسکار و همکاران [12] نیز تأثیر کود زیستی (ازوتوباکتر و آزوسپیریلوم) و سطوح نیتروژن را به طور جداگانه و در ترکیب مختلف با هم روی صفات مورفولوژیک، بیوشیمیایی، عملکرد و بیوماس ارزن (*Panicum italicum* L.) بررسی کردند. تلقیح بذرها با باکتری‌ها موجب افزایش رشد، عملکرد و بهبود خصوصیات بیوشیمیایی در مقایسه با تیمار کنترل شد [12]. همچنین نتایج نشان داد که هر دو خصوصیات مورفولوژیک و اجزای عملکرد در تیمار تلفیقی کود زیستی با کود شیمیایی نیتروژن نسبت به کاربرد تنهایی آنها بهبود یافت. به طوری که بالاترین ارتفاع گیاه، تعداد برگ، سطح برگ و طول برگ در تیمار آزوسپیریلوم همراه با اوره و تیمار ازوتوباکتر همراه با اوره مشاهده شد [12].

ترکیبات فنولی یا پلی‌فنول‌ها با توجه به خواص درمانی متعدد (خاصیت ضد رادیکالی، قابلیت پیشگیری از اکسیداسیون LDL و سختی سرخرگ‌ها، خاصیت ضد سرطانی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و نیز فعالیت ضد میکروبی) برای سلامت انسان مفید هستند [13]. به این ترتیب اندازه‌گیری این مواد در ماده اولیه گیاهان دارویی به عنوان یک صفت کیفی محسوب می‌شود.

مطالعات نشان داده است که عوامل مختلفی بر درصد و میزان ترکیبات فنولی عصاره استخراجی از گیاه سرخارگل مؤثر هستند، در این زمینه می‌توان به عوامل مختلفی مانند عوامل ژنتیکی، شرایط محیطی از جمله سیستم‌های مختلف تغذیه‌ای و شرایط نگهداری اشاره کرد. حتی بین واریته‌های زراعی یک گونه نیز از نظر درصد و میزان ترکیبات فنولی تفاوت وجود دارد. همچنین میزان رسیدن و زمان برداشت بر محتوای فنولی مؤثرند [14].

اگرچه امروزه گیاه دارویی سرخارگل به طور گسترده در ایران کشت می‌شود و کشت آن در حال گسترش است، دستیابی به دانش فنی تولید بهینه این گیاه دارویی ارزشمند ضروری می‌باشد. با توجه به عدم مستندات علمی کافی در زمینه اثر کودهای زیستی بر گیاه سرخارگل و همچنین

استخراج ترکیبات فنلی با استفاده از حلال متانول: آب (80: 20) و به روش استخراج گرم (2 ساعت در دمای 50 درجه سانتی‌گراد) و با رعایت اندازه ذره‌ای 300 میکرومتر و نسبت گیاه به حلال (200: 1) انجام شد. در این روش نمونه استاندارد اسید گالیک با غلظت‌های 0/03، 0/05، 0/1، 0/3 و 0/5 میلی‌گرم در میلی‌لیتر، همراه با معرف Folin-Ciocalteus بود که پس از استخراج، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج 725 نانومتر در برابر بلانک (آب مقطر) در دستگاه اسپکتروفتومتر) قرائت شد [16].

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج

نتایج نشان داد که تیمارها بر صفات کمی شامل وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه، ساقه، برگ، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت در سطح آماری پنج درصد و بر وزن تر ساقه و برگ و وزن خشک گل در سطح آماری 1 درصد تأثیر معنی‌داری داشتند (جدول شماره 1). تیمار نیتروکسین + بیوسفور + بیوسولفور (NPS) بیشترین وزن خشک ریشه را ایجاد کرد که سبب افزایش 31/96 درصدی وزن خشک ریشه نسبت به کاربرد کود شیمیایی نیتروژن + بیوسولفور شد. بیشترین وزن خشک ساقه مربوط به تیمار تلفیقی کود نیتروکسین + بیوسفور + بیوسولفور (NPS) و کم‌ترین وزن خشک با 25/71 درصد کاهش مربوط به تیمار نیتروکسین + بیوسولفور (NS) می‌باشد (شکل شماره 1). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بیشترین وزن خشک برگ مربوط به تیمار نیتروکسین + بیوسفور و کم‌ترین مقدار وزن خشک با کاهشی 41/42 درصدی از تیمار شاهد به دست آمد. بررسی اثر تیمارهای مختلف کودی بر وزن خشک گل نشان داد که تیمار بیوسفور + بیوسولفور (PS) موجب افزایش 17/23 درصدی وزن خشک گل نسبت به شاهد شد و بیشترین وزن خشک گل را تولید کرد (شکل شماره 2).

شد. در هر مرحله با توجه به میزان توصیه شده برای مصرف کود نیتروکسین (پنج لیتر در هکتار) و بیوسفور (سه لیتر در هکتار) و بیوسولفور (پنج کیلوگرم در هکتار)، برای هر واحد آزمایشی با مساحت 10 مترمربع به ترتیب پنج میلی‌لیتر نیتروکسین، سه میلی‌لیتر بیوسفور و پنج گرم بیوسولفور به همراه 250 گرم گل گوگرد استفاده شد. شایان ذکر است خاک محل آزمایش از لحاظ نیتروژن بسیار فقیر (0/14 درصد)، دارای مقدار ناچیزی فسفر قابل جذب (9/4 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و به دلیل عدم کاربرد کودهای سولفات در سال‌های قبل فاقد گوگرد بود (داده‌ها نشان داده نشده است). اوره به کار برده شده برای کود شیمیایی نیتروژن (160 کیلوگرم در هکتار) به صورت تقسیط شده و سرک طی دو مرحله (ابتدای رشد رویشی در بهار و یک ماه بعد) به زمین داده شد. کودهای زیستی نیز در همین مراحل به صورت محلول در آب در پای ردیف‌های کاشت به کار برده شد. در زمان گلدهی که از تیر ماه شروع شد، برداشت گل‌ها به صورت دستی در زمان مناسب انجام گرفت و تا پایان مرحله گلدهی (شهریور ماه) به طور مرتب انجام شد.

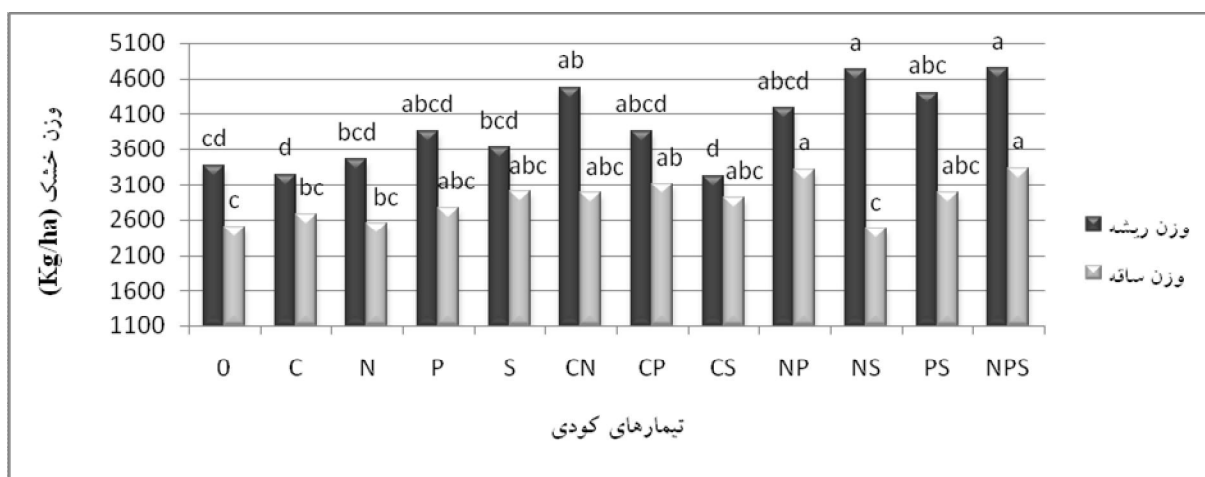
در مرحله 50 درصد گلدهی از هر واحد آزمایشی تعداد پنج بوته به عنوان نمونه انتخاب شد و صفات کمی شامل قطر گل، قطر ساقه، تعداد گل در هر بوته، تعداد شاخه جانبی، ارتفاع بوته اندازه‌گیری شد. برای تعیین عملکرد اندام هوایی و ریشه، نمونه‌برداری نهایی در پایان مرحله گلدهی (شهریور ماه) انجام گرفت که در این مرحله طول و قطر ریشه نیز اندازه‌گیری شد. وزن کل بوته‌های برداشت شده به عنوان عملکرد بیولوژیک در نظر گرفته شد. وزن ماده خشک گیاهان برداشت شده (بعد از خشک شدن در هوای آزاد) بر حسب گرم در مترمربع، محاسبه و سپس میزان آن در هکتار تعیین شد.

