

بررسی اثر کاربردی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و تراکم بوته بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی *Anethum graveolens* L.

یاشار حبیبی^۱، محمدتقی درزی^{۲*}

^۱ کارشناس ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

^۲ دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۲۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۲

چکیده

به منظور مطالعه اثر کاربردی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و تراکم بوته بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی شویید (*Anethum graveolens* L.)، آزمایشی به صورت فاکتوریل دو عاملی با استفاده از عوامل باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن شامل مخلوطی از ازتوباکتر و آزوسپیریلوم (عدم تلقیح، تلقیح با بذر، محلول پاشی بر روی بوته در مرحله ساقه رفتن و تلقیح با بذر + محلول پاشی بر روی بوته در مرحله ساقه رفتن) و تراکم بوته (۱۲/۵، ۱۶/۷ و ۲۵ بوته در متر مربع) در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با دوازده تیمار و سه تکرار در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن در سال ۱۳۸۹ مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین میزان اسانس (۲/۵ درصد)، عملکرد اسانس (۶۷/۹ کیلوگرم در هکتار) و درصد کارون اسانس (۵۲/۳۴ درصد) در تیمار تلقیح با بذر همراه با محلول پاشی بر روی بوته در مرحله ساقه رفتن حاصل گردید. تراکم بوته نیز دارای تأثیر معنی‌داری بر روی صفات مورد بررسی بجز میزان اسانس بود، به‌طوری‌که بیشترین عملکرد اسانس (۷۲/۶ کیلوگرم در هکتار) و درصد دیل آپپول در اسانس (۹/۶۷ درصد) در تراکم ۲۵ بوته در مترمربع و نیز بیشترین درصد کارون در اسانس (۵۲/۷۴ درصد) در تراکم ۱۶/۷ بوته در متر مربع بدست آمد. طبق نتایج حاصله، تیمار شامل مصرف دو بار باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و استفاده از تراکم ۲۵ بوته در مترمربع، بهترین نتیجه را داشته است.

واژه‌های کلیدی: آزوسپیریلوم، ازتوباکتر، اسانس، تراکم بوته، دیل آپپول، شویید، کارون.

شوید (*Anethum graveolens* L.) گیاهی است علفی، معطر و یکساله از تیره چتریان که بومی کشورهای مدیترانه‌ای و جنوب شرق اروپا می‌باشد. پیکره رویشی و دانه این گیاه حاوی اسانس بوده که دانه از اسانس بیشتری برخوردار است و اندام اصلی حاوی اسانس محسوب می‌شود. ترکیبات عمده اسانس دانه شوید شامل کارون و لیمونن هستند. در صنایع داروسازی از اسانس آن به‌عنوان مدر، ضد دل درد، ضد نفخ، ضد سوءهاضمه و ضد چربی خون استفاده می‌شود. امروزه از اسانس شوید به‌دلیل خاصیت ضد باکتریایی که دارد، به‌طور فراوان در صنایع غذایی و نوشابه سازی نیز استفاده می‌گردد (Omidbaigi, 2000; Bailer et al., 2001; Singh et al., 2007; Callan et al., 2007). بکارگیری کودهای بیولوژیک در کشاورزی پایدار از محاسن فراوانی برخوردار است که از جمله می‌توان به تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، ترشح مواد محرک رشد گیاه، بهبود حاصلخیزی خاک و حفظ و پایداری محیط زیست اشاره کرد (Saleh Rastin, 2001; Sharma, 2002). در خصوص تأثیر کاربرد باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی، در تحقیقی مشاهده گردید که مصرف باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریلوم، موجب افزایش میزان اسانس، عملکرد و درصد آنتول در اسانس رازیانه در مقایسه با شاهد گردید (Mahfouz & Sharaf Eldin, 2007). در تحقیقی دیگر، Darzi و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که کاربرد باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن موجب بهبود بارز میزان، عملکرد و درصد کارون در اسانس شوید در مقایسه با شاهد گردید. در پژوهشی بر روی زردچوبه، Velmurugan و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که در اثر کاربرد باکتری تثبیت کننده نیتروژن، میزان اسانس و کیفیت

آن به‌طرز مشهودی افزایش یافت. همچنین Makkizadeh و همکاران (۲۰۱۱) در پژوهشی بر روی شوید مشاهده کردند که مصرف باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریلوم موجب افزایش میزان اسانس و درصد لیمونن اسانس و نیز کاربرد تلفیقی این باکتری‌ها و کود معدنی اوره سبب بهبود درصد کارون در اسانس شد.

استقرار تراکم بوته مطلوب در زراعت، پایه و اساس یک سیستم موفق زراعی محسوب می‌شود. در تراکم کمتر از حد مطلوب استفاده از عوامل محیطی موجود همچون نور، رطوبت و مواد غذایی حداکثر نبوده و در تراکم بالاتر از حد بهینه نیز وجود رقابت شدید از عملکرد نهایی محصول خواهد کاست (Rassam et al., 2007). از این رو انتخاب تراکم مناسب سهم چشمگیری در بهره برداری مطلوب از پارامترهای محیطی دارد. در رابطه با تأثیر تراکم بوته بر روی کمیت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی، Callan و همکاران (۲۰۰۷) در پژوهشی بر روی شوید نشان دادند که تراکم بوته کمتر موجب بهبود بارز کیفیت اسانس دانه (درصد کارون) گردید. در سه پژوهش دیگر مشاهده گردید که استفاده از تراکم مطلوب بوته، سبب بهبود عملکرد اسانس گیاهان دارویی سیاه دانه، انیسون و آویشن گردید (Norozpoor & Rezvani Moghaddam, 2007; Khazaie et al., 2008; Hosseinpour et al., 2012). هدف از انجام این پژوهش، مطالعه تأثیر کاربرد باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و تراکم بوته بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی شوید می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار سال ۱۳۸۹ در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن واقع در منطقه کولیک دماوند به اجرا درآمد. میانگین

