نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دهم، شماره ۳۸، تابستان ۱۳۹۴ / صفحات: ۹۱-۸۲

اثر باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر کاهش مصرف کود فسفری بر گیاه شوید (*Aniethum graveolens* L.)

بهزاد کاویانی*[۱]، محمدحسین انصاری[۲]، داود هاشم‌آبادی[۳]

[۱] استادیار، گروه باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

[۲] استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

[۳] استادیار، گروه باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۹٤/٤/۲۲ تاریخ پذیرش:۹٤/٦/۱

چکیده

به منظور بررسی اثر سویه‌های باکتری حل‌کننده فسفات و سطوح مختلف کود فسفری بر عملکرد و میزان اسانس گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens* L.) آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در اراضی پیرامون شهرستان اردبیل در سال ۱۳۹۰ اجرا گردید. فاکتورهای آزمایشی شامل ۳ سطح مصرف کود فسفات (۰، ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم سوپرفسفات تریپل در هکتار) و چهار سطح باکتری حل‌کننده فسفات (سه سویه باکتری سودوموناس پیوتیدا سویه R-168، R-173, R-113 و بدون تلقیح با باکتری) بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سویه‌های باکتری بر ارتفاع گیاه، عملکرد بذر، میزان اسانس، مقدار آلفا فلاندرن، لیمونن، دیل اتر، ترانس دی هیدروکاروون، فسفر و آهن، معنی‌دار بود. مقایسه میانگین نشان داد که سویه R-113 در سطح ۷۵ کیلوگرم کود فسفات بالاترین بازدهی بذر را موجب شد. سویه R-168 نیز بیشترین میزان اسانس و بالاترین مقدار آلفا فلاندرن، لیمونن و دیل‌اتر را تولید کرد. با توجه به نتایج بدست آمده با استفاده از این باکتری‌ها علاوه بر کاهش یک سوم مصرف کود فسفات توصیه شده، می‌توان کیفیت محصول را نیز بالا برد.بنابراین جایگزینی باکتری‌های حل‌کننده فسفات برای افزایش عملکرد و همچنین کیفیت گیاه شوید توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، باکتری حل‌کننده فسفات، شوید، کود فسفری

مقدمه

فسفر بعد از نیتروژن مهم‌ترین عنصر مورد نیاز گیاهان و مهم‌ترین نقش آن در فرآیند تولید و انتقال انرژی است. شکل‌های مختلف فسفر در خاک به‌وسیله خصوصیات طبیعی خاک شامل pH، کاتیون‌های محلول و تبادلی (Mg^{+2}, Ca^{+2}, Fe^{+2})، نوع ذرات خاک و سطح آن‌ها کنترل می‌شود. این عنصر در خاک به دو شکل معدنی و آلی یافت می‌شود که شکل معدنی آن به صورت ۱۷۰ کانی مختلف شامل ترکیبات کلسیم، آهن، آلومینیوم، فلور و شکل آلی آن به صورت ترکیبات فیتین، فسفولیپیدها و اسید نوکلئیک است (Jones and Oburger, 2011).تأمین فسفر مورد نیاز گیاهان از طریق کودهای شیمیایی و بیولوژیک امکان‌پذیر است. مقدار زیادی از فسفر موجود در کودهای شیمیایی بعد از ورود به خاک نامحلول می‌شود، به‌طوری‌که در خاک‌های آهکی به

*نویسنده مسئول: b.kaviani@yahoo.com

ترکیبات نامحلول کلسیم و منیزیم و در خاک‌های اسیدی به فسفات آهن و آلومینیوم تبدیل شده و از دسترس گیاهان خارج می‌شود. اگر یون‌های آهن، آلومینیوم کلسیم و منیزیم در محیط واکنش وجود داشته باشند، در شرایط اسیدی فسفات‌های نامحلول آهن و آلومینیوم و در pH بالا فسفات‌های نامحلول کلسیم و منیزیم (به خصوص فسفات کلسیم) رسوب می‌نماید. دامنه pH خاک‌های زراعی بین ۵ تا ۸ در نوسان است (Hoberg et al., 2005).

استفاده از ریزجاندارانی بنام حل‌کننده‌های فسفات برای تبدیل شکل نامحلول فسفر به شکل محلول ضروری به نظر می‌رسد. بیشترین درصد ریزجانداران حل‌کننده فسفات را در خاک، باکتری‌ها و قارچ‌ها تشکیل می‌دهند. این ریزجانداران قادرند ترکیبات نامحلول فسفر را حل کرده و فسفر موجود در آن‌ها را آزاد نمایند. مشخص شده است که باکتری‌های حل‌کننده فسفات نه تنها راندمان جذب کود را بالا می‌برند بلکه باعث افزایش محصول نیز می‌گردند (Whitelaw et al., 2000).

از طرف دیگر یکی از عواملی که باعث به هم خوردن توازن ترکیبات شیمیایی و ماده مؤثره در گیاهان به ویژه گیاهان دارویی می‌شود مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی است، که منجر به افت خاصیت دارویی شده و ارزش تجاری و درمانی آن‌ها را کاهش می‌دهد (Yili et al., 2006).