پس از برداشت نهایی، بوته‌ها به مدت دو هفته در سایه خشک شدند سپس برگ، ساقه و ریشه از هم تفکیک و وزن آنها تعیین شد. اندازه‌گیری فسفر به روش رنگ‌سنجی (رنگ زرد مولیبدات وانادات) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. اندازه‌گیری نیتروژن کل به روش تیتراسیون بعد از تقطیر و با استفاده از سیستم اتوماتیک کجل تک اتو آنالیزر (Tecator Kjeltac Auto 1030 Analyzer) انجام شد [15].

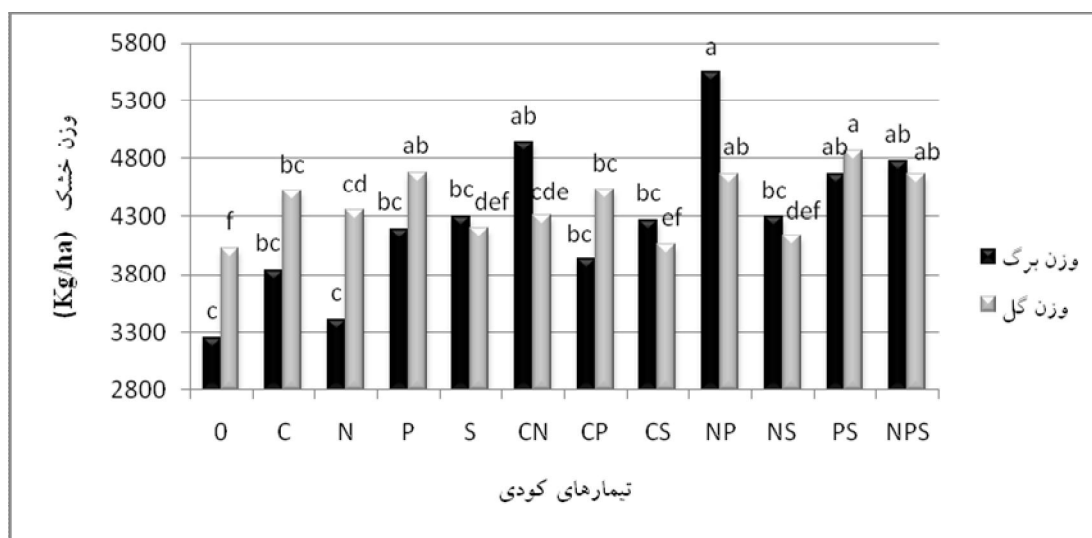
جدول شماره 1- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) عملکرد خشک اندام گیاهی سرخارگل تحت تأثیر تیمارهای مختلف کود زیستی و شیمیایی

منابع تغییر	درجه آزادی	عملکرد ریشه	عملکرد ساقه	عملکرد برگ	عملکرد گل	عملکرد بیولوژیک
تکرار	2	247184/49 ^{ns}	109411/24 ^{ns}	48943/19 ^{ns}	6941/581 ^{ns}	111718/77 ^{ns}
تیمار	11	849197/11*	260149/60*	1246712/57*	227430/634**	3169747/71*
خطای آزمایشی	22	382945/17	111285/76	424853/82	24099/229	790821/22
ضریب تغییرات		15/65	11/57	15/22	3/51	7/68

ns غیرمعنی دار، * و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال 5 و 1 درصد



شکل شماره 1- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر عملکرد ریشه و ساقه سرخارگل (C: نیتروژن شیمیایی؛ N: نیتروکسین؛ P: بیوفسفر و S: بیوسولفور)



شکل شماره 2- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر عملکرد خشک برگ و گل سرخارگل (C: نیتروژن شیمیایی؛ N: نیتروکسین؛ P: بیوفسفر و S: بیوسولفور)

تعداد شاخه جانبی (شکل شماره 5) و در نتیجه بالاترین وزن خشک برگ (شکل شماره 2) و عملکرد بیولوژیک (شکل شماره 3) حاصل شد. همچنین در صفات مهم دیگری مانند وزن خشک ریشه و ساقه (شکل شماره 1)، ارتفاع بوته، قطر گل و وزن خشک گل (شکل شماره 2) نیز به همراه تیمار برتر در یک گروه آماری قرار داشت.

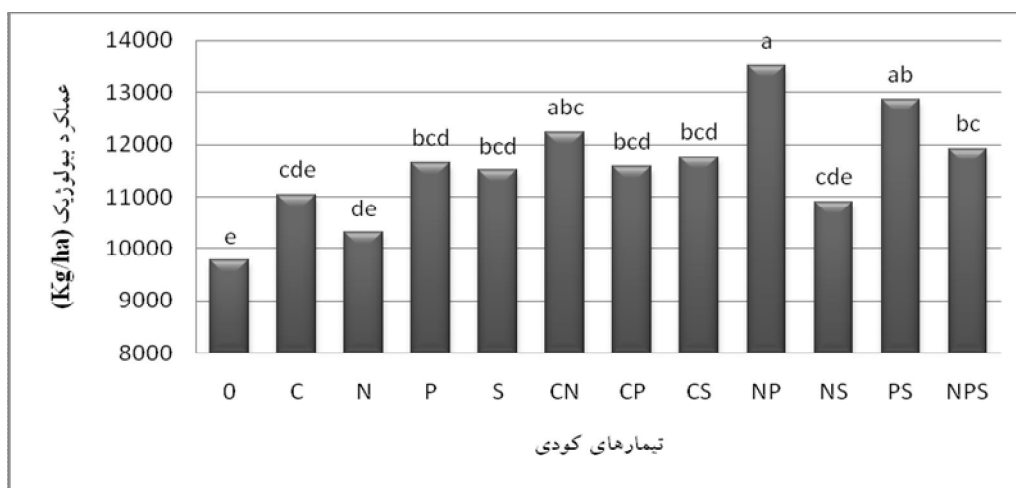
همچنین تیمارهای کودی بر عناصر معدنی گیاه مانند درصد نیتروژن و فسفر برگ در سطح آماری 5 درصد و درصد نیتروژن و فسفر ساقه و میزان فنول ریشه، اندام هوایی و میزان ترکیبات فنولی کل در سطح آماری 1 درصد تأثیر معنی‌داری داشتند (جدول شماره 3). سرخارگل در تیمار نیتروکسین + بیوفسفر (NP) دارای بیشترین نیتروژن برگ بوده و تیمار شاهد با کاهش 21 درصدی کم‌ترین نیتروژن برگ را به خود اختصاص داد. تیمار تلفیقی کودهای زیستی (نیتروکسین + بیوفسفر + بیوسولفور) دارای بیشترین درصد نیتروژن ساقه بوده که این تیمار با 20/41 درصد تفاوت با شاهد در بالاترین سطح قرار دارد و کم‌ترین درصد نیتروژن در تیمار شاهد می‌باشد (شکل شماره 7). بیشترین درصد فسفر برگ مربوط به تیمار نیتروکسین + بیوفسفر + بیوسولفور و کم‌ترین درصد فسفر برگ مربوط به تیمار نیتروکسین بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد. تیمار نیتروکسین + بیوفسفر + بیوسولفور سبب 39/03 درصد افزایش درصد فسفر نسبت به تیمار نیتروکسین شد. بیشترین درصد فسفر ساقه مربوط به تیمار نیتروکسین + بیوفسفر و کم‌ترین درصد فسفر ساقه با 32/62 درصد کاهش مربوط به تیمار بیوسولفور می‌باشد (شکل شماره 8).