با بذر و محلول پاشی بر روی بوته در مرحله ساقه رفتن ($n4$) و عامل تراکم بوته (D) در سه سطح ($d1=12/5$ ، $d2=16/7$ و $d3=25$ بوته در متر مربع) در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با دوازده تیمار و سه تکرار انجام گرفت. کود بیولوژیک یا باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن مصرفی که از مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه گردیده، محلولی حاوی دو گونه از باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن بنام‌های *Azospirillum* و *Azotobacter chroococcum* بود که در هر میلی لیتر از آن در حدود 10^8 باکتری فعال وجود داشت. بذر شوید مورد استفاده در این تحقیق نیز، که یک اکوتیپ بوده از شرکت گیاه ایران اصفهان فراهم گردید.

بارش سالیانه ۳۲۰ میلی‌متر و متوسط دما حدود ۱۱ درجه سانتی‌گراد است. ابتدا از خاک مزرعه نمونه‌برداری و مشخص گردید که بافت خاک لومی‌رسی و pH آن، ۷/۷ می‌باشد و سپس بر مبنای تجزیه خاک (جدول ۱) به میزان ۳۰ کیلوگرم نیتروژن (کود اوره) و ۱۵ کیلوگرم پتاس (کود سولفات پتاسیم) در هکتار به زمین داده شد به طوری که نیمی از کود نیتروژنه و تمام کود پتاسه قبل از کاشت و نصف دیگر کود نیتروژنه در زمان تشکیل ساقه مصرف گردید. پژوهش با استفاده از آزمایش فاکتوریل دو عاملی شامل عامل باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن ازتوباکتر و آزوسپیریلوم (N) در چهار سطح (عدم تلقیح = $n1$ ، تلقیح با بذر = $n2$ ، محلول پاشی بر روی بوته در مرحله ساقه رفتن = $n3$) و تلقیح

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک

K	P	Total N	EC	pH	Texture
mg/kg		%	ds/m		
۱۳۵	۲۶۴	۰/۱۷	۱/۰۲	۷/۷	لومی رسی

۱۵ و ۲۰ سانتی‌متر بر اساس تراکم‌های مورد نظر ($12/5$ ، $16/7$ ، ۲۵ بوته در مترمربع) تنظیم شدند. عملیات مبارزه با علف‌های هرز مزرعه در پنج نوبت به روش مکانیکی و به وسیله دست صورت گرفت. عملیات آبیاری در ابتدا هر ۳ روز یکبار و بعد از استقرار کامل ریشه با توجه به شرایط اقلیمی منطقه هر ۶ تا ۷ روز یکبار انجام گردید. کرت‌های حاوی تیمار سطح سوم و چهارم کود بیولوژیک نیز، در مرحله ساقه دهی توسط کود مذکور، محلول پاشی شدند. برداشت دانه شوید در اواخر شهریورماه ۱۳۸۹ و به روش دستی انجام گردید. در این تحقیق صفات میزان اسانس، عملکرد اسانس و درصد کارون، لیمونن، دیل آپول و دی هیدرو کارون در اسانس مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور تعیین مقدار اسانس در دانه، از

به منظور اجرای آزمایش، اندازه هر کرت به ابعاد 3×2 متر و حاوی ۵ ردیف کاشت با فاصله بین ردیف ۴۰ سانتی‌متر لحاظ گردید. فاصله بین کرتها یک متر و بین تکرارها دو متر در نظر گرفته شدند. کاشت شوید و اعمال تیمارهای آزمایشی بعد از مساعد شدن هوا در بهار (۱۵ اردیبهشت) انجام گرفت. جهت کاشت شوید، بخشی از بذر مورد نیاز با محلول کود بیولوژیک به مدت ۱۵ دقیقه تلقیح شدند. سپس در سایه و در معرض هوا خشک گردیده و در عمق ۲ تا ۳ سانتی‌متری خاک کشت شدند و بلافاصله آبیاری صورت گرفت. برای اطمینان از جوانه زنی و حفظ تراکم در حد مطلوب، در روی هر ردیف بذر با تراکم بیشتری کشت شده و سپس در مرحله چند برگی تنک و با فاصله روی ردیف ۱۰،

هر کرت آزمایشی یک نمونه ۱۰۰ گرمی تهیه کرده که بعد از آسیاب نمودن به مدت سه ساعت با استفاده از دستگاه تقطیر با آب (طرح کلونجر) اسانس‌گیری گردید. میزان اسانس (درصد) نیز پس از رطوبت زدایی آب آن توسط سولفات سدیم خشک، محاسبه گردید (Sefidkon, 2002; Kapoor et al., 2004). بعد از تعیین میزان اسانس، عملکرد آن نیز به کمک حاصلضرب عملکرد دانه و میزان اسانس به دست آمد. جهت آنالیز اسانس و تعیین درصد ترکیبات عمده موجود در آن شامل کارون، لیمونن، دیل آپپول و دی هیدرو کارون از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی با طیف سنج جرمی (GC/MS) پژوهش‌شده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی استفاده گردید. دستگاه گاز کروماتوگرافی با طیف سنج جرمی مورد استفاده از مدل Agilent 5973 از ستونی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی آن به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادین حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه تا دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه و سه دقیقه توقف در این دما بود. دمای اتافک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری موجود (SAS) استفاده گردید و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، انجام گرفت.

