دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر
فصلنامه‌ی کاربرد شیمی در محیط زیست

سال سیزدهم شماره‌ی ۴۹
بهار ۱۴۰۱، صفحات ۱۳-۱

بررسی اثر چند نهاده زیستی بر کمیت و کیفیت ترکیبات اسانس گیاه دارویی (Matricaria chamomilla) در استان اردبیل

حجت اقبال*

گروه فیتوشیمی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

Email: hojat.eg@gmail.com

یوسف جهانی‌جلودار

مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اردبیل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایران

مهدی احمدی سابق

گروه شیمی آلی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

ارسال: ۱۴۰۱/۰۷/۲۴ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۸/۱۶ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۹

چکیده

امروزه استفاده از گیاهان دارویی و شناسایی ترکیبات آن‌ها به عنوان داروهای جدید و استخراج و بررسی خواص ترکیبات گیاهی در درمان بسیاری از بیماری‌های مورد توجه قرار گرفته است. گیاه دارویی Matricaria chamomilla اهمیت ویژه‌ای در تجارت گیاهان دارویی داشته و در محدوده وسیعی از آب و هوا رشد می‌کند، اگرچه اخیراً در زمینه کاربرد کودهای نیتروژنی در گیاهان تحقیقات زیادی صورت گرفته، ولی به نظر می‌رسد در مورد کاربرد این کودها در گیاهان دارویی و مدیریت آن‌ها و هم‌چنین در بررسی اثر این کودها بر روی متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی مانند کامازولن در گیاه دارویی بابونه آلمانی باید تحقیقات بیشتری صورت گیرد. لذا با این هدف آزمایشی در سال ۱۴۰۱ در اراضی روستای اندزق شهرستان مشگین‌شهر واقع در استان اردبیل انجام گرفت. در اوایل بهار زمین شخم و دیسک زده شد و به منظور تعیین وضعیت فیزیکو شیمیایی خاک نمونه‌گیری انجام و به آزمایشگاه ارسال گردید. کودپاشی بر اساس نتایج آزمایش خاک و نوع تیمارها انجام گردید. آزمایش، به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار بود. تیمارهای مورد استفاده شامل موارد زیر بود: کاربرد ورمی‌کمپوست: در دو سطح صفر(V_0) و۵ تن در هکتار به صورت مصرف خاکی قبل از کاشت (V_1)، کاربرد باکتری‌های محرک رشد (PGRP) به صورت تلقیح با بذر، در ۲ سطح: تلقیح با مخلوط ۲ باکتری آزوسپریلیوم و ازتوباکتر (F_1) و بدون تلقیح (F_0)، – نیتروژن از منبع اوره: در ۳ سطح صفر (N_0) و ۵۰ (N_{50}) و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار (N_{100}) به صورت خالص. نتایج نشان داد که مصرف توأم ورمی‌کمپوست و مایه تلقیح اثر سینرژیستی داشته و باکتری‌های محرک رشد به همراه ورمی‌کمپوست می‌توانند در محیط و بستر بهتری فعالیت نمایند و نسبت به تثبیت نیتروژن اقدام نمایند. بطوری که اثر ورمی‌کمپوست در بهبود درصد اسانس در سطوح مختلف نیتروژن متفاوت است و از ۱۵٪ در سطح N_0 تا ۳٪ در N_{50} و تا ۱۰ درصد در N_{100} متغیر بود. اثر مصرف سطوح مختلف نیتروژن هم بر عملکرد اسانس بسیار معنی‌دار شد به طوری که مصرف یکصد کیلوگرم نیتروژن حدود ۷۹٪ در عملکرد اسانس مؤثر بود و مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن نیز حدود ۴۲ درصد بر عملکرد مؤثر بود و عملکرد به ۸۳۶ کیلوگرم رسید. در مقادیر بالای نیتروژن درصد کامازولن افزایش یافت. کم‌ترین مقادیر آلفا بیسابلول به مقدار ۱۹/۴٪، ۱۹/۸، ۲۰/۷ و ۲۱/۳۳ از تیمارهای بدون مصرف کود و مایه تلقیح و ورمی‌کمپوست، مصرف مایه تلقیح بدون نیتروژن و بدون ورمی‌کمپوست، مصرف ورمی‌کمپوست بدون مایه تلقیح و نیتروژن، مصرف ورمی‌کمپوست و مایه تلقیح بدون نیتروژن به دست آمد. بیش‌ترین مقدار آلفا بسیابلول با مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص حاصل شد و مقدار این ترکیب با افزایش نیتروژن تا سطح صد و یا عدم مصرف نیتروژن کاهش یافت.

کلیدواژه: گیاهان دارویی، اسانس، نیتروژن، استان اردبیل، کامازولن.

مقدمه

رویکرد جهانی به استفاده از گیاهان دارویی و ترکیب‌های طبیعی در صنایع دارویی، آرایشی _ بهداشتی و غذایی و به دنبال آن توجه مردم، مسئولین و صنایع داخلی به استفاده از گیاهان دارویی و معطر نیاز مبرم به تحقیقات پایه‌ای و کاربردی وسیعی را در این زمینه نمایان می‌سازد. کشور ایران دارای شرایط آب و هوایی متنوعی است که این امر خود موجب تنوع رشد گیاهان مختلفی چون گیاهان دارویی شده است. تعداد گونه‌های گیاهی دارویی حدود ۵۲۰۰۰ گونه برآورد شده است که ۸ درصد آن‌ها یعنی چیزی حدود ۴۱۶۰ گونه دارویی در معرض خطر انقراض هستند (امید بیگی، ۱۳۸۵). بهره‌برداری از این گیاهان هنوز آن طور که در کشورهای مترقی دنیا معمول است، درکشور ما مورد توجه قرار نگرفته است و علت آن، عدم شناخت مردم می‌تواند باشد. با توجه به تأثیر عوامل محیطی، شرایط جغرافیایی و وضعیت اکولوژی محل رویش بر کمیت و کیفیت مواد موثره، مطالعات دقیق و گسترده در مورد نقش عوامل مؤثر بر رشد، عملکرد و کیفیت گیاه ضروری است. عرض جغرافیایی، ارتفاع محل، درجه حرارت، نوع و عمق خاک میزان آب و مواد غذایی مورد نیاز گیاه، سازگاری گیاه، تحمل آن در برابر شرایط نامساعد، تنش‌های محیطی از جمله عوامل مؤثر بر کمیت و کیفیت تولید می باشند. بنابراین لازم است با انجام آزمایش‌های دقیق و مناسب و به‌کارگیری تیمارهای ذکر شده نیازهای هرگونه شناسایی و میزان سازگاری در برابر عوامل محیطی مشخص گردد (Liuc and Pank.,2005).

هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر ورمی‌کمپوست و باکتری‌های محرک رشد بر خصوصیات کمی و کیفی اسانس گیاه دارویی بابونه آلمانی و ارزیابی تاثیر مقادیر مختلف کود نیتروژن بر صفات مورد بررسی گیاه مذکور و مطالعه اثرات متقابل بین تیمارهای آزمایش بر صفات مختلف کمی و کیفی اسانس گیاه دارویی بابونه آلمانی در شرایط آب و هوایی استان اردبیل بود.

مواد و روش‌ها

- ویژگی‌های محل اجرای طرح

خاک محل اجرای طرح فاقد محدودیت شوری، دارای واکنش قلیایی، با مواد آلی کم، دارای فسفر، پتاسیم، مس و منگنز قابل جذب کافی می‌باشد. pH خاک منطقه در محدوده قلیایی ضعیف تا متوسط و خطر شوری قابل ملاحظه‌ای در سطح الارض خاک‌ها وجود ندارد. آب مورد استفاده در کلاس C_2S_1 قرار دارد و برای آبیاری فاقد محدودیت شوری و قلیائیت است.

- روش اجرای طرح

در ابتدای فصل بهار زمین شخم و دیسک زده شد و به منظور تعیین وضعیت فیزیکو شیمیایی خاک نمونه‌گیری انجام و به آزمایشگاه دانش بنیان پژوهشگران داروی سبز ارسال گردید. از علف‌کش پیش کشتی ترفلان جهت آماده‌سازی زمین استفاده شد. کودپاشی بر اساس نتایج آزمایش خاک و نوع تیمارها انجام گردید. ابعاد هر کرت ۵ × ۴ متر کاشت به صورت ردیفی بود. فاصله ردیف ها ۳۰ و فاصله بین بوته ۱۰ سانتی‌متر بود. نوع آزمایش، به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار بود. تیمارهای مورد استفاده شامل موارد زیر بود :

۱-کاربرد ورمی‌کمپوست: در دو سطح صفر (V_0) و۵ تن در هکتار به صورت مصرف خاکی قبل از کاشت (V_1)

۲-کاربرد باکتری‌های محرک رشد (PGRP) به صورت تلقیح با بذر: در دو سطح: تلقیح با مخلوط دو باکتری آزوسپریلیوم و ازتوباکتر (F_1) و بدون تلقیح (F_0)

۳- نیتروژن از منبع اوره: در سه سطح صفر (N_0) و ۵۰ (N_{50}) و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار (N_{100}) به صورت خالص.

از آنجایی که بابونه گیاهی یک ساله زمستانه است کشت آن در نیمه اول فروردین ماه سال ۱۴۰۱ انجام شد بذور قبل از کاشت ضد عفونی گردیده و سپس بذرهای مربوط به تیمار تلقیح، با آب و شکر که قبلاً حل شده آغشته کرده و ماده تلقیح را با بذر آغشته کردیم. بذور پس از آغشته شدن و تلقیح با مایه تلقیح حاوی باکتری‌های محرک رشد

ازتوباکتر و آزوسپریلیوم که از مؤسسه فناوری زیست آسیا تهیه گردیده بود در سایه خشک شدند (نور آفتاب باکتری-ها را از بین خواهد برد) و بلافاصله بعد از تلقیح به صورت سطحی کاشته شدند. برای اعمال کود نیتروژنه برای کرت-های آزمایشی کودی (۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص)، به ترتیب حدود۱۰۰ و ۲۰۰ کیلوگرم اوره (بر مبنای هکتار) در سه مرحله شامل مرحله کاشت، شروع ساقه روی و ابتدای گلدهی استفاده شد همچنین ۱۰۰ کیلوگرم کود سوپرفسفات تریپل و ۸۰ کیلوگرم در هکتار کود سولفات پتاسیم (بر مبنای هکتار) برای تمام کرت‌ها اضافه شد. در تیمار بدون کود و بدون مایه تلقیح فقط کودهای پتاسه و فسفاته استفاده شد. تیمار ورمی‌کمپوست به صورت پیش-کشتی، قبل از کشت بود. یک سوم کود اوره به صورت قبل از کاشت و مابقی به صورت توزیع سرک پس از مرحله ساقه روی تا شروع گل‌دهی در دو مرحله بود. آبیاری به صورت قطره‌ای با استفاده از لوله‌های تیپ (Tape) تا مرحله سبز شدن هر سه روز و پس از استقرار گیاه هر ۵ روز انجام شد. وجین علف‌های هرز سه هفته پس از کاشت انجام شد. در مرحله گلدهی با رعایت اثر حاشیه، سطحی معادل یک مترمربع از وسط کرت انتخاب شده و صفاتی از قبیل: تعداد ساقه فرعی، ارتفاع ساقه، تعداد روز تا غنچه دهی، روز تا ۵۰٪ و ۱۰۰ گلدهی، قطر ساقه، تعداد نهایی گل، عملکرد تر و خشک گل و بعد از برداشت نیز وزن تر کل بوته اندازه گیری شد. برای تعیین وزن خشک به بوته‌های نیم متر مربع از سطح کرت به مدت یک هفته در سایه و دمای محیط با حدود ۳۰ درجه سانتیگراد همراه با جریان هوا قرار داده شد. مقدار ۱۰۰ گرم از گل‌های خشک شده هر کرت جهت تعیین درصد اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر به آزمایشگاه ارسال گردید. تشخیص نوع اسانس با استفاده از GC/MS، عملکرد اسانس و درصد نیتروژن با استفاده از کجلدال اندازه گیری شد. نوع تیمارها و نقشه طرح به شرح ذیل بود.

بلوک۳	۱۰	۴	۳	۱۲	۵	۷	۹	۸	۲	۶	۱	۱۱
	نهر آبیاری											
بلوک۲	۱	۳	۱۱	۹	۸	۷	۵	۱۲	۴	۶	۲	۱۰
	نهر آبیاری											
بلوک۱	۱۱	۹	۸	۵	۱۰	۱	۲	۳	۱۳	۱۲	۴	۶
	نهر آبیاری											

شکل ۱: نقشه طرح بررسی اثر سطوح مختلف ورمی‌کمپوست، نیتروژن و مایه تلقیح باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد کمی و کیفی بابونه.

– ارزیابی صفات عملکردی

جهت اندازه‌گیری درصد و عملکرد اسانس از دستگاه اندازه‌گیری اسانس یا کلونجر استفاده شد. برای شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) در آزمایشگاه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی استفاده شد. شناسایی ترکیب‌های اسانس با استفاده از شاخص‌های بازداری و بررسی طیف جرمی و مقایسه با طیف‌های جرمی پیشنهادی توسط کتابخانه‌های (Libraries) کامپیوتر دستگاه کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی و ترکیب‌های استاندارد صورت گرفت. دستگاه GC مورد استفاده گاز کروماتوگراف فوق سریع (Ultra Fast) مدل THERMO-ufm به ستون ph-5 (به طول ۱۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۴ میکرومتر) بود. دمای اولیه ۶۰ درجه سیلسیوس (با نگهداری ۳ دقیقه) بود که با ۴۰ درجه سیلسیوس افزایش در هر دقیقه به دمای نهایی ۲۸۵ درجه سیلسیوس رسید. درجه حرارت محفظه تزریق و آشکارساز (FID)، ۲۸۰ درجه سیلسیوس

بود. گاز حامل هلیوم (با درجه خلوص۹۹/۹۹۹٪) بود که با سرعت ۳۲ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. دستگاه GC/MS مدل Varian-3400 از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه فاز ساکن و ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از دمای اولیه ۵۰ درجه سیلسیوس تا دمای نهایی ۲۸۰ درجه سیلسیوس بود که در هر دقیقه ۴ درجه به آن افزوده می‌شد.