تیمار کود شیمیایی نیتروژن + نیتروکسین دارای بیشترین میزان فنول اندام هوایی (4 میلی گرم در گرم ماده خشک) بوده که با کمترین میزان ترکیبات فنولی (0/6 میلی گرم در گرم ماده خشک) در تیمار بیوفسفر + بیوسولفور اختلاف معنی‌داری پیدا کرد (شکل شماره 9). بیشترین میزان ترکیبات فنولی ریشه (0/8 میلی گرم در گرم ماده خشک) مربوط به تیمار بیوفسفر + بیوسولفور و کم‌ترین میزان ترکیبات فنولی ریشه (0/31)

از طرف دیگر، کاربرد کودهای بیولوژیک نیتروکسین، بیوفسفر و بیوسولفور نسبت به تیمارهای کود شیمیایی و شاهد به طور معنی‌داری سبب افزایش عملکرد بیولوژیک (شکل شماره 3)، ارتفاع بوته، طول ریشه، قطر گل، ساقه، ریشه و تعداد شاخه‌های جانبی و گل در بوته سرخارگل شده‌اند (جدول شماره 2).

بالاترین ارتفاع سرخارگل مربوط به تیمار بیوفسفر و کم‌ترین با 25 درصد کاهش مربوط به تیمار کود شیمیایی نیتروژن بود. تیمار نیتروکسین + بیوفسفر (NP) بیشترین طول ریشه را تولید کرد و حداقل طول ریشه سرخارگل در تیمار تلفیقی کود شیمیایی نیتروژن و نیتروکسین با کاهش 20 درصدی نسبت به تیمار برتر به دست آمد. بیشترین قطر ساقه سرخارگل از تیمار نیتروکسین + بیوفسفر (NP) و کم‌ترین با 19/66 درصد کاهش مربوط به تیمار بیوفسفر می‌باشد (شکل شماره 4). بیشترین میانگین قطر گل مربوط به تیمار تلفیقی کود زیستی نیتروکسین + بیوفسفر + بیوسولفور و کم‌ترین میانگین با 20/86 درصد کاهش مربوط به کود شیمیایی نیتروژن بود. بیشترین تعداد شاخه جانبی سرخارگل مربوط به تیمار نیتروکسین + بیوفسفر و کود شیمیایی نیتروژن و کم‌ترین مربوط به تیمار بیوسولفور، کود شیمیایی نیتروژن و نیتروژن + بیوسولفور می‌باشد (شکل شماره 5). تیمار نیتروکسین + بیوفسفر و کود شیمیایی نیتروژن + بیوفسفر دارای افزایش 16/66 درصدی نسبت به تیمار بیوسولفور، کود شیمیایی نیتروژن و نیتروژن - بیوسولفور بوده است. بیشترین تعداد گل در بوته در تیمار کود شیمیایی نیتروژن + بیوفسفر (NP) و کم‌ترین تعداد گل در تیمار کود شیمیایی نیتروژن ملاحظه شد. تیمار کود شیمیایی نیتروژن + بیوفسفر دارای افزایش 24/79 درصدی نسبت به تیمار کود شیمیایی نیتروژن بوده و با بقیه تیمارها دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشد (شکل شماره 6).

بر این اساس تیمار نیتروکسین + بیوفسفر (NP) که در اکثر صفات گیاه سرخارگل بیشترین مقادیر را به خود اختصاص داده است به عنوان تیمار برتر در نظر گرفته می‌شود. در این تیمار، طول‌ترین ریشه و قطورترین ریشه و ساقه، بیشترین

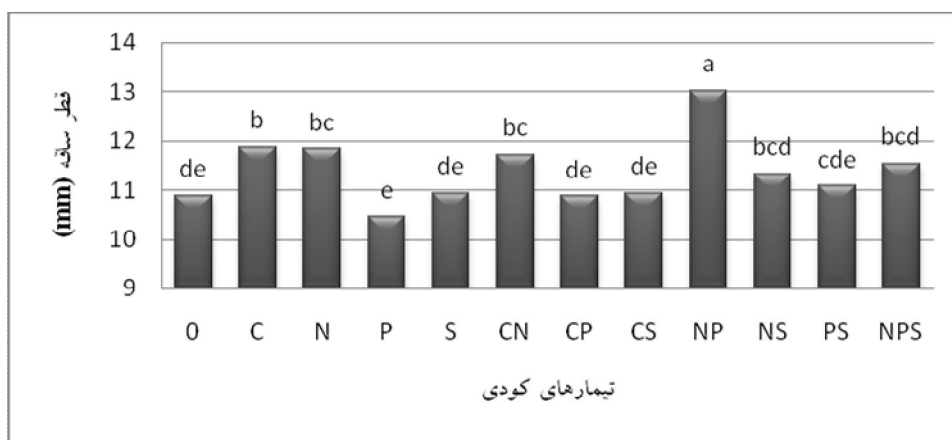


شکل شماره 3- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر عملکرد بیولوژیک سرخارگل (C: نیتروژن شیمیایی؛ N: نیتروکسین؛ P: یوسفور و S: بیوسولفور)

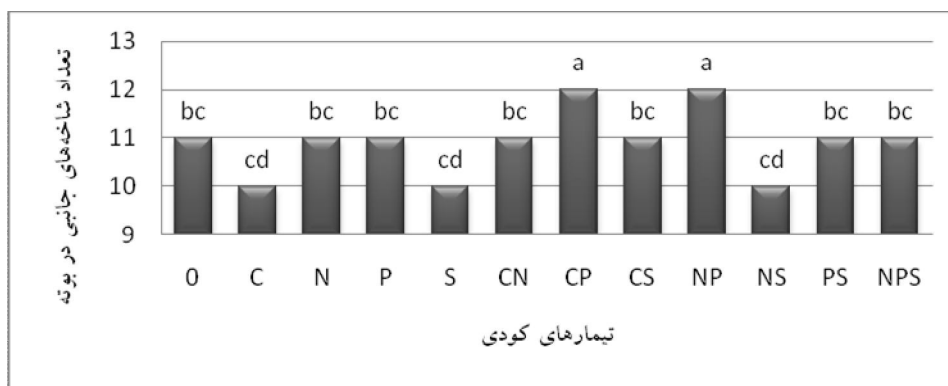
جدول شماره 2- تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات مورفولوژیک سرخارگل تحت تأثیر تیمارهای مختلف کود زیستی و شیمیایی

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	طول ریشه	قطر ساقه	قطر گل	تعداد شاخه‌های جانبی	تعداد گل
تکرار	2	14/07 ^{ns}	1046/46 ^{ns}	0/85*	36/52**	1/71 ^{ns}	1/75 ^{ns}
تیمار	11	56/01*	1385/68*	1/40**	12/85**	1/62*	24/21**
خطای آزمایشی	22	21/67	577/78	0/22	3/65	0/73	2/51
ضریب تغییرات		8/58	8/24	4/09	5/93	11/60	4/60