نتایج

میزان اسانس: نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس آزمایش (جدول ۲)، مبین آن بود که تأثیر عامل

باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و اثر متقابل بین دو عامل باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و تراکم بوته در سطح یک درصد بر میزان اسانس معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین سطوح کود بیولوژیک تفاوت معنی‌داری وجود دارد به نحوی که میزان اسانس در تیمار تلقیح با بذر و محلول پاشی (۲/۵۰ درصد) به ترتیب ۷/۷، ۸/۶ و ۱۶/۲ درصد بیشتر از تیمارهای محلول پاشی (۲/۳۲ درصد)، تلقیح با بذر (۲/۳۰ درصد) و شاهد (۲/۱۵ درصد) بود (جدول ۳). نتیجه مقایسه میانگین اثر متقابل کود بیولوژیک و تراکم بوته نیز مبین اختلاف قابل ملاحظه‌ای بود به نحوی که میزان اسانس در تیمار تراکم ۲۵ بوته در مترمربع در سطوح مختلف کود بیولوژیک، یک اثر افزایشی را نشان می‌دهد به نحوی که در سطح اول یا شاهد کمترین میزان اسانس (۱/۹۰ درصد) و در سطح چهارم (تلقیح با بذر و محلول پاشی) بیشترین مقدار اسانس (۲/۶۱ درصد) بدست آمد (جدول ۴).

عملکرد اسانس: نتایج جدول تجزیه واریانس آزمایش بیانگر آن بود که تأثیر هر دو عامل باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و تراکم بوته و نیز اثرات متقابل بین آنها در سطح یک درصد بر عملکرد اسانس معنی‌دار گردید (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین سطوح کود بیولوژیک تفاوت معنی‌داری وجود دارد به نحوی که عملکرد اسانس در تیمار تلقیح با بذر و محلول پاشی (۶۷/۹ کیلوگرم در هکتار) به ترتیب حدود ۴۱، ۲۳ و ۵۹ درصد بیشتر از تیمارهای محلول پاشی (۴۸/۲ کیلوگرم در هکتار)، تلقیح با بذر (۵۵/۲ کیلوگرم در هکتار) و شاهد (۴۲/۶ کیلوگرم در هکتار) بود (جدول ۳). در خصوص اثر تراکم بوته بر عملکرد اسانس نیز، مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بین سطوح تراکم بوته تفاوت معنی‌داری وجود دارد به طوری که عملکرد اسانس در تراکم ۲۵ بوته

در مترمربع (۷۲/۶ کیلوگرم در هکتار) در مقایسه با دو تراکم ۱۶/۷ بوته (۴۹/۱ کیلوگرم در هکتار) و ۱۲/۵ بوته (۳۸/۷ کیلوگرم در هکتار) در مترمربع به ترتیب در حدود ۴۸ و ۸۷ درصد بیشتر بود (جدول ۳). همچنین مقایسه میانگین اثرات متقابل دو عامل بر عملکرد اسانس نشان داد که در تیمار تراکم ۲۵ بوته در مترمربع در بین سطوح کود بیولوژیک یک روند افزایشی وجود دارد به طوری که مصرف دوبار کود

زیستی (۱۰۱/۹ کیلوگرم در هکتار)، بیشترین عملکرد اسانس را نشان داد و این در حالی است که مشاهده گردید که در تیمار تراکم ۱۲/۵ بوته در مترمربع و سطوح کود زیستی یک روند تقریباً کاهشی وجود دارد به نحوی که در سطح محلول پاشی (۳۳/۹ کیلوگرم در هکتار) کمترین عملکرد اسانس ثبت گردید (جدول ۴).

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و تراکم بوته بر ویژگی‌های مورد مطالعه در شوید

میانگین مربعات (MS)						درجه آزادی (df)	منابع تغییرات (S.O.V)
درصد دیل	درصد دیل	درصد لیمونن در اسانس	درصد کارون در اسانس	عملکرد اسانس	میزان اسانس		
۰/۰۸۲۸ ns	۰/۶۸۰۲ ns	۰/۱۳۷۷ ns	۵/۲۲۸۹ ns	۲۲۰/۳۲۵۴**	۰/۰۴۲۱ ns	۲	تکرار
۰/۷۰۶۱**	۷/۱۸۶۴**	۹/۸۷۰۹**	۶۸/۷۲۱۸**	۱۰۷۲/۰۸۰**	۰/۱۸۵۴**	۳	باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن
۱/۷۱۷۷**	۱۷/۹۶۰۷**	۱۱/۵۱۷۱**	۱۴۵/۹۷۲۴**	۳۶۱۳/۹۹۱**	۰/۰۳۶۰ ns	۲	تراکم بوته
۰/۴۱۳۶**	۳/۰۱۸۱**	۱۴/۱۱۸۷**	۶۵/۶۷۹۷**	۱۳۶۷/۱۲۷**	۰/۱۲۲۱**	۶	باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن × تراکم بوته
۰/۰۵۱۶	۰/۸۴۸۶	۱/۲۷۶۸	۳/۱۰۴۹	۳۶/۸۸۴۶	۰/۰۲۶۱	۲۲	خطای آزمایش

ns، * و **: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطوح ۵ و ۱ درصد احتمال.