دمای محفظه تزریق، ۱۰ درجه بیش از دمای نهایی ستون تنظیم گردیده بود. گاز حامل هلیوم بود که با سرعت ۳۱/۵ ساتی متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود.

برای اندازه‌گیری درصد نیتروژن از روش کجدال در سه مرحله به صورت زیر استفاده شد: الف) مرحله اول، هضم: ابتدا یک گرم از نمونه را وزن کرده در داخل لوله استوانه-ای ریخته و ۳ گرم کاتالیزور (که شامل ۹۶ گرم سولفات پتاسیم، ۳/۵ گرم سولفات مس متبلور، ۰/۵ گرم دی اکسید سلنیم می‌باشد) به آن اضافه گردید سپس ۲۰ سی سی اسید سولفوریک غلیظ بر روی نمونه‌ها ریخته و در داخل دستگاه در درجه حرارت ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲ ساعت قرار داده شد. در این درجه حرارت کلیه مولکول‌های مواد غذایی شکسته شده و به سولفات آمونیوم تبدیل می‌شود. در نتیجه رنگ محلول با انجام هضم تبدیل به رنگ شفاف مایل به سبز می‌شود.

یک نمونه شاهد هم باید در نظر گرفت و کلیه اعمال را هم بر روی آن بدون نمونه انجام داد. بعد از ۲ ساعت نمونه‌ها را از دستگاه بر داشته و عمل تقطیر صورت می‌گیرد. ب) مرحله دوم، تقطیر: قبل از انجام آزمایش ۲۰ گرم اسید بوریک را درون بالن ژوژه ۱۰۰۰ سی سی ریخته و حدود ۳۰۰ سی سی آب مقطر اضافه شد و سپس حرارت داده شد تا کاملاً حل شود، بعد ۲ سی سی معرف اسید بوریک به محلول اضافه گردیده و در نهایت به حجم ۱۰۰۰ سی سی رسانده شد. از این محلول که به رنگ ارغوانی است به تعداد نمونه، ۵۰ سی سی در داخل ارلن‌های ۱۰۰ سی سی ریخته شد. یک نمونه از مرحله هضم که به رنگ شفاف مایل به سبز در اثر سولفات آمونیم بوده، برداشته و در دستگاه تقطیر در جای مخصوص خود قرار داده شده و یک نمونه هم از ارلن حاوی پنجاه سی سی اسید بوریک دو درصد را نیز برداشته و در داخل دستگاه تقطیر در جای مخصوص خود قرار داده شد.

در این مرحله طی واکنش‌هایی که با کمک آب مقطر و سود۵۰ درصد انجام می‌گیرد محیط کاملاً قلیایی شده و محلول اسید بوریک ۲ درصد که به رنگ ارغوانی, بود بعد از عمل تقطیر به رنگ سبز روشن در می‌آید. بعد از این مرحله، تیتراسیون شروع می‌شود. ج) مرحله سوم، تیتراسیون: بعد از عمل تقطیر، ارلن مایر که سبز رنگ شده از دستگاه خارج شده و با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتر گردید یعنی همزمان با تکان دادن ارلن, شیر بورت باز گردید (قطره قطره) تا رنگ سبز روشن تبدیل به ارغوانی (آبی سیر) شود.

در این زمان شیر بورت بسته شده و اسید مصرفی یادداشت گردید. این اعمال را برای تمامی نمونه‌ها و شاهد انجام می‌دهیم و برای هر کدام اسید مصرفی را یادداشت کرده، سپس با استفاده از فرمول زیر مقدار نیتروژن محاسبه شد:

$$\text{محاسبه نیتروژن بر حسب ماده خشک} = \frac{(T_1 - T_2) \times 100 \times (\text{نرمالیته اسید}) 0/1 \times 0/014}{\text{(میلی اکی والان گرم نیتروژن)}}$$

$$\text{مقدار رطوبت در یک گرم نمونه} - 1 \text{ (مقدار ماده خشک گرم)}$$

T۱= مقدار اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال مصرفی در تتراسیون در نمونه، T۲= مقدار اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال مصرفی در تتراسیون در شاهد، سپس معادلات لازم برای تبدیل عدد بدست آمده از محاسبه نیتروژن به مقدار نیتروژن موجود در نمونه (گرم نیتروژن جذب شده در نمونه) انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SAS بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل

تصادفی در ۳ تکرار انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت، رسم کلیه منحی‌ها و نمودارها توسط نرم افزارExcel 2007 انجام گردید.

نتایج و بحث

- درصد اسانس، عملکرد اسانس، درصد نیتروژن، درصد کامازولن و درصد آلفا بیسابلول:

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی ورمی‌کمپوست، مایه تلقیح، نیتروژن در سطح احتمال ۱ درصد و اثرت متقابل ورمی‌کمپوست در مایه تلقیح، مایه تلقیح در نیتروژن و اثر متقابل نیتروژن در ورمی‌کمپوست در سطح احتمال ۵٪ بر صفت درصد اسانس معنی‌دار شده است. همچنین عملکرد اسانس نیز در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر اثرات اصلی ورمی‌کمپوست، مایه تلقیح و سطوح نیتروژن قرار گرفت و سایر اثرات متقابل بر این صفت معنی دار نشدند.

اثرات اصلی ورمی‌کمپوست، مایه تلقیح و سطوح نیتروژن در سطح احتمال یک درصد بر صفت درصد نیتروژن اندام‌های هوایی و اثرات متقابل ورمی‌کمپوست در مایه تلقیح و ورمی‌کمپوست در نیتروژن در سطح احتمال ۵٪ برآن معنی دار شدند.

کلیه اثرات اصلی و متقابل بر صفت درصد کامازولن اسانس در سطح احتمال یک درصد معنی دار گردیدند همچنین درصد آلفا بیسابلول اسانس بابونه در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر کلیه اثرات اصلی و متقابل قرار گرفت.