شوید (*Aniethum graveolens* L.) یک گیاهی دارویی است و از جمله خواص دارویی آن درمان بیماری‌های هیسترپلازی، پروستات، سوزش مجاری ادرار، تصلب شرائین، تنظیم دستگاه گوارش و تنظیم هورمون‌های جنسی در زنان و مردان می‌باشد (Jana and Shekhawat, 2010). تولید گیاهان دارویی و معطر با استفاده از کودهای زیستی برای بهبود خواص دارویی و توازن ترکیبات مؤثره آن یک فرایند ضروری است (Yili et al., 2006).

بنابراین با عنایت به لزوم گسترش استفاده از این میکروارگانیسم‌ها در جهت کاهش مصرف کودهای شیمیایی و بهبود سلامت جامعه، آزمایشی با استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات و کود شیمیایی فسفات بر کیفیت، جذب عناصر غذایی، ماده مؤثره و عملکرد گیاه شوید انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در یکی از مزارع حومه شهر اردبیل با ارتفاع ۱۳۵۰ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ′۲۰ °۴۸ و عرض جغرافیایی ′۱۹ °۳۸ اجرا شد. نتایج حاصل از تجزیه خاک مزرعه آزمایشی نشان داد که در عمق ۳۰-۰، pH خاک ۷/۶، هدایت الکتریکی خاک در حدود ۰/۸۳ دسی زیمنس بر متر، بافت خاک از نوع سیلتی-لومی و درصد لای، رس، و شن آن به ترتیب ۴۲، ۳۶ و ۲۶ درصد است. مشخصات کامل خاک به شرح جدول ۱ می‌باشد.

جدول ۱: خواص فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

Depth (cm)	Ec ($dS.m^{-1}$)	pH	OC (%)	N (%)	P	K	Zn	Fe	Mn	Cu	شن (٪)	سیلت (٪)	رس (٪)
					($mg.kg^{-1}$)								
۰-۳۰	۰/۸۳	۷/۶	۰/۸	۰/۰۸	۷/۲	۲۲۸	۰/۵۲	۳/۸	۹/۱۲	۱/۱۲	۲۶	۴۲	۳۶
۳۰-۶۰	۱/۰۷	۷/۷	۰/۵۱	۰/۰۴	۶/۵	۱۹۵	۰/۳۱	۳	۶/۲	۰/۷۹	۲۶	۳۱	۴۶

فاکتورهای آزمایش:ش به فاکتورهای آزمایشی عبارت بودند از: ۳ سطح مصرف فسفات (۰، ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم سوپرفسفات تریپل در هکتار معادل ۰، ۳٤/۵ و ۷۰ کیلوگرم فسفر خالص در هکتار) و چهار سطح باکتری حل‌کننده فسفات (سه سویه باکتری سودوموناس پوتیدا (*Pseudomonas putida*) سویه R-168، R-173, R-113 و بدون تلقیح با باکتری). یبه طول ۲ متر و فاصله ردیف‌های کشت ٤۰ سانتی‌متر در بهار قبل از کاشت، عملیات شخم و دیسک انجام و بعد از تسطیح زمین، اقدام به کاشت گردید.

آماده‌سازی بذر: بذر شوید مورد استفاده از بخش گیاهان دارویی موسسه جنگل‌ها و مراتع تهیه شد. جهت تهیه تیمارها، بذرها به‌وسیله صمغ عربی آغشته و باکتری‌های مورد نظر با توده بذر تلقیح گردید. همگی این باکتری‌ها بومی خاک‌های کشور بوده و توسط بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب، جدا و خالص‌سازی شده و مایه تلقیح آن‌ها تهیه شد. برای تلقیح بذرها میزان هفت گرم مایه تلقیح که در هرگرم آن $۱۰^{۷}$ عدد باکتری زنده و فعال وجود دارد مورد استفاده قرار گرفت. میزان مصرف بر اساس دستورالعمل موسسه تحقیقات آب و خاک بود.

کشت بذر: پس از تلقیح بذور و خشک‌کردن در سایه عملیات کاشت در تاریخ ۱۳ اردیبهشت ماه با توصیه‌های صورت‌گرفته انجام شد که با تراکم ١٤ بذر در مترمربع به صورت دستی و با کشت ۲ بذر در هر کپه کاشته شد. تراکم مورد نظر از طریق فاصله بذور بر روی ردیف تنظیم شد، بدین صورت که در هر کپه ۲ بذر کشت و در موقع تنک‌کردن در مرحله ۱۲ روز پس از سبزشدن یک بوته نگهداری شد. آبیاری مزرعه با توجه به وضعیت رطوبتی خاک و شرایط محیطی انجام و در طول دوره رشد به‌منظور مبارزه با علف‌های هرز وجین دستی اعمال گردید. در طول فصل رشد یادداشت‌برداری‌ها و نیز نمونه‌برداری‌های لازم در مورد اندازه‌گیری صفات مورد بررسی انجام گرفت. برای پرهیز از اثرات حاشیه‌ای، یادداشت‌برداری‌ها و نمونه-برداری‌از ٤ ردیف داخلی (۲ ردیف از ٦ ردیف کاشت کناری به عنوان حاشیه در نظر گرفته شدند) و نیز با حذف حدود نیم متر از ابتدا و انتهای هر ردیف انجام شد.