جدول ۳- مقایسه میانگین سطوح مختلف باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و تراکم بوته بر صفات مورد آزمایش

صفات						تیمار
درصد دیل	درصد دیل	درصد لیمونن در اسانس	درصد کارون در اسانس	عملکرد اسانس (کیلوگرم در هکتار)	میزان اسانس (درصد)	
درصد دیل کارون در اسانس	درصد دیل آپپول در اسانس	درصد لیمونن در اسانس	درصد کارون در اسانس	عملکرد اسانس (کیلوگرم در هکتار)	میزان اسانس (درصد)	سطوح کود بیولوژیک
۳/۷۴ a	۹/۱۱ a	۳۴/۲۷ a	۴۹/۲۰ b	۴۲/۶ c	۲/۱۵ c	عدم تلقیح
۳/۲۱ c	۷/۹۴ b	۳۴/۲۱ a	۵۱/۲۷ a	۵۵/۲ b	۲/۳۰ bc	تلقیح با بذر
۳/۵۱ b	۸/۸۵ a	۳۲/۰۲ b	۴۶/۰۶ c	۴۸/۲ c	۲/۳۲ b	محلول پاشی
۳/۱۳ c	۷/۱۵ b	۳۳/۳۳ a	۵۲/۳۴ a	۶۷/۹ a	۲/۵۰ a	تلقیح با بذر و محلول پاشی
سطوح تراکم بوته (تعداد بوته در مترمربع)						
۳/۳۹b	۷/۵۰ b	۳۴/۲۳ a	۵۰/۵۰ b	۳۸/۷ c	۲/۳۱ a	۱۲/۵
۳/۰۲ c	۷/۶۱ b	۳۳/۷۸ a	۵۲/۷۴ a	۴۹/۱ b	۲/۲۶ a	۱۶/۶
۳/۷۸ a	۹/۶۷ a	۳۲/۳۵ b	۴۵/۹۰ c	۷۲/۶ a	۲/۳۷ a	۲۵

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف آماری معنی دار می‌باشند.

نشان داد که بین سطوح تراکم بوته تفاوت معنی‌داری وجود دارد به طوری که درصد کارون در تراکم ۱۶/۷ بوته در مترمربع (۵۲/۷۴ درصد) در مقایسه با تراکم ۲۵ بوته در مترمربع (۴۵/۹۰ درصد) حدود ۱۵ درصد بیشتر بود (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل بین عامل‌ها نشان داد که بیشترین مقدار کارون در اسانس در تیمار تلقیح با بذر و محلول پاشی و در تراکم ۱۶/۷ بوته در مترمربع (۵۵/۴۸ درصد) و کمترین میزان کارون در اسانس در تیمار محلول پاشی و تراکم ۲۵ بوته در مترمربع (۳۴/۶۴ درصد) بدست آمد (جدول ۴).

درصد کارون در اسانس: نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس آزمایش (جدول ۲)، بیانگر آن بود که تأثیر هر دو عامل کود بیولوژیک و تراکم بوته و اثر متقابل بین آنها در سطح یک درصد بر درصد کارون در اسانس معنی دار گردید. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین سطوح کود بیولوژیک تفاوت معنی‌داری وجود دارد به نحوی که درصد کارون در اسانس در تیمار تلقیح با بذر و محلول پاشی (۵۲/۳۴ درصد) حدود ۱۴ درصد بیشتر از تیمارهای محلول پاشی (۴۶/۰۶ درصد) و ۶ درصد بیشتر از تیمار شاهد (۴۹/۲۰ درصد) بود (جدول ۳). در رابطه با اثر تراکم بوته بر درصد کارون در اسانس نیز، مقایسه میانگین تیمارها

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل بکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و تراکم بوته بر صفات مورد آزمایش

تیمار	میزان اسانس (درصد)	عملکرد اسانس (کیلوگرم در هکتار)	درصد کارون در اسانس	درصد لیمون در اسانس	درصد دیل آپپول در اسانس	درصد دی هیدرو کارون در اسانس
n1d1	۲/۴۲ b	۴۴/۰ f	۴۹/۸۵ cd	۳۵/۶۰ a	۸/۰۲ c	۳/۸۰ b
n1d2	۲/۱۳ c	۵۲/۴ e	۵۰/۷۵ c	۳۳/۸۱ b	۸/۱۰ c	۳/۵۲ c
n1d3	۱/۹۰ d	۳۱/۴ h	۴۶/۹۸ d	۳۳/۴۰ b	۱۱/۲۱ a	۳/۹۱ b
n2d1	۲/۲۰ bc	۳۷/۱ g	۵۱/۱۰ c	۳۵/۱۱ a	۷/۴۵ cd	۳/۰۹ d
n2d2	۲/۲۱ bc	۵۹/۱ d	۵۳/۰۴ b	۳۴/۶۱ ab	۷/۲۸ cd	۳/۱۲ d
n2d3	۲/۴۹ ab	۶۹/۵ c	۴۹/۶۷ cd	۳۲/۹۰ c	۹/۰۸ b	۳/۴۴ c
n3d1	۲/۲۶ bc	۳۳/۹ gh	۵۱/۸۵ bc	۳۳/۰۸ bc	۶/۹۲ d	۳/۴۵ c
n3d2	۲/۲۰ bc	۲۳/۰ i	۵۱/۶۹ bc	۳۴/۹۲ ab	۸/۵۴ bc	۲/۶۲ f
n3d3	۲/۵۰ ab	۸۷/۶ b	۳۴/۶۴ e	۲۸/۰۷ e	۱۱/۰۹ a	۴/۴۵ a
n4d1	۲/۳۷ b	۳۹/۹ fg	۴۹/۲۲ cd	۳۳/۱۳ bc	۷/۶۰ cd	۳/۲۵ cd
n4d2	۲/۵۳ a	۶۱/۸ d	۵۵/۴۸ a	۳۱/۸۱ d	۶/۵۴ d	۲/۸۳ e
n4d3	۲/۶۱ a	۱۰۱/۹ a	۵۲/۳۱ bc	۳۵/۰۶ a	۷/۳۲ cd	۳/۳۲ cd