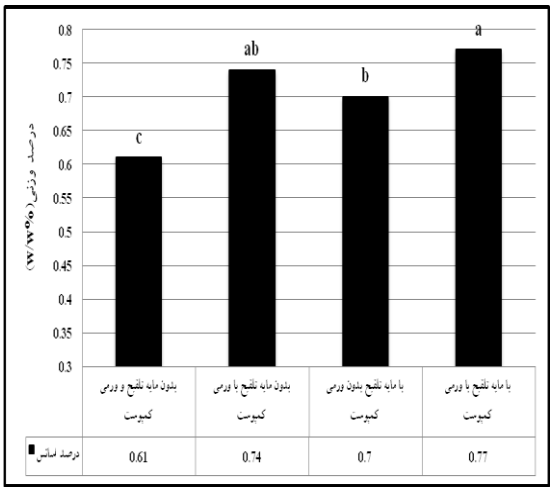
مقایسات میانگین مربوط به اثر متقابل کاربرد مایه تلقیح و ورمی‌کمپوست بر درصد اسانس نشان داد که مصرف توأم ورمی‌کمپوست و مایه تلقیح می‌تواند اثرمثبتی بر یکدیگر داشته باشند.

به طوری که درصد اسانس در صورت مصرف همزمان ورمی‌کمپوست و مایه تلقیح با رشد ۲۶ درصدی از ۰/۶۱ درصد به ۰/۷۷ درصد رسید در حالی که مصرف ورمی‌کمپوست بدون مایه تلقیح حدود ۲۱ درصد و مصرف مایه تلقیح تنها حدود ۱۵ درصد در افزایش درصد اسانس مؤثر بودند.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس برخی صفات مورد اندازه گیری در اسانس بابونه.

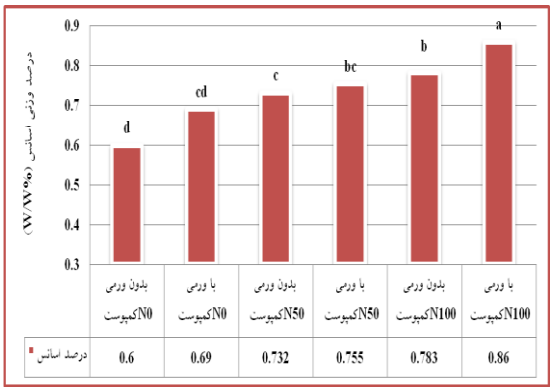
منابع تغییر	df	درصد آلفا بیسابلول	درصد کامازولن	درصد نیتروژن	عملکرد اسانس	درصد اسانس
بلوک (R)	۲	۰/۴۲ ns	۰/۴۵ ns	۰/۱۱ ns	۰/۴۵*	۰/۰۰۰۳ ns
ورمی‌کمپوست(V)	۱	۱۹/۹۳**	۱۲/۸۰**	۰/۴۳**	۴/۸۹**	۰/۷**
مایه تلقیح (F)	۱	۰/۵۳ ns	۳۲/۸۷**	۰/۰۹۵**	۳/۷۳**	۰/۱۴**
نیتروژن (N)	۲	۹۹۱/۰**	۱۲۴/۰**	۰/۶۸**	۱۴/۳۸**	۰/۲۹**
V×F	۱	۳/۰۴**	۱۲/۸۹**	۰/۲۳*	۰/۱۱ ns	۰/۰۰۳*
F×N	۲	۲۰/۲**	۶/۸۲**	۰/۰۹ ns	۰/۲۱ ns	۰/۰۰۵*
N×V	۲	۵/۲**	۹/۶**	۰/۰۱۷*	۰/۲۱ ns	۰/۰۰۳*
V×F ×N	۲	۱/۸۸**	۷/۳۴**	۰/۰۹ ns	۰/۰۱۴ ns	۰/۰۰۰۰۸
اشتباه آزمایشی (E)	۲۲	۰/۳۱۱	۰/۱۸۸	۰/۰۰۵	۰/۰۸۸	۰/۰۰۰۰۳
CVدرصد		۱/۷	۰/۹	۲/۹	۱/۹۶	۰/۹۱

ns غیر معنی‌دار، * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد



شکل ۲: اثرمتقابل سطوح مختلف ورمی‌کمپوست در مایه تلقیح بر درصد وزنی اسانس بابونه.

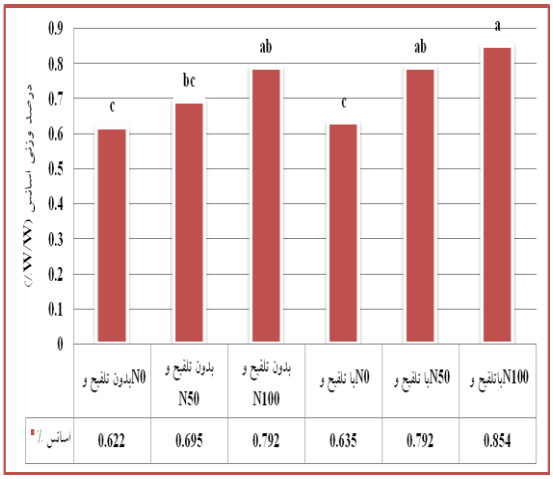
مقایسات میانگین مربوط به اثرمتقابل کاربرد مقادیر نیتروژن در ورمی‌کمپوست بر درصد اسانس نشان داد که مصرف توأم ورمی‌کمپوست و کود اوره می تواند اثر سینرژیستی بر یکدیگر داشته باشند. به طوری که درصد اسانس در صورت مصرف همزمان آن دو با رشد ۴۳ درصدی از ۰/۶۰ درصد به ۰/۸۶ درصد رسید در حالی که مصرف ورمی‌کمپوست بدون کود اوره حدود ۱۵ درصد و مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص حدود ۲۲ درصد در افزایش درصد اسانس مؤثر بودند. اثر ورمی‌کمپوست در بهبود درصد اسانس در سطوح مختلف نیتروژن متفاوت است و از ۱۵٪ در سطح N_0 تا ۳٪ در N_{50} و تا ۱۰ درصد در N_{100} متغیر است.



شکل ۳: اثر متقابل سطوح مختلف نیتروژن در ورمی‌کمپوست بر درصد وزنی اسانس بابونه.

مقایسات میانگین مربوط به اثرمتقابل کاربرد مقادیر نیتروژن در مایه تلقیح بر درصد اسانس نشان داد که مصرف توأم مایه تلقیح و کود اوره می‌تواند اثر هم افزایی بر یکدیگر داشته‌اند. به طوری که درصد اسانس در صورت مصرف همزمان آن دو با رشد ۳۷ درصدی از ۰/۶۶۲ درصد به ۰/۸۵۴ درصد رسید در حالی که مصرف مایه تلقیح با ۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص از منبع کود اوره حدود ۲۷ درصد در افزایش درصد اسانس مؤثر بودند.