برداشت گیاه: در هر کرت بعد از حذف دو ردیف انتها از طرفین و نیم متر حاشیه از طرفین انتهایی خط کاشت کلیه کرت‌ها، بوته‌های موجود در ردیف‌های میانی کرت با دست برداشت و سپس با چسباندن اتیکت مخصوص هر کرت و گذاشتن به داخل پاکت به آزمایشگاه انتقال یافت. پس از خشک‌شدن در هوای آزاد، دانه با کوبیدن از کاه جدا گردید و مقدار دانه به-دست‌آمده از هر کرت به عنوان عملکرد دانه بر حسب گرم تعیین شد. سپس عملکرد دانه بر حسب کیلوگرم در هکتار محاسبه گردید. برای تعیین تعداد شاخه‌های فرعی و ارتفاع بوته‌ها، برداشت ۳۰ بوته انتخاب و میانگین بوته‌های برداشتی به عنوان ارزش آن صفت در جدول تجزیه واریانس در نظر گرفته شد.

اندازه گیری میزان اسانس و تعیین ترکیبات آن: برای اندازه‌گیری اسانس و ترکیبات موجود در اسانس (میزان آلفافلاندرن، ترانس دی هیدروکاروون، کاروون، لیمونن و دیل اتر) از ردیف دوم هر واحد آزمایشی در مرحله رسیدگی دانه‌ها، سه بوته برداشت شده و به

آزمایشگاه انتقال یافت. درصد رطوبت در هر یک از نمونه‌ها با روش آزیوتروپیک و با دستگاه دین استارک اندازه گیری شد. همچنین درصد اسانس نیز در هر نمونه با روش تقطیر با آب و با دستگاه کلونجر اندازه گیری و ثبت گردید. اسانس‌های به دست آمده پس از آب گیری با سولفات سدیم بدون آب درون شیشه‌های رنگی ریخته شد و تا قبل از تزریق به دستگاه در یخچال با دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری گردید. اسانس به‌وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی از نوع Hewlet Packard 6890N با ستونی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS مورد تجزیه قرار گرفت. برنامه دمایی عبارت بود از: دمای ابتدایی آون؛ ۵۰ درجه سانتی‌گراد، دمای انتهایی؛ ۱۵۰ درجه سلسیوس و گرادیان حرارتی آون؛ ۲/۵ درجه سلسیوس در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲٦۰ درجه سلسیوس با سرعت ۱۰ درجه سلسیوس در هر دقیقه و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، افزایش دما تا ۳۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه درجه سانتی‌گراد در دقیقه و سه دقیقه توقف در این دما. دمای اتاقک تزریق؛ ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل: هلیوم و سرعت جریان گاز: ۱/۲ میلی‌لیتر در دقیقه. طیف نگار جرمی مدل Hewlet Packard 5973N، ولتاژ یونیزاسیون: ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون: EI، دمای منبع یونیزاسیون: ۲۲۰ درجه سلسیوس. شناسایی ترکیبات متشکله اسانس با مقایسه شاخص‌های بازداری و طیف جرمی این ترکیبات با شاخص‌های بازداری و طیف جرمی ترکیبات استاندارد صورت گرفت.

قبل از انجام محاسبات آماری، ابتدا نرمال‌بودن داده‌ها مورد تست قرار گرفت. در صورت نیاز، داده‌ها که بر حسب درصد بودند با Arc Sin و داده‌هایی که از شمارش حاصل شده بودند با جذرگرفتن، نرمال شدند. تجزیه واریانس صفات، مقایسه میانگین صفات با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد و همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه، انجام گرفت. برای انجام این تجزیه‌ها، از نرم‌افزارهای $SAS_{9.1}$ و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار EXCEL استفاده گردید.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات باکتری و کود فسفات در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد بر صفات مورد ارزیابی معنی‌دار بوده است (جداول ۲ و ۳). همچنین مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که اثر این دو فاکتور اختلاف معنی‌داری را در صفات ایجاد کرده است (جداول ٤، ۵ و ٦).

جدول ۲: تجزیه واریانس اثر باکتری‌های حل‌کننده فسفر به همراه سطوح مختلف کود فسفات بر صفات اندازه‌گیری‌شده شوید

منابع تغییرات	ارتفاع بوته	عملکرد دانه	میزان اسانس	ترانس دی هیدروکاروون
تکرار	۱/۵۸^{ns}	۱۲۲/۸^{ns}	۲۵/۳٦^{ns}	۱/۳٦^{ns}
باکتری	۱۰۱۷/۱۳**	٦۱٦۰۲/۸**	۱۷۰۷۲/٦۲**	٦٤/۳۷**
کود	۵۸/۱۸**	۲۲۷۵۳/۲**	۷۱۲/٤٤*	۱۸۹/۵۲**
باکتری × کود	۱٦/٦۵**	۲۰۱۲/۷*	۵۷/۱٤^{ns}	٦۰/٤۵**
خطا	۲/۱۱	۳٤۳/۵	۲۸/۵۹	٦/۱۳
ضریب تغییرات	۳/۹٦	۲۲/۷٤	۲/٤۸	۲۳/۰۰