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

n1, n2, n3, n4: به ترتیب عدم تلقیح، تلقیح با بذر، محلول پاشی، تلقیح با بذر و محلول پاشی.

d1, d2, d3: به ترتیب تراکم ۱۲/۵، ۱۶/۷، ۲۵ بوته در مترمربع.

سطح یک درصد بر درصد لیمون در اسانس معنی دار گردید (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین سطوح کود بیولوژیک اختلاف معنی‌داری وجود

درصد لیمون در اسانس: اطلاعات حاصل از تجزیه واریانس آزمایش، مبین آن بود که تأثیر عوامل کود بیولوژیک و تراکم بوته و اثرات متقابل میان آنها در

دارد به نحوی که درصد لیمونن در اسانس در تیمارهای شاهد (۳۴/۲۷ درصد)، تلقیح با بذر (۳۴/۲۱ درصد) و تلقیح با بذر و محلول پاشی (۳۳/۳۳ درصد) با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نشان ندادند ولی همگی اختلاف معنی‌داری با تیمار محلول پاشی (۳۲/۰۲ درصد) داشتند (جدول ۳). در رابطه با اثر تراکم بوته بر درصد لیمونن در اسانس نیز، مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بین سطوح تراکم بوته تفاوت معنی‌داری وجود دارد به طوری که بیشترین مقدار لیمونن در اسانس در تیمار تراکم ۱۲/۵ بوته در مترمربع (۳۴/۲۳ درصد) و کمترین آن در تیمار تراکم ۲۵ بوته در مترمربع (۳۲/۳۵ درصد) حاصل گردید (جدول ۳). نتیجه مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و تراکم بوته نیز مبین اختلاف قابل ملاحظه‌ای بود به نحوی که درصد لیمونن در اسانس در تیمار دو بار مصرف کود بیولوژیک و تراکم ۲۵ بوته در مترمربع (۳۵/۰۶ درصد) بر خلاف اثرات اصلی آن، عدد بالایی را نشان داد که با تیمار تلقیح با بذر و تراکم ۱۲/۵ بوته در مترمربع (۳۵/۱۱ درصد) تفاوت آماری نداشت (جدول ۴).

درصد دیل آپپول در اسانس: نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس آزمایش، مبین آن بود که تأثیر هر دو عامل کود بیولوژیک و تراکم بوته در سطح یک درصد و اثر متقابل بین عامل‌ها در سطح پنج درصد بر درصد دیل آپپول در اسانس معنی‌دار گردید (جدول ۲). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بین سطوح کود بیولوژیک تفاوت قابل توجهی وجود دارد به نحوی که درصد دیل آپپول در تیمار شاهد (۹/۱۱ درصد) در مقایسه با تیمارهای تلقیح با بذر (۷/۹۴ درصد) و تلقیح با بذر و محلول پاشی (۷/۱۵ درصد) به ترتیب در حدود ۱۵ و ۲۷ درصد بیشتر بود (جدول ۳). در رابطه با اثر تراکم بوته بر میزان دیل آپپول نیز، مقایسه

میانگین‌ها نشان دهنده آن بود که بین سطوح تراکم بوته اختلاف معنی‌داری وجود دارد به نحوی که درصد دیل آپپول در تیمار تراکم ۲۵ بوته در مترمربع (۹/۶۷ درصد) به ترتیب حدود ۲۷ و ۲۹ درصد بیشتر از تیمارهای تراکم ۱۶/۷ بوته (۷/۶۱ درصد) و ۱۲/۵ بوته (۷/۵۰ درصد) در مترمربع بود (جدول ۳). نتیجه مقایسه میانگین اثر متقابل کود بیولوژیک و تراکم بوته نیز مبین اختلاف قابل ملاحظه‌ای بود به نحوی که در تمام تیمارهای حاوی سطوح مختلف تراکم بوته در سطح شاهد کود بیولوژیک، تقریباً بالاترین مقدار دیل آپپول در اسانس مشاهده گردید به طوری که بیشترین درصد دیل آپپول در اسانس در تیمار شاهد کود بیولوژیک و تراکم ۲۵ بوته در مترمربع (۱۱/۲۱ درصد) و کمترین آن در تیمار تلقیح با بذر و محلول پاشی و تراکم ۱۶/۷ بوته در مترمربع (۶/۵۴ درصد) بدست آمد (جدول ۴).