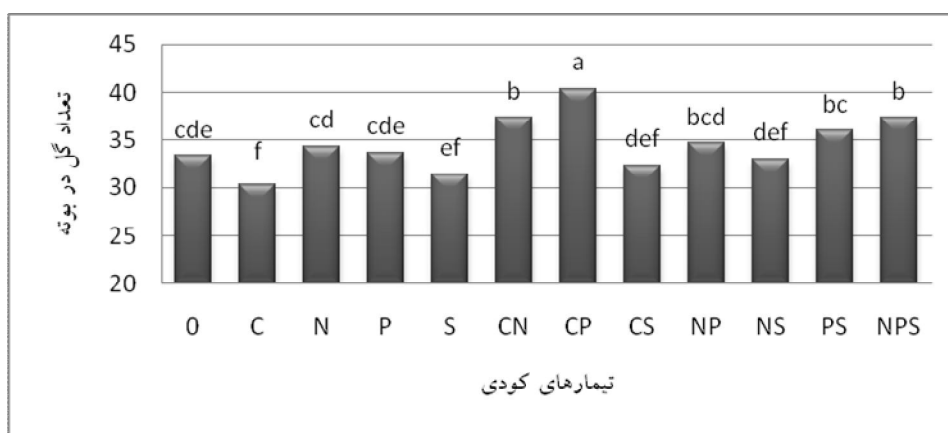
ns غیرمعنی‌دار، * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال 5 و 1 درصد



شکل شماره 4- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر قطر ساقه سرخارگل (C: نیتروژن شیمیایی؛ N: نیتروکسین؛ P: یوسفور و S: بیوسولفور)



شکل شماره 5- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر تعداد شاخه‌های جانبی سرخارگل (C: نیتروژن شیمیایی؛ N: نیتروکسین؛ P: بیوفسفر و S: بیوسولفور)

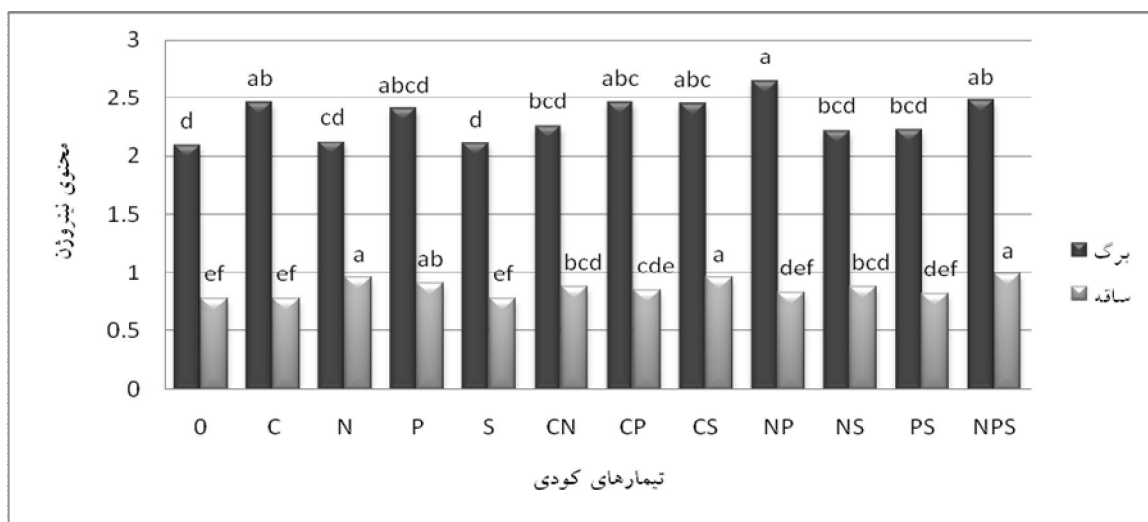


شکل شماره 6- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر تعداد گل سرخارگل (C: نیتروژن شیمیایی؛ N: نیتروکسین؛ P: بیوفسفر و S: بیوسولفور)

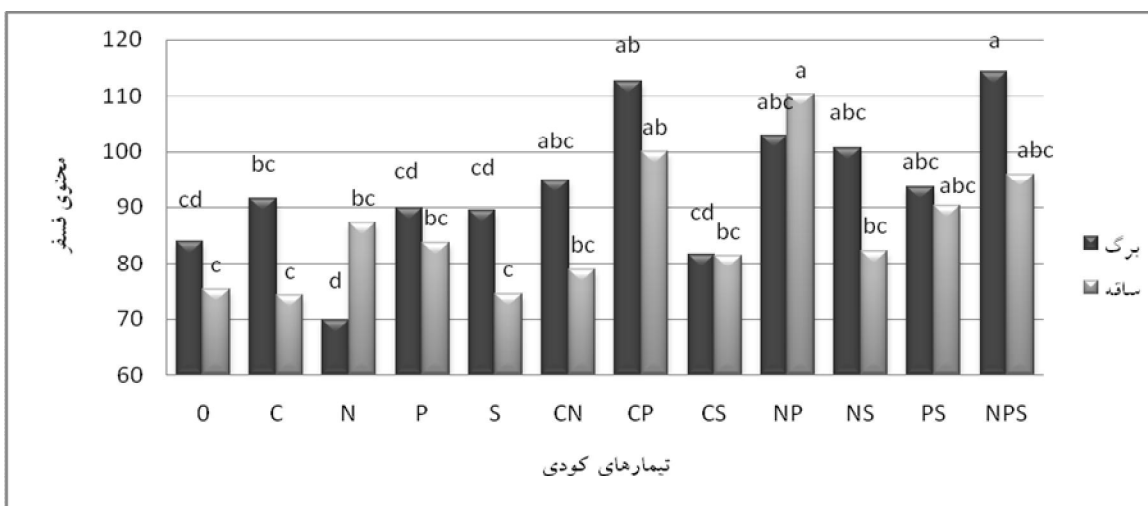
جدول شماره 3- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) محتوی نیتروژن و فسفر در برگ و ساقه و میزان فنول تام سرخارگل تحت تأثیر تیمارهای مختلف کود زیستی و شیمیایی نیتروژن

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوی نیتروژن برگ	محتوی نیتروژن ساقه	محتوی فسفر برگ	محتوی فسفر ساقه	میزان فنول اندام هوایی	میزان فنول ریشه	میزان فنول کل
تکرار	2	0/005 ^{ns}	0/028 **	1057/05*	863/88**	0/6964**	0/0060 ^{ns}	0/62**
تیمار	11	0/09*	0/016 **	484/08**	374/63*	4/5119**	0/0622**	4/07**
خطای آزمایشی	22	0/04	0/001	160/07	170/52	0/0598	0/0047	0/05
ضریب تغییرات		8/54	5/08	13/50	15/15	10/25	13/38	7/79

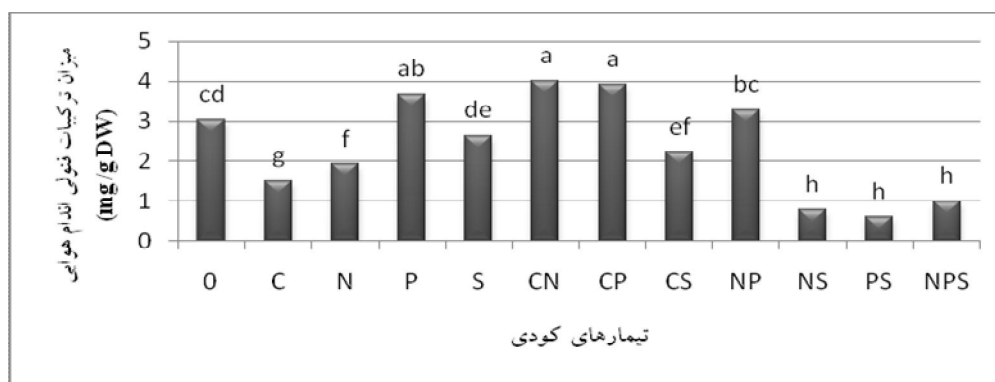
ns غیر معنی‌دار، * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال 5 و 1 درصد