**، *: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ در صد و ۵ درصد و ns عدم وجود تفاوت معنی‌دار

جدول ۳: میانگین مربعات اثر باکتری‌های حل‌کننده فسفات به همراه سطوح مختلف کود فسفری بر صفات اندازه‌گیری‌شده شوید

منابع تغییرات	آلفا فلاندرن	لیمونن	کاروون	دیل اتر
تکرار	۵/۶۷۰*	۰/۵۲^{ns}	۱۶/۹۶^{ns}	۰/۰۱۶^{ns}
باکتری	۵۹/۳۶**	۸/۷۴**	۱۰۰/۸۰**	۰/۲۶۴**
کود	۱۱/۳۶**	۱۷/۶۹**	۱۲۶/۷۰**	۰/۰۴۷**
باکتری × کود	۲/۸۱^{ns}	۱/۳۲^{ns}	۳۳/۳۱*	۰/۰۰۸^{ns}
خطا	۱/۵	۱/۰۸	۱۱/۹۷	۰/۰۰۷
ضریب تغییرات	۸/۹۱	۷/۳۷	۱۳/۶۶	۵/۴۶

**، *: به‌ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ در صد و ۵ درصد و ns عدم وجود تفاوت معنی دار

جدول ٤: مقایسه میانگین اثرات ساده باکتری‌های حل‌کننده فسفر بر صفات اندازه‌گیری‌شده شوید

سویه‌های باکتری سودوموناس	آلفا فلاندرن	دیل اتر	لیمونن	میزان اسانس
	(درصد)			(میلی‌مول بر گرم ماده خشک)
R-168	۱۷/۲۴^{a}	۱/۷۷^{a}	۱۵/۱۱^{a}	۲۵۸/۷^{a}
R-113	۱۴/۱۰^{b}	۱/۶۰^{b}	۱۳/۷۷^{bc}	۲۱۸/۳^{c}
R-173	۱۲/۴۲^{c}	۱/۶۷^{b}	۱۴/۶۶^{ab}	۲۲۷/۷^{b}
شاهد	۱۱/۳۵^{c}	۱/۳۷^{c}	۱۲/۸۸^{c}	۱۵۵^{d}

در هر ستون حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۵: مقایسه میانگین اثرات ساده اثر سطوح مختلف کود فسفات بر صفات اندازه‌گیری‌شده شوید

کود فسفات (کیلوگرم در هکتار)	آلفا فلاندرن (درصد)	میزان اسانس (میلی مول بر گرم ماده خشک)	دیل اتر (درصد)	لیمونن (درصد)
۱۵۰	۱۴/۴۹^{a}	۲۱۹/۷۵^{a}	۱/۶۱^{ab}	۱۴/۲۵^{b}
۷۵	۱۴/۱۷^{a}	۲۱۹/۰۸^{a}	۱/۶۶^{a}	۱۵/۲۵^{a}
۰	۱۲/۶۷^{b}	۲۰۶/۰۸^{b}	۱/۵۴^{b}	۱۲/۸۳^{c}

در هر ستون حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

جدول ٦:مقایسه میانگین اثرات متقابل باکتری‌های حل‌کننده فسفر و سطوح مختلف کود فسفات بر صفات اندازه‌گیری‌شده شوید

سویه‌های باکتری سودوموناس	کود فسفات (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	ترانس دی هیدروکاروون (درصد)
R-168	۰	۷۲/۹^{ef}	۲۳/۳۳^{f}	۹/۰۱^{cd}
R-113	۰	۷۵/۴^{e}	۳۴^{e}	۷^{cd}
R-173	۰	۷۴/۱^{e}	۴۶/۶۶^{bc}	۵^{de}
شاهد	۰	۳۶/۱^{h}	۳۳^{e}	۴^{def}
R-168	۷۵	۸۸/۱^{d}	۲۴^{f}	۱۰^{c}
R-113	۷۵	۱۳۰/۵^{a}	۴۴^{d}	۲۱/۳۳^{a}
R-173	۷۵	۱۰۳/۴^{c}	۵۰/۶۶^{a}	۱۹/۳۳^{a}
شاهد	۷۵	۴۹/۰^{g}	۳۵/۳۳^{e}	۷^{cde}
R-168	۱۵۰	۷۸/۰^{e}	۲۳^{f}	۱۵^{b}
R-113	۱۵۰	۱۱۱/۱^{b}	۴۳^{d}	۱۱^{c}
R-173	۱۵۰	۱۰۱/۱^{c}	۴۸/۸۳^{ab}	۱۰/۶۶^{c}
شاهد	۱۵۰	۵۸/۰^{f}	۳۴/۶۶^{e}	۱۰^{c}

در هر ستون حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

ارتفاع گیاه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر سویه‌های باکتری سودوموناس و سطوح کود فسفر بر ارتفاع بوته نشان داد که اثر متقابل سویه‌های باکتری سودوموناس و سطوح کود فسفر بر ارتفاع بوته در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل کود و باکتری بر ارتفاع بوته نشان داد که بالاترین ارتفاع بوته مربوط به سطح کود فسفر ۷۵ کیلوگرم در هکتار و سویه باکتری R-173 (با میانگین ۵۰/٦٦ سانتی متر) و پایین‌ترین آن مربوط به سطح کود فسفر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار و سویه باکتری R-168 (با میانگین ۲۳/۰۱ سانتی متر) بود (جدول ٦). ضمن این که در هر چهار سویه باکتری سودوموناس، بالاترین ارتفاع بوته درسطح کودی ۷۵ کیلوگرم در هکتار به دست آمد (جدول ٦).