درصد دی هیدرو کارون در اسانس: تجزیه واریانس آزمایش، مبین آن بود که تأثیر دو عامل کود بیولوژیک و تراکم بوته و اثر متقابل بین عامل‌ها در سطح یک درصد بر میزان دی هیدرو کارون در اسانس معنی‌دار گردید (جدول ۲). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بین سطوح کود بیولوژیک تفاوت قابل توجهی وجود دارد به طوری که بیشترین مقدار دی هیدرو کارون در اسانس در تیمار شاهد (۳/۷۴ درصد) و کمترین مقدار آن در تیمار تلقیح با بذر و محلول پاشی (۳/۱۳ درصد) ملاحظه گردید (جدول ۳). در ارتباط با اثر تراکم بوته بر میزان دی هیدرو کارون در اسانس نیز، مقایسه میانگین‌ها نشان دهنده آن بود که بین سطوح تراکم بوته اختلاف معنی‌داری وجود دارد به نحوی که میزان دی هیدرو کارون در تیمار تراکم ۲۵ بوته در مترمربع (۳/۷۸ درصد)، در مقایسه با تراکم‌های ۱۶/۷ بوته (۳/۰۲ درصد) و ۱۲/۵ بوته (۳/۳۹ درصد) در مترمربع به ترتیب حدود ۲۵ و ۱۱ درصد بیشتر بود

(جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل دو عامل نشان داد که بیشترین درصد دی هیدرو کارون در اسانس در تیمار محلول پاشی کود بیولوژیک و تراکم ۲۵ بوته در مترمربع (۴/۴۵ درصد) بدست آمد (جدول ۴).

بحث

می‌توان اظهار داشت که افزایش میزان اسانس در تیمارهای حاوی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن به ویژه تیمار تلقیح بذر همراه با محلول پاشی، می‌تواند به علت جذب بیشتر نیتروژن و تأثیر این عنصر در ساخت ترکیبات تشکیل دهنده اسانس باشد (Migahed et al., 2004). گزارش‌های برخی محققین نظیر Singh و همکاران (۲۰۰۹) بر روی گشنیز، Velmurugan و همکاران (۲۰۰۸) بر روی زردچوبه، Mahfouz و SharafEldin (۲۰۰۷) بر روی رازیانه و Darzi و همکاران (۲۰۱۲) بر روی شوید، بیانگر بهبود میزان اسانس در اثر مصرف کود بیولوژیک نیتروژنه بود. در خصوص تفسیر اثر متقابل دو عامل بر روی میزان اسانس می‌توان بیان داشت که در تیمار دو بار مصرف کود بیولوژیک و تراکم ۲۵ بوته در مترمربع یک رابطه مثبت و تشدید کننده وجود داشته که احتمالاً از طریق بهبود جذب نیتروژن برای گیاه و استفاده مناسب از عوامل محیطی نظیر نور و آب، سبب افزایش میزان اسانس گردید.

افزایش عملکرد اسانس در تیمارهای مصرف کود بیولوژیک به ویژه تیمار دو بار کاربرد، به دلیل افزایش اجزاء عملکرد اسانس یعنی عملکرد دانه و میزان اسانس بود. نتایج پژوهش‌های سایر محققین شامل Moradi و همکاران (۲۰۰۹)، Abdou و همکاران (۲۰۰۴) و Mahfouz و Sharaf Eldin (۲۰۰۷) بر روی رازیانه، Koocheki و همکاران (۲۰۰۹) بر روی زوفا، Saeid Nejad و Rezvani Moghaddam (۲۰۱۰) بر روی زیره سبز و Darzi و همکاران

(۲۰۱۲) بر روی شوید با نتیجه تحقیق حاضر هماهنگی دارد. همچنین طبعی به نظر می‌رسد که با توجه به عدم تفاوت میزان اسانس در بین تراکم‌ها و نیز افزایش معنی دار عملکرد دانه در تراکم ۲۵ بوته در مترمربع، عملکرد اسانس هم در تراکم مذکور به طرز چشمگیری بیشتر باشد. یافته‌های Akbarinia و همکاران (۲۰۰۶) نیز مؤید آن است که تراکم ۳۰ بوته در متر مربع موجب افزایش بارز عملکرد اسانس گردید. در همین خصوص نتایج تحقیقات Norzpoor و Rezvani Moghaddam (۲۰۰۷) بر روی سیاه دانه، Khazaie و همکاران (۲۰۰۸) بر روی آویشن و Hosseinpour و همکاران (۲۰۱۲) بر روی انیسون با نتیجه پژوهش حاضر همخوانی دارد. همچنین اثر متقابل باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و تراکم بوته نیز دارای یک تأثیر بارز مثبت و افزایشی بر روی عملکرد اسانس در تیمارهای مصرف کود بیولوژیک به ویژه تیمار تلقیح بذر همراه با محلول پاشی و در تراکم ۲۵ بوته در مترمربع بود.