شکل شماره 7- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر محتوی نیتروژن برگ و ساقه سرخارگل (C: نیتروژن شیمیایی؛ N: نیتروکسین؛ P: بیوفسفر و S: بیوسولفور)



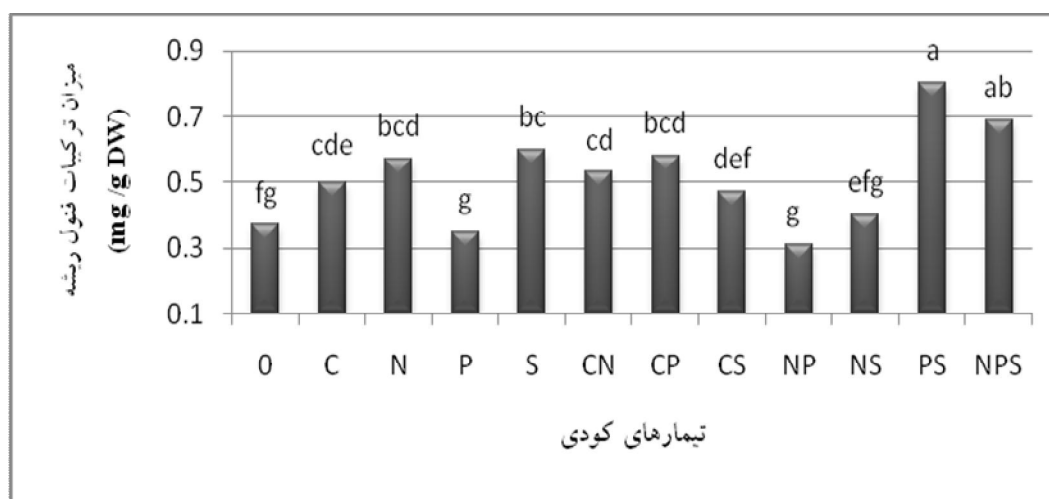
شکل شماره 8- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر محتوی فسفر برگ و ساقه سرخارگل (C: نیتروژن شیمیایی؛ N: نیتروکسین؛ P: بیوفسفر و S: بیوسولفور)



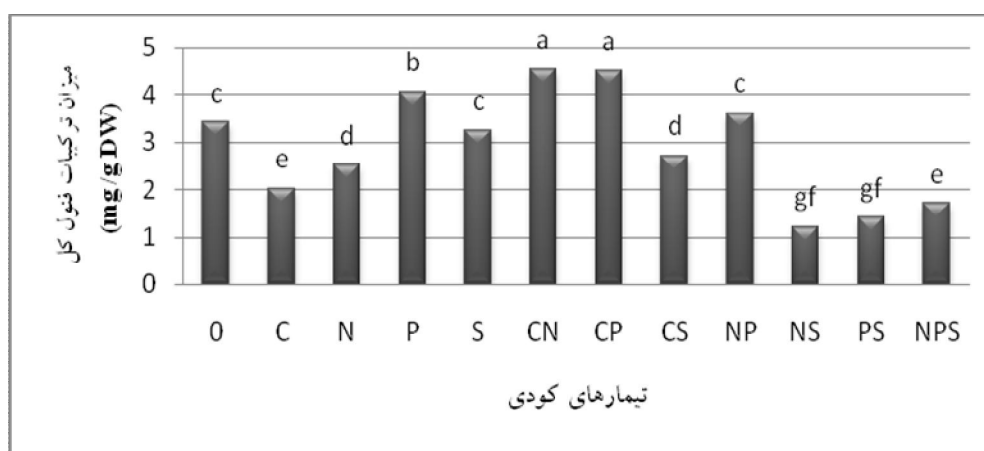
شکل شماره 9- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر میزان ترکیبات فنولی اندام هوایی سرخارگل (C: نیتروژن شیمیایی؛ N: نیتروکسین؛ P: بیوفسفر و S: بیوسولفور)

نیتروکسین و کم‌ترین میزان ترکیبات فنولی کل (1/2 گرم در صد گرم ماده خشک) مربوط به تیمار نیتروکسین + بیوسولفور بود. تیمار کود شیمیایی نیترژن + نیتروکسین سبب 73/53 درصد افزایش ترکیبات فنولی کل نسبت به نیتروکسین + بیوسولفور شد (شکل شماره 11).

میلی گرم در گرم ماده خشک) مربوط به تیمار نیتروکسین + بیوفسفر بود. تیمار بیوفسفر + بیوسولفور سبب 61/25 درصد افزایش ترکیبات فنولی ریشه نسبت به نیتروکسین - بیوفسفر شد (شکل شماره 10).
بیشترین میزان ترکیبات فنولی کل (4/5 گرم در صد گرم ماده خشک) مربوط به تیمار کود شیمیایی نیترژن +



شکل شماره 10- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر میزان ترکیبات فنولی ریشه سرخارگل (C: نیترژن شیمیایی؛ N: نیتروکسین؛ P: بیوفسفر و S: بیوسولفور)



شکل شماره 11- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر میزان ترکیبات فنول کل سرخارگل (C: نیترژن شیمیایی؛ N: نیتروکسین؛ P: بیوفسفر و S: بیوسولفور)

بحث

صفات کمی

وزن ریشه و اندام هوایی رویشی: تیمار نیتروکسین + بیوسففر + بیوسولفور (NPS) بیشترین وزن خشک ریشه (افزایش 31/96 درصدی نسبت به تیمار کود شیمیایی نیتروژن + بیوسولفور) و وزن خشک ساقه شد. از آنجا که کود زیستی بیوسولفور حاوی مجموعه‌ای از مؤثرترین میکروارگانیزم‌های اکسیدکننده گوگرد (تیوباسیلوس) است با مصرف توأم این کود با گوگرد شیمیایی، گوگرد توسط باکتری‌های موجود در کود بیوسولفور اکسید و اسید سولفوریک تولید می‌شود و در نتیجه pH محیط ریشه کاهش و قابلیت دسترسی عناصر به ویژه فسفر، آهن و روی افزایش می‌یابد [19]. بنابراین به نظر می‌رسد که کود زیستی بیوسولفور با کاهش pH خاک در بهینه‌سازی تغذیه گیاه سرخارگل و در نتیجه افزایش رشد ریشه نقش مثبت و مؤثری داشته است.

باکتری‌های موجود در کود زیستی نیتروکسین علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا و متعادل کردن جذب عناصر پرمصرف و ریز مغذی مورد نیاز گیاه، ترشح اسیدهای آمینه و انواع آنتی‌بیوتیک، سیانید هیدروژن و سیدروفور را نیز بر عهده دارند و موجب رشد و توسعه ریشه و قسمت‌های هوایی گیاهان می‌شود. بشارتی و صالح راستین [17] اظهار داشتند که استفاده از مایه تلقیح تیوباسیلوس همراه با مصرف گوگرد در خاک، وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی، میزان pH خاک و جذب فسفر توسط بوته‌های ذرت را به طور معنی‌داری بهبود می‌بخشد، بنابراین احتمال دارد جمعیت کافی از میکروارگانیزم‌های اکسیدکننده گوگرد در خاک از جمله تیوباسیلوس موجب افزایش حلالیت عناصر غذایی و در نتیجه بهبود رشد سرخارگل شده باشد. افزایش احتمالی جیبرلین‌ها تحت تأثیر کودهای زیستی را می‌توان سبب افزایش رشد طولی سلول‌ها دانست [18]؛ و بدین ترتیب این باکتری‌ها می‌توانند در افزایش ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد برگ، وزن خشک بخش‌های مختلف گیاه و در نتیجه تولید بیشتر محصول مؤثر

باشند. نتایج تحقیق یوسف و همکاران [19] حاکی از آن است که مصرف کود زیستی (حاوی آزوسپیریوم و ازتوباکتر) در گیاه دارویی مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.)، سبب افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه شده است. یافته‌های کوچکی و همکاران [1] از کاربرد کودهای زیستی در گیاه دارویی زوفا مؤید این بخش از نتایج می‌باشد.