اثر مایه تلقیح در بهبود درصد اسانس در سطوح مختلف نیتروژن متفاوت است و در صورت استفاده از مایه تلقیح، اختلاف سطوح ۵۰ تا ۱۰۰ کیلوگرم نیتروزن خالص ۷٪ است در حالی که در صورت عدم استفاده از مایه تلقیح این اختلاف تا ۱۴ درصد است و این نشان می‌دهد که در سطوح متوسط نیتروژن اثر مایه تلقیح بیش‌تر نمایان می‌گردد و در سطوح بالای نیتروژن اثر مایه تلقیح کاهش می‌یابد.



شکل ۴: اثرمتقابل سطوح مختلف نیتروژن در مایه تلقیح بر درصد وزنی اسانس بابونه.

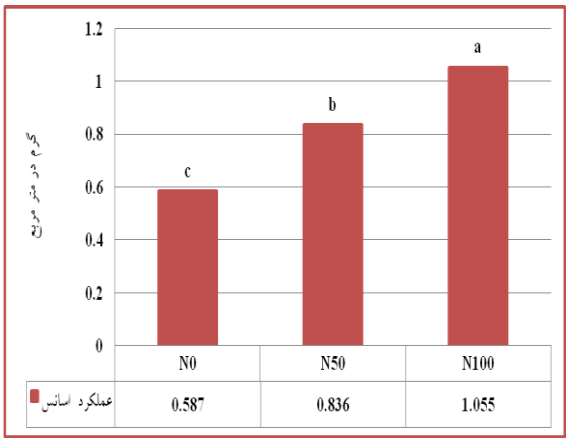
اثر مصرف ورمی‌کمپوست بر عملکرد اسانس حدود ۲۴٪ است و عملکرد از ۷۳۶ کیلوگرم در شرایط بدون مصرف ورمی‌کمپوست به ۹۱۵ کیلوگرم با مصرف ورمی‌کمپوست رسید.

شکل ۵: اثر سطوح مختلف ورمی‌کمپوست بر عملکرد اسانس بابونه.

اثر مصرف مایه تلقیح نیز بر عملکرد اسانس حدود ۱۵٪ است و عملکرد از ۷۶۷ کیلوگرم در شرایط بدون مصرف ورمی‌کمپوست به ۸۸۵ کیلوگرم با مصرف مایه تلقیح رسید.

شکل ۶: اثر سطوح مختلف مصرف مایه تلقیح بر عملکرد اسانس بابونه.

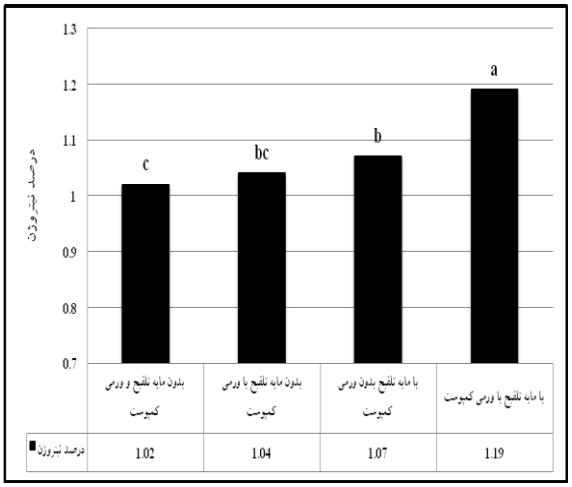
اثر مصرف سطوح مختلف نیتروژن هم بر عملکرد اسانس بسیار معنی دار شد به طوری که مصرف یکصد کیلوگرم نیتروژن حدود ۷۹٪ در عملکرد اسانس مؤثر بود و مقدار آن را از ۵۸۷ کیلوگرم به ۱۰۵۵ کیلوگرم رساند و مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن نیزحدود ۴۲ درصد بر عملکرد مؤثر بود و عملکرد به ۸۳۶ کیلوگرم رسید.



شکل ۷: اثر سطوح مختلف نیتروژن بر عملکرد اسانس بابونه.

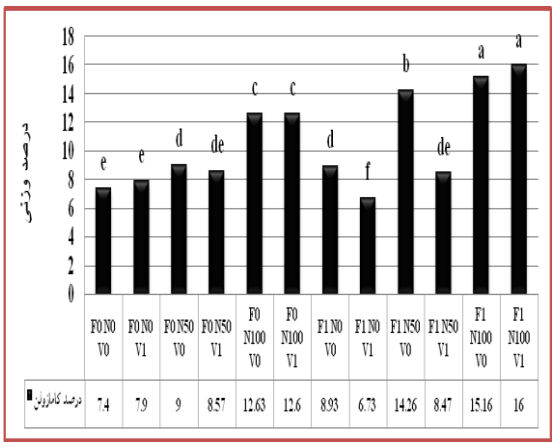
مقایسات میانگین مربوط به اثرمتقابل کاربرد مایه تلقیح و ورمی‌کمپوست بر درصد نیتروژن نشان داد که مصرف توأم ورمی‌کمپوست و مایه تلقیح می تواند اثر هم افزایی بر یکدیگر داشته باشند. به طوری که درصد نیتروژن در صورت مصرف همزمان ورمی‌کمپوست و مایه تلقیح با رشد ۱۷ درصدی از ۱/۰۲ درصد به ۱/۱۹ درصد رسید در حالی که مصرف ورمی‌کمپوست بدون مایه تلقیح حدود ۲ درصد و مصرف مایه تلقیح تنها حدود ۵ درصد در افزایش درصد نیتروژن مؤثر بودند.

مقایسات میانگین مربوط به اثر متقابل کاربرد مقادیر نیتروژن در ورمی‌کمپوست بر درصد نیتروژن نشان داد که مصرف توأم ورمی‌کمپوست و کود اوره می‌تواند اثر مثبت و سینرژیستی در بهبود درصد نیتروژن بر یکدیگر داشته باشند. به طوری که درصد نیتروژن در صورت مصرف همزمان آن دو با رشد ۵۷ درصدی از ۰/۹۰۲ درصد به ۱/۴۲ درصد رسید در حالی که مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نتیتروژن خالص بدون ورمی‌کمپوست ۴۱ درصد و مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص با ورمی‌کمپوست حدود ۱۶ درصد و مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص بدون ورمی‌کمپوست حدود ۶ درصد در افزایش درصد نیتروژن مؤثر بودند.



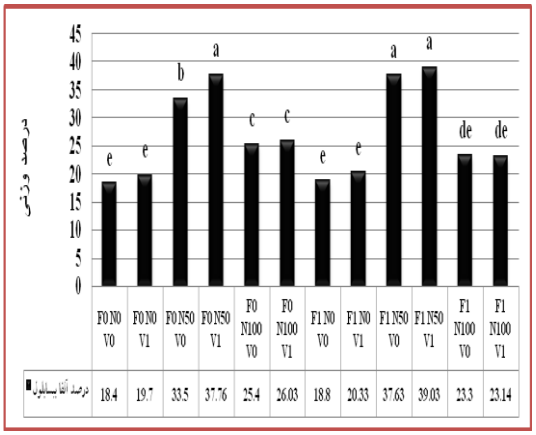
شکل ۸: اثر متقابل مصرف مایه تلقیح در سطوح مختلف ورمی‌کمپوست بر درصد نیتروژن اندام هوایی بابونه.