عملکرد دانه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر سویه‌های باکتری سودوموناس و سطوح کود فسفر بر عملکرد دانه نشان داد که اثر متقابل سویه‌های باکتری سودوموناس و سطوح کود فسفر بر عملکرد دانه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و باکتری بر عملکرد دانه نشان داد که بیشترین عملکرد دانه در سویه R-168 و R-113 از سطح فسفر ۷۵ کیلوگرم در هکتار (به ترتیب با میانگین ۸۸/۱ و ۱۳۰/۵ کیلوگرم در هکتار)، و در تیمار بدون تلقیح (شاهد) از سطح فسفر ۱۵۰ کیلوگرم (با میانگین ۵۸/۰ کیلوگرم در هکتار) به دست آمد، اما در سویه R-173 بین سطوح ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ولی نسبت به سطح صفر کود فسفر برتر بودند (جدول ٦).

میزان اسانس: نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر سویه‌های باکتری سودوموناس و سطوح کود فسفر بر میزان اسانس نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین سویه‌های باکتری سودوموناس و سطوح کود فسفر از نظر میزان اسانس به‌ترتیب در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد وجود دارد، ولی اثر متقابل بین سویه‌های باکتری سودوموناس و سطوح کود فسفر معنی‌دار نبود (جدول ۲). مقایسه میانگین سطوح مختلف کود فسفر نشان داد که بین سطوح ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار به لحاظ آماری وجود ندارد ولی نسبت به سطح صفر کود فسفر برتر می‌باشند (جدول ٤). همچنین مقایسه میانگین سویه‌های باکتری سودوموناس حل‌کننده فسفر نشان داد که هر سه سویه نسبت به شاهد اسانس بیشتری تولید کرده‌اند و بیشترین اسانس تولید شده مربوط به سویه R-168 با میانگین ۲۵۸/۷ میلی مول بر گرم ماده خشک است (جدول ۵).

میزان ترانس دی هیدروکاروون: مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و باکتری بر میزان ترانس دی هیدروکاروون نشان داد که بیشترین میزان این ماده در سویه R-113 از سطح فسفر ۷۵ کیلوگرم در هکتار (با میانگین ۲۱/۳۳)، در سویه R-168 و شاهد از سطح فسفر ۱۵۰ کیلوگرم (به‌ترتیب با میانگین ۱۵/۵ و ۱۰/۰) و در سویه R-173 از سطح ۷۵ کیلوگرم در هکتار (با میانگین ۱۹/۳۳) به دست آمد (جدول ٦). در سویه R-168 و R-173 با افزایش مصرف کود فسفر از صفر به ۷۵ کیلوگرم در هکتار میزان ترانس دی هیدروکاروون افزایش یافت، ولی از سطح ۷۵ به ۱۵۰ کیلوگرم از این میزان کاسته شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر تیمارهای سویه‌های باکتری سودوموناس و سطوح کود فسفر بر میزان ترانس دی هیدروکاروون نشان داد که اثر متقابل سویه‌های باکتری سودوموناس و سطوح کود فسفر بر میزان ترانس دی هیدروکاروون در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۳).

میزان آلفا فلاندرن، لیمونن و دیل‌اتر: نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری به لحاظ آماری بین سویه‌های مختلف باکتری حل‌کننده فسفر (سویه‌های

سودوموناس) از نظر میزان آلفافلاندرن، لیمونن و دیل‌اتر وجود دارد (جدول ۳). مقایسه میانگین میزان آلفافلاندرن، لیمونن و دیل‌اتر نشان داد که هر سه سویه نسبت به شاهد برتر بودند و سویه R-168 نسبت به سایر سویه‌ها برترین بود (جدول ۵). نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری به لحاظ آماری بین سطوح مختلف کود فسفات از نظر میزان آلفافلاندرن، کاروون، لیمونن و دیل‌اتر وجود دارد (جدول ۳). مقایسه میانگین میزان آلفافلاندرن، کاروون، لیمونن و دیل‌اتر نشان داد که هر چهار ترکیب با افزایش مصرف کود فسفر از صفر به ۷۵ افزایش پیدا کردند، اما با افزایش مصرف کود از ۷۵ به ۱۵۰ تغییر معنی‌داری در میزان آلفافلاندرن، کاروون مشاهده نشد و حتی از میزان لیمونن و دیل‌اتر کاسته شد (جدول ٦).