مقایسه میانگین تیمارها (جدول شماره 1) نشان داد که بیشترین وزن خشک برگ مربوط به تیمار نیتروکسین - بیوسففر و کم‌ترین مقدار وزن خشک با کاهشی 41/42 درصدی از تیمار شاهد به دست آمد. با توجه به ساز و کارهای تأثیر باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد بر ویژگی‌های گیاهی چنین به نظر می‌رسد که این باکتری‌ها با تولید هورمون‌های تحریک‌کننده رشد گیاه و نیز تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر و سایر عناصر، فتوسنتز و تجمع ماده خشک گیاه را تحت تأثیر قرار داده، از جمله موجب افزایش وزن خشک برگ می‌شوند. رحیم‌زاده و همکاران [20] روی گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L) به نتایج مشابهی دست یافتند.

وزن خشک گل: سرخارگل تحت تیمار بیوسففر + بیوسولفور (PS) با 17/23 درصد افزایش نسبت به شاهد بیشترین وزن خشک گل را تولید کرد. به نظر می‌رسد میکروارگانیزم‌های حل‌کننده فسفات از طریق افزایش حلالیت فسفر در فسفات‌های معدنی کم محلول نظیر سنگ فسفات، یا از طریق تولید آنزیم‌های فسفاتاز، سبب آزاد شدن فسفر از ترکیبات آلی [21] شده و موجب بهبود رشد و نمو سرخارگل شده باشند. این یافته با نتایج سانچز گوین و همکاران [6] مطابقت دارد، وی گزارش کرد که کاربرد کودهای بیولوژیک در گیاهان دارویی بابونه و همیشه‌بهار باعث افزایش عملکرد گل شد.

عملکرد بیولوژیک: تأثیر معنی‌دار تیمارها بر عملکرد بیولوژیک سرخارگل را این‌گونه می‌توان توجیه نمود که باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد موجود در نیتروکسین و بیوسففر با تسهیل اختصاص ماده خشک بیشتر به بوته سبب افزایش رشد

رویشی و در نتیجه فراهم سازی امکان بهره برداری بهتر از نور و فتوستنتز بیشتر و در نهایت افزایش رشد و نمو می شوند.

باکتری های ریزوسفری افزاینده رشد گیاه موجود در کود زیستی نیتروکسین + بیوفسفر (ازتوباکتر و آزوسپیریوم و سودوموناس) علاوه بر تثبیت نیتروژن باعث آزادسازی هورمون های گیاهی از جمله اسیدجبرلیک و اکسین می شوند [22]. در این شرایط رشد ریشه و دسترسی و جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن و فسفر [21] افزایش می یابد که در نهایت باعث افزایش ارتفاع، تعداد گل در بوته و بیوماس شده است. این یافته با نتایج محفوظ و شرف الدین [23] و عبدالعزیز و همکاران [24] روی رزماری مطابقت دارد. خرم دل و همکاران [25] نیز گزارش کردند که تلقیح گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) با ازتوباکتر، آزوسپیریوم و میکوریزا، سبب افزایش عملکرد بیولوژیک شد.

ارتفاع و قطر ساقه و ریشه: تیمار بیوفسفر و تیمار نیتروکسین + بیوفسفر (NP) به ترتیب بیشترین طول و قطر ساقه و ریشه را ایجاد کردند. این در حالیست که کوتاه ترین طول ساقه مربوط به تیمار کود شیمیایی نیتروژن بود و کوتاه ترین طول ریشه سرخارگل در تیمار تلفیق کود شیمیایی نیتروژن و نیتروکسین با کاهش 20 درصدی نسبت به تیمار برتر به دست آمد. با توجه به این واقعیت که جبرلین ها در رشد طولی سلول ها به ویژه میانگروه های ساقه و اکسین و سایتوکینین ها در تقسیم سلولی نقش دارند، از این رو می توان اذعان داشت که کودهای زیستی مورد استفاده با تولید هورمون های مزبور احتمالاً سبب افزایش ارتفاع بوته، قطر ساقه و طول ریشه شده اند. نتیجه مطالعه رایتی و همکاران [26] روی گیاه دارویی علف لیمو (*Cymbopogon* spp.) با این استدلال همسویی دارد. نتایج تحقیق یوسف و همکاران [19] نیز حاکی از آن است که مصرف کود زیستی در گیاه دارویی مریم گلی، سبب افزایش ارتفاع بوته شده است. از سوی دیگر کلی و همکاران [27] گزارش کردند که باکتری های متعلق به جنس سودوموناس، آنزیم آمینوسیکلوپروپان-1-کربوکسیلات دی آمیناز تولید می کنند که بلافاصله

آمینوسیکلوپروپان-1-کربوکسیلات را به پیش ماده اتیلن برای ساخت آمونیاک و آلفاکتوتیرات تجزیه می کند. کاهش غلظت آمینوسیکلوپروپان-1-کربوکسیلات درون گیاه باعث کاهش مقدار اتیلن تولید شده در گیاه و به دنبال آن سبب کاهش اثر بازدارندگی اتیلن بر طولی شدن ریشه و هدایت به سمت طولی شدن ریشه می شود [28].

قطر گل: برتری 20/86 درصدی تیمار کود زیستی نیتروکسین + بیوفسفر + بیوسولفور از نظر قطر گل نسبت به تیمار کود شیمیایی نیتروژن را می توان به تلفات چشمگیر نیتروژن شیمیایی در اثر تصعید و آب شویی نسبت داد که با نتایج محققان دیگر مطابقت دارد [29]. ملکوتی [30] نیز اظهار داشته که در هنگام استفاده از کودهای شیمیایی چنانچه بافت خاک سبک باشد (مانند مزرعه محل اجرای آزمایش حاضر) امکان آب شویی یون های نترات از منبع کودی بیشتر می شود. فلاحی و همکاران [11] در بررسی اثر کودهای زیستی بر صفات مورفولوژیک بابونه آلمانی به نتایج مشابهی دست یافتند. دهقانی و همکاران [31] در تحقیقی روی گیاه دارویی بابونه معطر (*Matricaria recutita* L.) دریافتند که کم ترین قطر کاپیتول در تیمار کود شیمیایی مشاهده شد.

تعداد شاخه های جانبی و گل: برتری تیمار نیتروکسین + بیوفسفر در این صفات به افزایش بیوماس میکروبی خاک و تولید تنظیم کننده های رشد گیاه و نیز فراهمی جذب بیشتر عناصر غذایی به ویژه نیتروژن و فسفر در این تیمار مربوط می شود. در این شرایط افزایش میزان فتوستنتز، رشد و تعداد شاخه ها و در نتیجه افزایش تعداد گل دور از انتظار نیست. در همین راستا بررسی شالان و همکاران [32] نشان داد که مصرف کودهای زیستی نظیر ازتوباکتر، آزوسپیریوم و سودوموناس به افزایش تعداد شاخه جانبی و تعداد کپسول در گیاه دارویی سیاهدانه منجر می شود. در همین رابطه نباید از نقش فسفر در گلدهی غافل شد. هر عاملی که باعث افزایش معنی دار فسفر خاک شود در گلدهی مؤثر است [33]. بنابراین افزایش فسفر از طریق افزایش اندام های زایشی می تواند باعث افزایش تعداد گل شود.