شکل ۹: اثر متقابل سطوح نیتروژن در سطوح مختلف ورمی‌کمپوست بر درصد نیتروژن اندام هوایی.



شکل ۱۰: اثر متقابل سه گانه مصرف ورمی‌کمپوست، نیتروژن و مایه تلقیح بر درصد کامازولن اسانس بابونه.

نتایج مقایسات میانگین اثر متقابل سه گانه ورمی‌کمپوست، نیتروژن و مایه تلقیح درصد کامازولن اسانس نشان داد که مصرف همزمان یکصد کیلوگرم نیتروژن، مایه تلقیح و ورمی‌کمپوست توانست تا ۱۱۶ درصد در بهبود درصد کازولن اسانس بابونه مؤثر باشد و مقدار آن را از ۷/۴ درصد به ۱۶ درصد برساند و همچنین مصرف همزمان یکصد کیلوگرم نیتروژن، مایه تلقیح بدون ورمی‌کمپوست نیز تا ۱۰۵ درصد در بهبود این صفت مؤثر واقع شدند. در مجموع اثر سطوح مختلف تیمارها بر این صفت متفاوت بود و نشان داد که در مقادیر بالای نیتروژن درصد کامازولن افزایش یافته است و در سطوح بالای نیتروژن اثر مایه تلقیح بیش از مصرف ورمی‌کمپوست بوده است. کم‌ترین درصد کامازولن اسانس در سطوح بدون کود با و بدون مصرف ورمی‌کمپوست و مایه تلقیح به دست آمد. رحمتی و همکاران (۱۳۸۹) با بررسی اثرات سطوح مختلف نیتروژن و تراکم بوته بر ویژگی‌های ظاهری، عملکرد، میزان اسانس و درصد کامازولن بابونه (Matricaria recutita L.) اصلاح شده رقم جرمانیا نشان دادند که درصد و عملکرد اسانس و درصد کامازولن با افزایش کود اوره تا سطح ۱۰ گرم در مترمربع افزایش یافتند.



شکل ۱۱: اثر متقابل سه گانه مصرف ورمی‌کمپوست، نیتروژن و مایه تلقیح بر درصد آلفا بیسابلول اسانس بابونه.

نتایج مقایسات میانگین اثر متقابل سه گانه ورمی‌کمپوست، نیتروژن و مایه تلقیح بر میزان آلفا بیسابلول اسانس بابونه نشان داد که بالاترین مقادیر این ترکیب به ترتیب به میزان ۳۹/۰۳، ۳۷/۷۶ و ۳۷/۶۳ درصد از تیمار ۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص به همراه مایه تلقیح و ورمی‌کمپوست، ۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص بدون مایه تلقیح و با ورمی‌کمپوست و مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص به همراه مایه تلقیح و بدون ورمی‌کمپوست به دست آمد و مقدار این ترکیب با افزایش نیتروژن تا سطح ۱۰۰ و یا عدم مصرف نیتروژن کاهش یافت. کم‌ترین مقادیر آلفا بیسابلول به مقدار ۱۸/۴٪، ۱۸/۸، ۱۹/۷ و ۲۰/۳۳ از تیمارهای بدون مصرف کود و مایه تلقیح و ورمی‌کمپوست، مصرف مایه تلقیح بدون نیتروژن و بدون ورمی‌کمپوست، مصرف ورمی‌کمپوست بدون مایه تلقیح و نیتروژن، مصرف ورمی‌کمپوست و مایه تلقیح بدون نیتروژن به دست آمد. درزی و همکاران (۱۳۸۷) با کاربرد میکوریزا، ورمی کمپوست و کود فسفات زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی رازیانه نشان دادند که بیش‌ترین میزان اسانس (۳/۸۸٪) در دانه و میزان آنتول در اسانس (۶۸/۴۲٪) و کم‌ترین میزان فنکون (۱۱/۰۶۸٪) و لیمون (۱۰/۴۴٪) در اسانس در تلقیح با میکوریزا حاصل شد. بیش‌ترین میزان اسانس در دانه به میزان ۳/۸۶٪ و میزان آنتول در اسانس ۶۷/۹۰٪ با مصرف ۶۰ کیلوگرم کود زیستی و نیز کم‌ترین میزان لیمونن در اسانس ۱۰/۵۹ درصد با مصرف ۳۰ کیلوگرم از آن به دست آمد در حالی که بیش‌ترین میزان اسانس دانه (۴/۰۳٪) و میزان آنتول در اسانس (۷۱/۴۷٪) با مصرف ۱۰ تن ورمی‌کمپوست حاصل شد.

جدول۲- نتایج کروماتوگرافی گازی، شناسایی درصد ترکیبات مختلف اسانس بابونه به روش GC/MS.

	شماره پیک	شماره نمونه‌ها و درصد هر یک از مواد در نمونه‌های بابونه						
Compounds			V1					
			F0N0	F0N50	F0N100	F1N0	F1N50	F1N100
Pyridin	1	775	0.9	-	0.7	1.0	-	0.8
2-pentyl furan	2	840	1.2	0.7	0.9	1.4	0.7	1.1
Tricyclene	3	881	0.8	0.8	1.3	0.9	1.4	-
α-thujene	4	920	1.5	1.8	1.0	1.4	0.9	1.4
α-pinene	5	941	1.6	2.1	0.9	0.9	0.7	3.7
Camphene	6	950	1.1	0.9	2.5	2.1	1.5	1.2
Benzaldehyde	7	961	0.8	1.9	1.3	1.4	1.4	1.0
Sabinene	8	969	1.9	1.4	1.7	1.6	1.1	1.8
β-pinene	9	980	2.4	0.7	1.6	1.0	0.9	2.0
α-phellandrene	10	989	7.1	3.9	11.1	9.3	4.0	10.1
Myrcene	11	998	1.0	1.8	2.1	1.0	0.8	1.3
1,8-cineole	12	1019	2.1	3.4	1.7	1.4	1.2	1.7
P-cymene	13	1029	1.3	1.3	5.7	0.9	1.4	2.4
Trans-β-ocimene	14	1038	1.1	0.8	0.9	1.4	1.0	0.9
γ-terpinene	15	1068	2.1	1.8	0.7	1.0	0.9	1.1