بحث

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که علت بالا بودن ارتفاع بوته در سطح ۷۵ نسبت به سطح ۱۵۰ کیلوگرم فسفری می‌تواند به‌دلیل تولید شاخه فرعی بیشتر باشد که گیاه در سطح ۱۵۰ کیلوگرم کود فسفری به جای اینکه ارتفاع بوته را افزایش دهد شاخه فرعی را افزایش داده است. نتایج تعداد شاخه فرعی بیشتر در سطح ۱۵۰ نسبت به سطح ۷۵ موید این مطلب می‌باشد. این نتیجه با نتایج Shirmardi و همکاران (۲۰۰۹) هماهنگ می‌باشد. آن‌ها در آزمایشی جداگانه، افزایش ارتفاع بوته توسط باکتری‌های حل‌کننده فسفات را گزارش کردند. Burd و همکاران (2000) گزارش کردند که باکتری‌های حل‌کننده فسفر، ارتفاع بوته و بیوماس را از طریق افزایش تولید هورمون‌های گیاهی و تسهیل جذب مواد غذایی افزایش داد. Asadi Rahmani و Fallah (۲۰۰۰) نیز در مرور پژوهش‌های انجام‌شده بر باکتری‌های محرک رشد گیاه اثرات مثبت تلقیح سودوموناس‌های فلورسنت را بر ارتفاع بوته و وزن خشک بخش هوایی گندم نشان دادند.

نتایج نشان داد که در هر سه سطح کود فسفات، سویه‌های باکتری عملکرد دانه بیشتری نسبت به عدم تلقیح با باکتری (شاهد) تولید کردند. اثر مثبت تلقیح گیاهان دارویی با باکتری‌های حل‌کننده‌ی فسفات بر افزایش بیوماس و عملکرد دانه به وسیله بسیاری از محققین گزارش شده است (Shahraroona et al., 2006; Pandey et al., 2000). این افزایش رشد می‌تواند ناشی از قابلیت این میکروارگانیسم‌ها برای تولید ترکیبات تحریک‌کننده رشد (Egamberdiyeva and Hoflich, 2004)، حل‌کردن عناصر غذایی به‌ویژه فسفر (Arshad and Wagas, 2011) و افزایش توسعه ریشه (Kloepper and Beauchamp, 1992) باشد.

Glick (۲۰۰۵) ضمن ارایه مدل کاهش غلظت اتیلن در گیاه تحت تنش اعلام نمودند که یکی از دلایل تفاوت تاثیر باکتری‌ها در کاهش سطح اتیلن و در نتیجه عملکرد گیاه به رقابت بین آنزیم‌های ACC-deaminase و ACC-oxidase برای جذب ACC بستگی دارد. مکانیزم‌های دیگری به جز تولید آنزیم ACC-deaminase در افزایش رشد گیاه موثر می‌باشد که از جمله توانایی سویه‌های سودوموناس در تولید سیدروفور و تامین آهن مورد نیاز گیاه و حلال‌سازی منابع نامحلول فسفر و قابل استفاده شدن فسفر برای جذب گیاه را می‌توان نام برد. Mayak و همکاران (2004a) دریافتند که گیاهان تلقیح‌شده با باکتری‌های محرک رشد، تحت تنش خشکی فسفر بیشتری نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده جذب می‌نمایند. همچنین بسیاری از سویه‌های باکتری سودوموناس با تولید آنزیم‌های فسفاتاز، آزادشدن فسفر از ترکیبات آلی فسفردار را موجب می‌شوند (Entz et al., 2001). طبیعی است که این میکروارگانیسم‌ها بر حسب نوع و

مقدار حل‌کننده‌ای که تولید می‌کنند، شدت اثر کاملا متفاوتی داشته باشند (Hoberg et al., 2005).

تمامی پیکر رویشی گیاه شوید محتوی اسانس است. مهم‌ترین ترکیبات اسانس در پیکر رویشی گیاه د-کاروون و د-فلاندرن می‌باشند و مهم‌ترین ترکیبات اسانس حاصل از بذرهای کاملاً رسیده د-کاروون و لیمونن هستند (Duke, 2001). میزان این ترکیبات به شرایط رشدی و تغذیه‌ای گیاه بستگی دارد، بنابراین تغییر در شرایط محیطی یا تغذیه‌ای، میزان اسانس گیاه را تغییر می‌دهد. کود فسفر از جمله عناصر غذایی است که میزان اسانس گیاه را دچار نوسان می‌کند (Hyopalahti et al., 2003). همچنین مقایسه میانگین سویه‌های باکتری سودوموناس حل‌کننده فسفر نشان داد که هر سه سویه نسبت به شاهد اسانس بیشتری تولید کردند. عباس‌زاده و همکاران (۱۳۸٦) ضمن به دست آوردن نتایج مشابه، گزارش کردند که باکتری‌های حل‌کننده فسفات سودوموناس میزان اسانس گیاه همیشه بهار را نسبت به تیمار مصرف کود شیمیایی سوپر فسفات تریپل، ۵۰ درصد افزایش داده ولی از نظر تولید ماده خشک تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. نتایج یادگاری و همکاران (۱۳۸۷) ضمن تایید این نتایج، نشان داد که بین تولید ماده خشک گیاهی، میزان اسانس گیاهی، مقدار مس و روی قابل استخراج موجود در خاک پس از برداشت رابطه مستقیم مثبت وجود داشت، چنان که با افزایش قابلیت جذب عناصر ریزمغذی، میزان اسانس و تولید ماده خشک افزایش یافت. به عقیده Vassilev و همکاران (۲۰۰٦) در شرایط مصرف زیاده از حد کودهای شیمیایی، فعالیت باکتری‌های حل‌کننده فسفر کاهش می‌یابد که نه تنها از جمعیت میکروبی خاک می‌کاهد بلکه در فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاه اثر می‌گذارد. Domash و همکاران (۲۰۰٦) ضمن به‌دست آوردن نتایج مشابه گزارش کردند که باکتری‌هایی که بتوانند میزان کلروفیل، فسفر و پروتیین را افزایش دهند، میزان ترانس دی هیدروکاروون در سلول را افزایش می‌دهند. اما در سویه R-113 و شاهد مشاهده می‌شود که با افزایش سطح کود فسفر بر میزان ترانس دی هیدروکاروون افزوده می‌شود. نکته شایان ذکر این است که میزان ترانس دی هیدروکاروون در مقایسه با دو سویه R-168 و R-173 بسیار پایین است.