عناصر معدنی گیاه

نیتروژن برگ و ساقه: تیمار نیتروکسین + بیوفسفر (NP)

بیشترین نیتروژن برگ و تیمار نیتروکسین - بیوفسفر - بیوسولفور (NPS) بیشترین درصد نیتروژن ساقه در سرخارگل را به خود اختصاص دادند. از جمله دلایل قابل ذکر در این زمینه می‌توان به افزایش میزان نیتروژن خاک در اثر فعالیت باکتری‌ها و همچنین توسعه سطح ریشه برای جذب نیتروژن از خاک اشاره نمود که موجب بالا رفتن میزان نیتروژن برگ و ساقه گیاه شده است. بیاری و همکاران [34] افزایش نیتروژن دانه، ساقه و برگ ذرت را در اثر کاربرد کودهای زیستی باکتریایی گزارش کردند. همچنین شستشوی نیتروژن و به دنبال آن کاهش مقدار نیتروژن جذب شده توسط گیاه در سیستم تغذیه شیمیایی از عوامل کاهش درصد نیتروژن ساقه در تیمار مربوطه به حساب می‌آید.

فسفر برگ و ساقه: بیشترین درصد فسفر برگ مربوط به

تیمار نیتروکسین + بیوفسفر + بیوسولفور (NPS) و بیشترین درصد فسفر ساقه مربوط به تیمار نیتروکسین + بیوفسفر (NP) بود. یافته‌های کابلو و همکاران [35] در گیاه دارویی نعنای، درباره مصرف میکروارگانیزم‌های حل کننده فسفات روی غلظت فسفر در گیاه، نیز مؤید این نتیجه‌گیری می‌باشد. عمر [36] دریافت که کاربرد قارچ‌های حل کننده فسفات شامل *Aspergillus niger* و *Penicillium citrinum* در حضور سنگ فسفات موجب افزایش معنی‌دار غلظت فسفر بوته گندم نسبت به تیمار شاهد شد. او کاربرد میکروارگانیزم‌های حل‌کننده فسفات همراه با سنگ فسفات را ضامن افزایش حلالیت فسفر و فراهمی مناسب آن برای گندم دانسته است. در این باره سینگ و کاپور [37] نیز مشاهده کردند که کاربرد یک گونه باکتری و یک گونه قارچ حل کننده فسفات سبب افزایش محسوس غلظت فسفر در گیاه ماش سبز در مقایسه با شاهد شد. کاربرد باکتری حل کننده فسفات به نام *Bacillus polymyxa* همراه با مصرف سنگ فسفات معدنی در محیط رشد علف لیمو (*Cymbopogon spp.*) غلظت فسفر در ساقه و نیز وزن خشک گیاه را افزایش داد [26].

ترکیبات فنولی اندام هوایی

بیشتر بودن میزان فنول در تیمار کود شیمیایی نیتروژن + نیتروکسین ممکن است به دلیل فراهمی بیشتر نیتروژن در این سیستم تغذیه‌ای باشد. در تحقیقی دیگر [38] افزایش در میزان نیتروژن و فسفر سبب افزایش ترکیبات فنولی در گیاه (*Athrixia phylicoides* L.) شد. همچنین در گزارش‌های دیگر، افزایش میزان نیتروژن، سبب افزایش عملکرد و ترکیبات فنولی در مقایسه با سطح صفر نیتروژن شده است [39].

توجه به سایر مکانیسم‌های احتمالی سودمندی کودهای زیستی می‌تواند برتری تیمار NP (نیتروکسین + بیوفسفر) در تحقیق حاضر را بهتر توجیه نماید. به طور مثال کودهای زیستی علاوه بر افزایش جذب عناصر غذایی در گیاه، با بیوستز هورمون‌های گیاهی، کنترل پاتوژن‌های گیاهی و همچنین برخی مکانیسم‌های دیگر سبب بهبود رشد و عملکرد گیاه می‌شوند. در مجموع نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که می‌توان تأثیر کودهای زیستی بر بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی سرخارگل امیدوار بود و این مسأله در مطالعات اندکی که در مورد این کودها بر گیاهان دارویی صورت گرفته است نیز تأیید شده است. زهیر و همکاران [40] تولید اسید ایندول - 3 - استیک را به وسیله سویه‌های مختلف باکتری‌های جنس ازتوباکتر و فولچیری و همکاران [41] تولید انواع اکسین، اسیدجیرلیک و اسیدایزوجیرلیک را توسط آزوسپیریلوم مسئول افزایش قابل ملاحظه رشد و نمو گیاه دانستند. جیرلین‌ها سبب افزایش رشد طولی ساقه‌ها شده و اکسین‌ها تقسیم سلولی را افزایش می‌دهند [18] و بدین ترتیب این باکتری‌ها می‌توانند در افزایش ارتفاع بوته، قطر ساقه و کاپیتول، تعداد برگ، وزن خشک بخش‌های مختلف گیاه و در نتیجه تولید بیشتر محصول مؤثر باشند. در آزمایشی مشابه فاتما و همکاران [42] که روی اثر کودهای بیولوژیک ازتوباکتر، آزوسپیریلیوم و باکتری‌های حل کننده فسفات بر گیاه دارویی مرزنجوش (*Majorana hortensis*) انجام دادند، بیان نمودند که کودهای بیولوژیک می‌توانند به جای کودهای معدنی نیتروژن و فسفر مورد استفاده قرار گیرند تا ضمن کاهش هزینه‌های تولید ناشی

عملکرد بیولوژیک را تولید کرد. این تیمار از لحاظ وزن خشک ریشه و ساقه، ارتفاع بوته، قطر گل و وزن خشک گل نیز به همراه تیمار برتر در یک گروه آماری قرار داشت. قابلیت استفاده تمام پیکر رویشی سرخارگل برای استخراج عصاره و مواد مؤثره دارویی از یک سو و عدم کاربرد کود شیمیایی در این تیمار که زمینه‌ساز پایداری خاک و سلامتی بوم نظام زراعی در درازمدت می‌باشد از سوی دیگر انتخاب این شیوه تغذیه‌ای به عنوان تیمار برتر را موجه می‌نماید.

از مصرف این قبیل کودها از آسیب وارد شدن به محیط زیست به ویژه در اثر نیتروژن به شکل نیتراتی جلوگیری به عمل آید.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج تیمار نیتروکسین + بیوفسفر (NP) به عنوان تیمار برتر در این آزمایش معرفی می‌شود. سرخارگل تحت تأثیر این توصیه کودی، طویل‌ترین ریشه و قطورترین ریشه و ساقه، بیشترین تعداد شاخه جانبی، بالاترین وزن خشک برگ و

منابع

1. Koocheki A, Tabrizi L and Ghorbani R. Effect of biofertilizers on agronomic and quality criteria of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Iranian J. Field Crops Res.* 2008; 6 (1): 127 - 37. (In Persian).
2. Gladisheva ON. Experimental studies on production and processing technology, and establishment of raw material uses and seed plantation of *E. Purpurea* under samara region, Russian Acad. Agr. Sci. 1995, p: 214 – 3.
3. Sharifi Z and Haghnia GH. Effect of Nitroxin biofertilizer application on grain yield and yield components of wheat (*Cv Sabalan*). Proceedings of the 2nd National Conference on Agroecology in Iran, Gorgan, Iran. 2007, pp: 123.
4. Moallem A and Eshghizadeh HR. The use of biological fertilizers: benefits and limitations. Proceedings of the 2nd National Conference on AgroEcology in Iran, Gorgan, Iran. 2007; Pp.National Conference of Iranian ecology. Gorgan. 2007, pp: 47.
5. Wu SC, Cao ZH, Li ZG, Cheung KC and Wong MH. Effects of biofertilizers containing N-fixer, P and K solubilizer and AM fungi on maize growth: a greenhouse trail. *Geoderma* 2005; 125: 155 - 66.
6. Sanches Govin E, Rodrigues Gonzales H and Carballo Guerra C. Influencia 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* 2005; 10 (1): 1.
7. Darzi MT. Effects of biofertilizers application on qualitative and quantitative yield of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill) in order to reach to a sustainable agroecosystem. Thesis Submitted for the Degree of Philosophy (Ph.D.) in Agronomy. Tarbiat Modares University. 2007.
8. Vital WM, Teixeira NT, Shigihara R and Dias AFM. Organic manuring with pig biosolids with applications of foliar biofertilizers in the cultivation of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Ecossistema*. 2002; 27: 69 - 70.
9. Leithy S, El-Meseiry TA and Abdallah EF. Effect of biofertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on Rosemary herbage oil yield and quality. *J. Applied Res.* 2006; 2: 773 - 9.
10. Omidi H, Naghdibadi H, Golzar A, Torabi H and Fotukiyani MH. The Effect of chemical and biofertilizer source of nitrogen on qualitative and quantitative yield of Saffron (*Crocus sativus* L.). *J. Medicinal Plants* 2009; 8 (30): 98 - 109.
11. Fallahi, J, Koocheki A and Rezvani-Moghaddam P. Effects of biofertilizers on quantitative and qualitative yield of chamomile (*Matricaria recutita*) as a medicinal plant. *Iranian*