Cis-sabinene hydrate	16	1079	0.9	1.9	1.8	1.3	4.0	1.4
Terpinolene	17	1088	1.3	0.8	1.7	1.0	1.4	1.7
Linalool	18	1106	1.5	-	0.8	0.8	0.9	0.8
Trans-para-menta-2-one	19	1194	1.2	1.7	1.7	1.4	0.7	1.3
Carvacrol methyl ether	20	1241	0.9	1.6	2.4	0.7	1.0	2.2
Thymoquinon	21	1255	0.8	2.7	3.3	1.1	1.7	1.0
Carvacrol	22	1306	1.2	0.9	1.7	1.2	1.8	1.3
β-caryophyllene	23	1420	2.1	1.8	0.9	1.0	1.7	2.3
E-β-Franesol	24	1459	10.4	5.2	4.3	9.3	8.1	10.2
Muurolol	25	1497	1.3	2.4	1.9	2.1	0.9	-
Spathulenol	26	1561	1.9	0.9	1.5	0.9	1.0	1.3
Caryophyllen oxide	27	1588	1.2	1.6	2.0	0.7	1.5	1.4
β-Bisabolol	28	1647	8.1	4.4	3.7	8.4	2.5	7.1
Z-E- Feranesol	29	1706	4.4	1.5	1.9	6.1	2.0	5.4
E-E-Feranesol	30	1720	0.9	1.3	1.5	1.0	0.7	0.8
Camazulene	31	1739	12.82	8.0	6.7	16.4	8.4	7.7
α-bisabolol oxide	32	1829	19.5	38.5	26.3	19.0	39.1	21.1
Isopropyl hexa decanoate	33	1905	1.8	0.9	2.0	1.1	1.7	0.8

ادامه جدول ۲.

Compounds	شماره پیک		شماره نمونه ها و درصد هر یک از مواد در نمونه‌های بابونه					
			V0					
			F0N0	F0N50	F0N100	F1N0	F1N50	F1N100
Pyridin	1	775	-	0.9	1.2	-	-	1.1
2-pentyl furan	2	840	1.6	0.8	1.5	0.9	-	1.5
Tricyclene	3	881	1.2	1.4	0.8	0.7	1.1	0.7
α-thujene	4	920	0.9	1.1	1.2	1.2	1.4	1.4
α-pinene	5	941	1.2	0.9	1.9	1.6	0.8	4.1
Camphene	6	950	2.2	1.1	-	1.5	1.1	0.8
Benzaldehyde	7	961	1.2	0.7	1.9	1.6	2.1	0.7
Sabinene	8	969	0.8	1.6	0.8	1.0	1.9	1.5
β-pinene	9	980	5.7	1.3	1.7	1.4	1.1	2.5
α-phellandrene	10	989	1.4	3.4	7.2	10.1	4.6	11.1
Myrcene	11	998	1.2	1.9	1.0	1.5	0.8	0.7
1,8-cineole	12	1019	1.4	1.1	0.9	0.8	1.6	1.1
P-cymene	13	1029	1.3	3.4	1.7	1.1	1.2	2.6
Trans-β-ocimene	14	1038	1.7	1.4	1.2	1.2	1.3	-

γ-terpinene	15	1068	0.9	1.3	1.3	1.0	0.7	0.8
Cis-sabinene hydrate	16	1079	5.9	1.1	1.0	1.5	4.4	1.1
Terpinolene	17	1088	1.2	0.8	1.6	1.6	2.0	2.4
Linalool	18	1106	1.3	1.8	4.2	0.7	1.1	0.9
Trans-para-menta-2-one	19	1194	2.4	1.2	1.0	1.2	0.8	1.1
Carvacrol methyl ether	20	1241	1.7	1.7	0.8	0.9	1.2	2.6
Thymoquinon	21	1255	1.2	0.8	0.9	1.4	1.7	1.3
Carvacrol	22	1306	2.8	1.4	1.4	1.1	0.9	0.7
β-caryophyllene	23	1420	1.5	2.1	0.9	1.2	0.7	2.0
E-β-Franesol	24	1459	11.1	8.1	5.1	8.5	9.2	11.7
Muurolol	25	1497	-	0.9	1.8	1.5	1.3	0.7
Spathulenol	26	1561	2.3	1.5	3.5	1.7	1.5	0.8
Caryophyllen oxide	27	1588	0.7	1.7	1.1	0.9	0.8	1.4
β-Bisabolol	28	1647	6.1	4.6	2.5	7.7	1.6	6.6
Z-E- Feranesol	29	1706	3.7	2.2	4.0	5.7	2.0	5.4
E-E-Feranesol	30	1720	2.5	2.8	1.0	1.4	0.8	0.9
Camazulene	31	1739	12.7	8.9	14.4	15.3	8.7	7.1
α-bisabolol oxide	32	1829	18.3	33.5	24.1	18.5	38.5	20.3
Isopropyl hexa decanoate	33	1905	0.8	1.4	2.4	1.6	1.1	1.4

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل این پژوهش نشان داد که مصرف همزمان ورمی‌کمپوست و اوره توانستند با اثر سینرژیستی بر یکدیگر، در افزایش درصد اسانس و ترکیبات آن‌ها اثر بهتری داشته باشند. اثر ورمی‌کمپوست در بهبود درصد اسانس در سطوح مختلف نیتروژن متفاوت است و از ۱۵٪ در سطح N_0 تا ۳٪ در N_{50} و تا ۱۰ درصد در N_{100} متغیر بود. اثر مصرف سطوح مختلف نیتروژن هم بر عملکرد اسانس بسیار معنی‌دار شد به طوری که مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن حدود ۷۹٪ در عملکرد اسانس مؤثر بود و مقدار آن را از ۵۸۷ کیلوگرم به ۱۰۵۵ کیلوگرم رساند و مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن نیز حدود ۴۲ درصد بر عملکرد مؤثر بود و عملکرد به ۸۳۶ کیلوگرم رسید. در مقادیر بالای نیتروژن درصد کامازولن افزایش یافته است و در سطوح بالای نیتروژن اثر مایه تلقیح بیش از مصرف ورمی‌کمپوست بوده است. کم‌ترین مقادیر آلفا بیسابلول به مقدار ۱۸/۴٪، ۱۸/۸، ۱۹/۷ و ۲۰/۳۳ از تیمارهای بدون مصرف کود و مایه تلقیح و ورمی‌کمپوست، مصرف مایه تلقیح بدون نیتروژن و بدون ورمی‌کمپوست، مصرف ورمی‌کمپوست بدون مایه تلقیح و نیتروژن، مصرف ورمی‌کمپوست و مایه تلقیح بدون نیتروژن به دست آمد. بیش‌ترین مقدار آلفا بسیابلول با مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص حاصل شد و مقدار این ترکیب با افزایش نیتروژن تا سطح ۱۰۰ و یا عدم مصرف نیتروژن کاهش یافت. در نهایت می‌توان گفت که مصرف ورمی‌کمپوست و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و همچنین مصرف

متعادل نیتروژن توانست در بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی بابونه و درصد اسانس و ترکیبات دارویی آن مؤثر باشد و لذا می‌توان با جایگزین نمودن ورمی‌کمپوست و باکتری‌های محرک رشد به جای قسمتی از کود نیتروژن که آلاینده محیط زیست شناخته شده است، از این مواد آلی به عنوان مکمل نهاده‌های شیمیایی بهره جست.