مهم‌ترین ترکیبات اسانس حاصل از اندام‌های هوایی شوید عبارت‌اند از کاروون (۳۵-۲۰)، آلفافلاندرن (۲۰-۱۰)، لیمونن (۵۲-۱۰) و دیل‌اتر (تا ۲)، که وضعیت محیطی در میزان آن‌ها اثر بسزایی دارد (Kapoor et al., 2002). سویه‌های باکتری نیز با تغییر شرایط خاکی و بهبود شرایط تغذیه‌ای منجر به افزایش میزان این ترکیبات نسبت به تیمار غیر تلقیحی (شاهد) شده‌اند. یزدانی بیوکی و همکارن (۱۳۸۷) گزارش کردند که مصرف انواع مختلف کودهای آلی و شیمیایی در خاک بر روی درصد روغن، سیلیمارین و سیلیبین بذر ماریتیغال تأثیر معنی‌داری داشت، به طوری که تیمار کود کمپوست بالاترین درصد روغن را نسبت به سایر تیمارها داشت و بعد از آن تیمارهای کودی نیتروژنوباکتر و مخلوط نیتروژنوباکتر و کمپوست، بیشترین درصد روغن را داشتند. همچنین تیمار کود شیمیایی کمترین درصد سیلیبین را القا کرد. نتایج مشابهی توسط فلاحی و همکاران (۱۳۸۷) در مورد اسانس بابونه و تبریزی (۱۳۸۳) در مورد موسیلاژ اسفرزه گزارش شده است. آرویی و همکاران (۱۳۷۹) گزارش کردند که با افزایش سطح کود شیمیایی فسفاته، درصد روغن دانه کدو پوست کاغذی کاهش یافت. آن‌ها بیان کردند که مواد غذایی جذب شده توسط گیاه به جای این که به مصرف ذخیره سازی و تقویت دانه‌ها برسد، به مصرف نقاط رویشی دارای قدرت جذب بالای مواد غذایی رسید. همچنین نتایج Helal و همکاران (۲۰۱۱) که کودهای بیولوژیک را

به همراه کود نیتروژن به‌کار برده بودند گزارش کردند که افزایش مصرف کود نیتروژن از میزان کارروون و لیمونن می‌کاهد، آن‌ها بیشترین میزان آپیول، کارروون و لیمونن را از سطح ۱/۳ مصرف کود نیتروژن توصیه شده، گزارش کردند.

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق مشخص گردید تاثیر سویه‌های باکتری به کار گرفته شده در این آزمایش بر شوید قابل ملاحظه می‌باشد. در حالت کلی با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان اعلام کرد که سویه R-113 نسبت به سایر سویه‌ها به لحاظ تولید عملکرد دانه و میزان کارروون بیشتر از برتری برخوردار بود. همچنین همه باکتری‌ها نسبت به تیمار شاهد از برتری برخوردار بودند. تحت این شرایط سویه R-113 با تلقیح با گیاه شوید برای تولید عملکرد بالا و کاهش مصرف کود فسفر مناسب می باشد، که میزان مصرف کود را ۵۰ درصد کاهش می دهد. لذا با توجه شرایط منطقه و در نظرگیری مسایل اقتصادی، مناسب‌ترین ترکیب باکتری و کود فسفات، سطح ۷۵ کیلوگرم در هکتار با تلقیح با باکتری سودوموناس سویه R-113 است.

منابع

آرویی، ح.، کاشی، ع. و امیدبیگی، ر. (۱۳۷۹). بررسی سطوح مختلف نیتروژن بر روی برخی صفات گیاه دارویی کدوی تخم کاغذی. مجلهٔ پژوهش و سازندگی. شماره ٤٨. صفحه ۹-٤.

تبریزی، ل. (۱۳۸۳). اثر تنش رطوبتی و کود دامی بر خصوصیات کمی و کیفی اسفرزه. پایان نامهٔ کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

فلاحی، ج.، کوچکی، ع. و رضوانی مقدم، پ. (۱۳۸۷). بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر شاخص‌های کمی و کیفی گیاه دارویی بابونه. مجله پژوهش‌های زراعی ایران. شماره ۷. جلد۱. صفحات ۱۲۸-۱۲۲.