- J. Field Crops Res.* 2009; 7 (1): 127 - 135. (In Persian).
12. Chandrasekar BR, Ambrose G and Jayabalan N. Influence of biofertilizers and nitrogen source level on the growth and yield of *Echinochloa frumentacea* (Roxb) Link. *J. Agricultural Technol.* 2005; 1 (2): 223 - 34.
 13. Pereira JA, Oliveira I, Sousa A, Valentao P, Andrade PB, Ferreira ICFR, Ferreres F, Bento A, Seabra R and Estevinho L. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: phenolic compounds, antimicrobial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicol.* 2007; 45 (11): 2287 - 95.
 14. Jakopic J, Colaric M, Veberic R, Hudina M, Solar A and Stampar F. How much do cultivar and preparation time influence on phenolics content in walnut liqueur?. *Food Chemistry* 2007; 104 (1): 100 - 5.
 15. AOAC. Official Method of Analysis. 15th Edn., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC., USA 1990.
 16. Hajimehdipoor H, Khanavi M, Shekarchi M, Abedi Z and Pir Ali Hamedani M. Investigation of the Best Method for Extraction of Phenolic Compounds from *Echinaceae purpurea* L. (Moench). *Journal of Medicinal Plants.* 2009; 8 (32): 145 - 52.
 17. Besharati H and Saleh Rastin N. Effect of sulphure application and Thiobacillus bacteria inoculation on Fe and Zn absorption by corn under greenhouse condition. *Iranian Journal of Soil and Water Science* (special issue soil microbiology). 2000, Vol. 12 No. 7. Soil and Water Research Institute. Tehran, Iran.
 18. Vessey JK. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. *Plant and Soil.* 2003; 255: 271 - 86.
 19. Youssef AA, Edris AE and Gomaa AM. 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 Sci.* 2004; 9: 299 - 311.
 20. Rahimzadeh S, Sohrabi Y and Heidari GH. Effect of biofertilizers application on yield and essential oil of Dragonhead (*Dracocephalum Moldavica* L.). Master of Science Thesis in Agronomy Faculty of Agriculture. Islamic Azad University Karaj Branch. 101 p.
 21. Sharma AK. Biofertilizers for sustainable agriculture. Agrobios, India. 2002, pp: 407.
 22. Vikram A, Hamzehzarghani H, Al-Mughrabi KI, Krishnaraj PU and Japadeesh KS. Interaction between *Pseudomonas fluorescens* FPD-15 and *Bradyrhizobium* spp. In peanut. *Biotechnol.* 2007; 6: 292 - 8.
 23. Mahfouz SA and Sharaf-Edin MA. Effect of mineral vs. Biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) *Int. Agrophysics.* 2007; 21: 361 - 6.
 24. Abdelaziz M, Pokluda R and Abdelwahab M. Influence of compost, microorganism and NPK fertilizer upon growth, chemical composition and essential oil production of *Rosmarinus officinalis* L. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca.* 2007; 35: 86 - 90.
 25. Khorramdel S, Koocheki AR, Nassiri-Mahallati M and Ghorbani R. Effects of biofertilizers application on growth indices of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Iranian J. Field Crops Res.* 2008; 6 (2): 285 - 294. (In Persian with English Summary).
 26. Ratti N, Kumar S, Verma HN and Goutam SP. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. Motia by rhizobacteria, AMF and Azospirillum inoculation. *Microbiological Res.* 2001; 156: 145 - 9.
 27. Klee HJ, Hayford MB, Kretzmer KA, Barry GF and Krishore G.M. Control of ethylene synthesis by expression of a bacterial enzyme in transgenic tomato plants. *Plant Cell* 1991; 3: 1187 - 93.

28. Cartieaux FP, Nussaume L and Robaglia C. Tales from the underground: molecular plant-rhizobacteria interactions. *Plant Cell and Environment* 2003; 26: 189 - 9.
29. Parvizi U and Rownaghi A. Effect of nitrogen and manganese on availability of some soil nutrients, under different plants. *J. Science and Technology of Agriculture and Natural Resources* 2002; 6 (1): 93 – 104.
30. Malakouti MJ. Sustainable agriculture and yield increase through balanced fertilization. Publications of Agricultural Research, Education & Extension Organization (AREEO). 1996, pp: 79.
31. Dehghani M, Naghdibadi H and Darzi MT. The Effect of biological and chemical fertilizers on quantitative and qualitative yield of Shirazian chamomile (*Matricaria recutita* L.), *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 2011; 10 (1) 35 - 48.
32. Shaalan MN. 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.
33. Taiz L and Zeiger E. Plant physiology. Sinauer Associates Publisher, 2000, pp: 705.
34. Biyari A, Gholami A and Asadi Rahmani H. Sustainable production and improvement of nutrient absorption by maize in response to seed inoculation by PGPR. Proceedings of the 2nd National Conference on Agroecology in Iran, Gorgan, Iran. 2007, p: 8.
35. Cabello M, Irrazabal G, Bucsinszky AM, Saparrat M and Schalamuk S. Effect of arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae*, and a rock-phosphate-solubilizing fungus, *Penicillium thomii*, on *Mentha piperita* growth in a soilless medium. *J. Basic Microbiol.* 2005; 45 (3): 182 - 9.
36. Omar SA. The role of rock-phosphate-solubilizing fungi and vesicular arbuscular mycorrhiza (VAM) in growth of wheat plants fertilized with rock phosphate. *World Journal of Microbiology and Biotechnol.* 1998; 14: 211 - 8.
37. Singh S and Kapoor KK. Inoculation with phosphate-solubilizing microorganisms and a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biol Fertil Soils* 1999; 28: 139 - 42.
38. Fhatuwani N. Mudau. Effects of Nitrogen, Phosphorus, and Potassium Nutrition on Total Polyphenol Content of Bush Tea (*Athrixia phylicoides* L.) Leaves in Shaded Nursery Environment. *Hortscience* 2007; 42 (2): 334 – 8.
39. Rooster DE, Snyman JC, Smith BL, Fourie PF, De Villiers AE, Willers P and Schwartz A. Tea cultivation in South Africa. *Tea* 1985; 1: 1 – 7.
40. Zahir ZA, Arshad M and Frankenberger WF. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy* 2004; 81: 97 - 168.
41. Fulchieri M, Lucangeli C, and Bottini R. Inoculation with *Azospirillum* affects growth and gibberellins status of corn seedling roots. *Plant Cell Physiol.* 1993; 34: 1305 - 9.
42. Fatma EM, El-Zamik I, Tomader T, El-Hadidy HI, Abd El-Fattah L and Seham Salem H. Efficiency of biofertilizers, organic and inorganic amendments application on growth and essential oil of marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous. Agric. Microbiology Dept., Faculty of Agric., Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Dept., Desert Research Center, Cairo, Egypt. 2006.