به نظر می‌رسد که افزایش درصد کارون در اسانس در تیمار دو بار مصرف کود بیولوژیک به دلیل بهبود فعالیت‌های بیولوژیک خاک و متعاقب آن افزایش جذب نیتروژن در اثر کاربرد باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن (Kalyanasundaram et al., 2008) باشد. در همین رابطه Darzi و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیقی بر روی گیاه دارویی شوید نشان دادند که تیمار تلقیح باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن با بذر در مقایسه با عدم تلقیح موجب بهبود درصد کارون در اسانس گردید. نتایج پژوهش‌های Mahfouz و Sharaf Eldin (۲۰۰۷) بر روی رازیانه، Velmurugan و همکاران (۲۰۰۸) بر روی زردچوبه و Makkizadeh و همکاران (۲۰۱۱) بر روی شوید نیز مؤید افزایش کیفیت اسانس در اثر مصرف باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن است. همچنین

اجزاء اسانس شامل دیل آپپول و دی هیدرو کارون در اسانس در تراکم‌های مذکور کاهش نشان دهد و در مقابل در تراکم بیشتر یعنی ۲۵ بوته در مترمربع افزایش یابند. یافته‌های Callan و همکاران (۲۰۰۷) بر روی شوید و Kahrizi و Azizi (۲۰۰۸) بر روی زیره سبز تأییدکننده همین موضوع است. اثر متقابل بین دو عامل باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و تراکم بوته بر روی درصد دیل آپپول و دی هیدرو کارون در اسانس مبین آن است که تیمار دو بار مصرف کود بیولوژیک و تراکم ۲۵ بوته در مترمربع، یک اثر کاهنده بر روی دو ترکیب مذکور نشان داد.

نتیجه‌گیری نهایی

در مجموع نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که بیشترین میزان اسانس، عملکرد اسانس و درصد کارون در اسانس در تیمار تلقیح با بذر همراه با محلول پاشی و نیز بیشترین درصد لیمونن، دیل آپپول و دی هیدرو کارون در اسانس در تیمار شاهد حاصل گردید. همچنین بیشترین عملکرد اسانس، درصد دیل آپپول و دی هیدرو کارون در اسانس در تراکم ۲۵ بوته در مترمربع و نیز بیشترین درصد لیمونن و کارون در اسانس به ترتیب در تراکم ۱۲/۵ و ۱۶/۷ بوته در متر مربع بدست آمد. در نهایت اثرات متقابل بین عامل‌ها نشان داد که تیمار شامل مصرف دو بار باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن (تلقیح با بذر و محلول پاشی) و استفاده از تراکم ۲۵ بوته در متر مربع، بهترین نتیجه را درخصوص بهبود کمیت و کیفیت اسانس شوید داشته است.

منابع

1. Abdou, M.A.H., El-Sayed, A.A., Badran, F.S. and El-Deen, R.M.S. 2004. Effect of planting density and chemical and bio fertilization on vegetative growth, yield and chemical composition of fennel (*Foeniculum vulgare* Miller): I - Effect of planting density

می‌توان اظهار داشت که در تراکم‌های کمتر (۱۲/۵ و ۱۶/۷ بوته در مترمربع) رشد زایشی مناسب تری در بوته‌ها اتفاق افتاده که این مسئله در نهایت منجر به افزایش کیفیت اسانس در دانه یعنی بهبود درصد کارون و لیمونن در اسانس گردیده است. یافته‌های Callan و همکاران (۲۰۰۷) نیز حاکی از آن است که تراکم بوته کمتر سبب بهبود درصد کارون در گیاه شوید شده است. در پژوهشی دیگر نیز مشاهده گردید که تراکم بوته پایین موجب افزایش کیفیت اسانس (کومین الدئید در اسانس) در گیاه زیره سبز گردیده است (Azizi & Kahrizi, 2008). در خصوص اثر متقابل دو عامل بر روی درصد کارون و لیمونن در اسانس می‌توان اظهار داشت که یک اثر تشدید کننده مشهود در تیمار دو بار مصرف کود بیولوژیک و تراکم کمتر (۱۶/۷ بوته در مترمربع) بر روی میزان کارون اسانس دیده شد و این در حالی است که در رابطه با درصد لیمونن در اسانس، این اثر افزایشی و مثبت در تیمار دو بار مصرف کود بیولوژیک و تراکم بیشتر (۲۵ بوته در مترمربع) مشاهده گردید که با تیمار تلقیح کود بیولوژیک با بذر و تراکم ۱۲/۵ بوته در مترمربع اختلاف آماری نداشت. طبیعی به نظر می‌رسد که با افزایشی که در برخی اجزاء اسانس نظیر درصد کارون در تیمار دو بار مصرف باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن (تلقیح با بذر و محلول پاشی) رخ داده بود، برخی ترکیبات اسانس نظیر درصد دیل آپپول و دی هیدرو کارون در اسانس کاهش یابند. در همین رابطه گزارش‌های سایر محققین بر روی گیاهان دارویی رازیانه، زردچوبه و شوید با نتیجه تحقیق حاضر مطابقت دارد (Mahfous and Sharaf Eldin, 2007; Velmurugan et al., 2008; Makkizadeh et al., 2011; Darzi et al., 2012). همچنین با توجه به بهبود درصد کارون و لیمونن در اسانس در دو تراکم کمتر (۱۲/۵ و ۱۶/۷ بوته در مترمربع)، بدیهی به نظر می‌رسد که سایر