یزدانی بیوکی، م.، کوچکی، ع. و نصیری محلاتی، م. (۱۳۸۷). تاثیر باکتری نیتروژنوباکتر، کمپوست و ورمی کمپوست در مقایسه با کودهای شیمیایی بر عملکرد، اجزای عملکرد و خصوصیات کیفی گیاه ماریتیغال. پژوهش های زراعی ایران. شماره ۸. جلد٤. صفحات ۲۳-۱۸.

Arshad, M. and Waqas, R. (2011). Novel bacteria possessing ACC-deaminase enzyme enhances the water use efficiency in field crops. 4th International Environmentally Sustainable Development Conference.

Asadi Rahmani, H. and Fallah, A.R. (2000). The importance of the production and extension of plant growth promoting biological fertilizers. Iranian Journal of Soil and Water Sciences. 12 (7): 97-105.

Burd, G.I., Dixon, D.G. and Glick, B.R. (2000). Plant growth promoting rhizobacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. Canadian Journal of Microbiology. 46(33): 45–55.

Domash, V.I., Protsko, R.F., Vasyuk, V.A., Shumikhin, S.V., Ermolitskaya, L.V. and Sharpio, T.P. (2006). The content of abscisic acid and the activities of biochemical compounds in the germinating seed of dill under plant growth promoting rhizobacteria inoculation and inorganic rock phosphates conditions. Applied Biochemistry and Microbiology. 42: 97–100.

Duke, J.A. (2001). Handbook of Medicinal herbs. CRC press LLC. USA. 2001, p. 42.

Egamberdiyeva, D. and Hoflich, G. (2004). Effect of plant growth-promoting bacteria on growth and nutrient uptake of cotton and pea on a semi-arid region of Uzbekistan. Journal of Arid Environments. 56: 293-301.

Entz, M.H, Guilford, R. and Gulden, R. (2001). Crop yield and soil nutrient status on 14 organic farms in the eastern portion of the northern Great Plains. Canadian Journal of Plant Science. 81: 351–354.

colonization of plant roots by bacteria. Canadian Journal of Microbiology. 38:1219–1232.

Mayak, S., Tirosh, T. and Glick, B.R. (2004a). Plant growth promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomato and pepper. Plant Science. 166: 525–530.

Pandey, R.K., Marienville, J.W. and Adum, A. (2000). Deficit irrigation and nitrogen effect on maize in a sahelian environment. I. Grain yield components. Agricultural Water Management. 46: 1-13.

Shaharoona, B., Arshad, M., Zahir, Z.A. and Khalid, A. (2006). Performance of *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. Soil Biology and Biochemistry. 38: 2971–2975.

Shirmardi, M., Savaghebi, G.R., Khavazi, K., Akbarzadeh, A., Farahbakhsh, M., Rejali, F. and Sadat, A. (2009). Water relationships and agronomic indices of sunflower infection by microbial inoculants under saline condition. Advances in Agriculture and Botanic. 12 (1): 37-50.

Vassillev, N., Vassilev, A.M., Fenice, M. and Fedrrice, F. (2006). Immobilized cell technology applied in solubilization of insoluble inorganic rock phosphates and P plant acquisition. Bioresource Technology. l79: 263–267.

Yili, A., Yimamu, H., Maksimov, V.V.V, Aisa, H.A., Veshkurova, O.N. and Salikhov, Sh.I. (2006). Chemical composition of essential oil from seeds of *Anethum graveolens* cultivated in China. Chemistry of Natural Compounds. 42: 491-492.

Glick, B.R. (2005). Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. FEMS Microbiology Letters. 251: 1-7.

Hellal, F.A., Mahfouz, S.A. and Hassan, F.A.S. (2011). Partial substitution of mineral nitrogen fertilizer by bio-fertilizer on (*Anethum graveolens* L.) plant. Agriculture and Biology Journal of North America. 2 (4): 652-660.

Hoberg, E., Marschener, P. and Lieberei, R. (2005). Organic acid exudation and pH changes by *Gordonia sp* and *Pseudomonas fluorescens* grown with P adsorbed to goethite. Microbiology Research. 160: 177–187.

Hyopalahti, R., Kesalahti, E. and Linko, R. (2003). Effect of hot air and freeze drying on the volatile compounds of dill (*Anethum graveolens*) herb. Journal of Agricultural Science in Finland. 57: 133-138.

Jana, S. and Shekhawat, G.S. (2010). *Anethum graveolens*: An Indian traditional medicinal herb and spice. Pharmacognosy Reviews. 4 (8): 179–184.

Jones, D.L. and Oburger, E. (2011). Solubilization of phosphorus by soil microorganisms. In: Soil Biology, Phosphorus in Action (Bünemann, E., Oberson, A. and Frossard, E., Eds.). Springer Berlin Heidelberg. pp. 169-198.

Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K.G. (2002). *Glomus macrocarpum*: a potential bioinoculant to improve essential oil quality and concentration in dill (*Anethum graveolens* L.) and carum (*Trachyspermum ammi* (Linn.) Sprague). World Journal of Microbiology and Biotechnology. 18: 459–463.

Kloepper, J.W. and Beauchamp, C.J. (1992). A review of issues related to measuring