سپاس‌گذاری

از بخش تحقیقات گیاهان دارویی ایستگاه تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اردبیل و نیز بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش‌بنیان پژوهشگران داروی سبز که در تامین هزینه طرح پژوهشی و فعالیت‌های آزمایشگاهی همکاری داشته‌اند قدردانی می‌نمائیم.

منابع

[۱] آستارایی، ع.، ۱۳۸۵، بررسی تأثیر کمپوست زباله شهری و ورمی‌کمپوست بر عملکرد گیاه دارویی اسفرزه. فصلنامه گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۳ (پیاپی ۳۳): ۱۸۷-۱۸۰.

[۲] آمارنامه کشاورزی.، ۱۳۹۱، جلد اول: محصولات کشاورزی. مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات وزارت جهاد کشاورزی، وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی. ۱۵۶ صفحه.

[۳] آمارنامه کشاورزی.، ۱۳۹۱، جلد دوم. مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات وزارت جهاد کشاورزی، وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی. ۴۲۵ صفحه.

[۴] بی‌نام.، ۱۳۹۰، آمارنامه کشاورزی استان اردبیل، اداره آمار و فناوری اطلاعات، معاونت برنامه‌ریزی و امور اقتصادی سازمان جهاد کشاورزی استان، ۱۲۵ ص.

[۵] بی نام.، ۱۳۸۸، وضعیت گیاهان دارویی در پوشش گیاهی استان اردبیل، نشریه اداره کل منابع طبیعی استان اردبیل، ۳۸ صفحه.

[۶] ابراهیمی، ع.، ۱۳۸۷، برنامه توسعه پایدار گیاهان دارویی کشور. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۴۳ صفحه.

[۷] احمدیان، الف.، قنبری، الف.، سیاه سر، ب.، ۱۳۹۰، اثر تنش خشکی و مصرف انواع کود آلی و معدنی و بقایای آن‌ها بر عملکرد و اجزای عملکرد با بونه آلمانی. نشریه بوم شناسی کشاورزی. جلد سوم. شماره ۳. صفحه ۳۹۵-۳۸۳.

[۸] امیدبیگی، ر.، ۱۳۸۵، رهیافت های تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد اول .انتشارات فکر روز، تهران، ۲۸۳ صفحه.

[۹] امیدبیگی، ر.، ۱۳۷۶، رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد دوم. انتشارات طراحان نشر، تهران، ۴۲۴ صفحه.

[۱۰] پیراسته انوشه، ه.، امام، ی.، جمالی رامین، ف.، ۱۳۸۹، مقایسه اثر کودهای زیستی با کودهای شیمیایی بر رشد، عملکرد و درصد روغن آفتابگردان (Helianthus annuss L.) در سطوح مختلف تنش خشکی. نشریه بوم شناسی کشاورزی. جلد (۲). پاییز ۱۳۸۹. ص: ۵۰۱-۴۹۲.

[۱۱] صالحی، ا.، قلاوند، ا.، سفید کن، ف.، و اصغرزاده، ا.، ۱۳۹۰، تأثیر کاربرد زئولیت، مایه تلقیح میکروبی و ورمی‌کمپوست بر غلظت N، P، K و عملکرد دانه در گیاه دارویی بابونه (chamomilla Matricaria L.). فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۷ ، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۲۰۱-۱۸۸.

[۱۲] صفرخانلو، ل.، ترکمانی بجدنی، ح.، ۱۳۹۱، تولید ورمی‌کمپوست، روش نوین مدیریت پسماند. سومین همایش ملی مدیریت پسماند. دانشگاه صنعتی شریف. خرداد ماه ۱۳۹۱. صفحه: ۴۸۸-۴۷۹.

[۱۳] عبادی، م.ت.، فلاحی، ج.، عزیزی، م.، رضوانی مقدم، پ.، ۱۳۸۷، بررسی تأثیر استفاده از کودهای آلی بر فاکتورهای رشد و میزان عملکرد دو رقم بابونه اصلاح شده. اولین همایش ملی مدیریت و توسعه پایدار در ایران. موسسه عالی علمی و پژوهشی سیمای دانش. ۱۲۳-۱۱۲.

[14] Glick, B.R., 1995, The enhancement of plant growth promotion by free living bacteria. Can. J.Micribiol. 41:109-117.

[15] Gupta, M.L., Prasad, A., Ram, M. and kumar, S., 2002, Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus Glomus fasiculatum on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (Mentha arvensis) under field conditions. Bioresource Technology, 81: 77-79.

[16] Haj Seyed Hadi, M.R., Dorzi, M.T, and Sharifi Ashoorabadi, E., 2008, Study the effects of conventional and low input production system on quantitative and qualitative yield of Silybum marianum L. 2nd Conference of theInternational Society of Organic Agriculture Research ISOFAR, Modena, Italy.

[17] Hornok, L., 1992, Cultivation and processing of medicinal plant. Acad. Pub. Budapest, 338 p.

[18] Klopper, J.W., and Schroth, M., 1978, Plant growth promoting rhizobactera on radish. Proceeding of international Conference on Plant Pathogenic Bacteria 2:879-882.

[19] Kloepper, J.W., Lifshitz, R., and Zablotwicz, R.M., 1990, Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. Trends Biotechnol. 7:39-43.

[20] Leithy, S., El-Meseiry, T.A., and Abdallah, E.F., 2006, Effect of biofertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on Rosemary herbage oil yield and quality. Journal of Applied Research 2: 773-779.

[21] Liuc, J., and Pank, B., 2005, Effect of vermicompost and fertility levels on growth and oil yield of Roman chamomile. Scientia Pharmaceutica 46: 63-69.

[22] Mcginnis, M., Cooke, A., Bilderback, T., and Lorscheider, M., 2003, Organic fertilizers for basil transplant production. Acta Horticulturea 491: 213- 218.

[23] Manaffee, W.f. AND Kloepper, J.W., 1994, Applications of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture. In: Soil biota management in sustainable farming systems, Pankburst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V. V. S. R., and Grace, P. R., eds. Pp: 23-31 CSIRO, Pub. East Melbourne, Australia.

[24] Raj, S.N. and A. C, Gaur., 1988, Charavtereization of Azotobacter spp. and effect of Azotobacter and Azosprillum as inoculant on the yield and N-Uptake of wheat crop. Plant abd soil. 109: 131 – 134.

[25] Robin, A., Szmidt, R.A.K., and Dickson, W., 2001, Use of compost in agriculture, Frequently Asked Questions (FAQs). Remade Scotland. pp. 324- 336.
[26] Pirzad, A., Alyari, H., Shakiba, M.R., Zehtab-Salmasi, S., Mohammadi, A., 2006, Essential oil content and composition of German chamomile (Matricaria chamomilla L.) at different irrigation regimes. Agronomy Journal 5 (3):451-455.