- and some chemical (Nofatrein) and biochemical (Biogen) fertilizers. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor*, 42(4):1907-1922.
2. Akbarinia, A., Daneshian, J. and Mohmmadbiegi, F. 2006. Effect of nitrogen fertilizer and plant density on seed Yield, essential oil and oil content of *Coriandrum sativum* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 22(4):410-419.
 3. Azizi, K. and Kahrizi, D. 2008. Effect of nitrogen level, plant density and climate on quantity and quality in Cumin (*Cuminum cyminum* L.) under the conditions of Iran. *Asian Journal of Plant Sciences*, 7(8): 710-716.
 4. Bailer, J., Aichinger, T., Hackl, G., Hueber, K. and Dachler, M. 2001. Essential oil content and composition in commercially available dill cultivars in comparison to caraway. *Industrial Crops and Products.*, 14: 229-239.
 5. Callan, N.W., Johnson, D.L., Westcott, M.P. and Welty, L.E., 2007. Herb and oil composition of dill (*Anethum graveolens* L.): Effects of crop maturity and plant density. *Industrial Crops and Products.*, 25: 282-287.
 6. Darzi, M.T., Haj Seyed Hadi, M.R. and Rejali, F., 2012. Effects of the application of vermin compost and nitrogen fixing bacteria on quantity and quality of the essential oil in dill (*Anethum graveolens*). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(21): 3793-3799.
 7. Hosseinpour, M., Pirzad, A., Habibi, H. and Fotokian, M.H. 2012. Effect of biological nitrogen fertilizer (*Azotobacter*) and plant density on yield, yield components and essential oil of Anise. *Journal of Agriculture and Sustainable Production*, 21(1): 69-86.
 8. Kalyanasundaram, B., Kumar, T.S., Kumar, S. and Swaminathan, V. 2008. Effect of N, P, with biofertilizers and vermin compost on growth and physiological characteristics of sweet flag (*Acorus calamus* L.). *Advances in Plant Science*, 21(1): 323-326.
 9. Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K.G. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill. on *Mycorrhiza inoculation* supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technology*, 93: 307-311.
 10. Khazaie, H.R., Nadjafi, F. and Bannayan, M. 2008. Effect of irrigation frequency and planting density on herbage biomass and oil production of thyme (*Thymus vulgaris*) and hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Industrial Crops and Products*, 27: 315-321.
 11. Koocheki, A., Tabrizi, L. and Ghorbani, R. 2009. Effect of biofertilizers on agronomic and quality criteria of Hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Iranian Journal of Agronomy Research*. 6(1): 127-137.
 12. Mahfouz, S.A. and SharafEldin, M.A. 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysics*, 21(4): 361-366.
 13. Makkizadeh, M., Nasrollahzadeh, S., Zehtab Salmasi, S., Chaichi, M. and Khavazi, K. 2011. The effect of Organic, biologic and chemical fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agriculture Science and Sustainable Production*, 22(1): 1-12.
 14. Migahed, H.A., Ahmed, A.E. and Abdel Ghany, B.F. 2004. Effect of different bacterial strains as bio fertilizer agents on growth, production and oil of *Apium graveolens* under calcareous soil. *Arab Universities Journal of Agricultural Science*, 12(2): 511-525.
 15. Moradi, R., Rezvani Moghaddam, P., Nasiri Mahallati, M. and Lakzian, A. 2009. The effect of application of organic and biological fertilizers on yield, yield components and essential oil of *Foeniculum vulgare* (Fennel). *Iranian Journal of Agronomy Researches*, 7(2): 625-635.
 16. Norozpoor, G. and Rezvani Moghaddam, P. 2007. Effect of different irrigation intervals and plant density on oil yield and essences percentage of black cumin (*Nigella sativa*). *Journal of Pajouhesh and Sazandegi*, 73: 133-138.
 17. Omidbaigi R. 2000. Production and processing of medicinal plants. Behnashr Company. 397 p.
 18. Rassam, G.A., Naddaf, M. and Sefidkon, F. 2007. Effects of sowing time and plant density on yield and yield components of seed in Anise (*Pimpinella anisum*). *Journal of Pajouhesh and Sazandegi*, 75: 127-132.
 19. Saeid Nejad, A.H. and Rezvani Moghaddam, P. 2010. Evaluation of biofertilizer and chemical fertilizer application on morphological traits, yield, yield components and essential oil percent in cumin (*Cuminum cyminum*). *Journal of Horticultural Science*, 24(1): 38-44.
 20. Saleh Rastin, N. 2001. Bio fertilizers and their role in order to reach to sustainable agriculture. A compilation of papers of

- necessity for the production of bio fertilizers in Iran. 1-54 pp.
21. Sefidkon, F., 2002. Evaluation of quantitative and qualitative of fennel (*Foeniculum vulgare*) essential oil in different growth stages. Journal of Medicinal Plants Research, 7: 85-104.
22. Sharma, A.K., 2002. Bio fertilizers for sustainable agriculture. Agrobios, India, 407 p.
23. Singh, S., Buttar, G.S., Singh, S.P. and Brar, D.S. 2005. Effect of different dates of sowing and row spacings on yield of fenugreek (*Trigonella foenum gracum*). Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences, 27(4): 629-630.
24. Singh, B., Singh, B., Masih, M.R. and Choudhary, R.L. 2009. Evaluation of P and S enriched organic manures and their effect on seed yield and quality of coriander (*Coriandrum sativum* L.). International Journal of Agricultural Sciences, 5(1): 18-20.
25. Velmurugan, M., Chezhiyan, N. and Jawaharlal, M. 2008. Influence of organic manures and inorganic fertilizers on cured rhizome yield and quality of turmeric (*Curcuma longa* L.) cv. BSR-2. International Journal of Agricultural Science, 4(1): 142-145.