بررسی پاسخ‌های رشدی، عملکردی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی *Valeriana officinalis* L. به کاربرد کودهای اوره، نیتروکسین و فسفات بارور-۲

مهدی حیدری رهنی[۱]، محمد نصری[۲*]، یوسف فیلی‌زاده[۳]، پورنگ کسرایی[۲]، پژمان آزادی[۴]

[۱]دانشجوی دکتری، گروه زراعت، ، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

[۲]استادیار، گروه زراعت و آگرواکولوژی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

[۳]استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

[۴]استادیار، گروه بیوتکنولوژی گیاهی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۰۰/۷/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۰۰/۹/۲۳

چکیده

در این تحقیق به‌منظور مطالعه پاسخ‌های رشدی، عملکردی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis* L.) به کاربرد غلظت‌های مختلف کود اوره (صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) و کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲، آزمایشی در مزرعه گیاهان دارویی، تهران به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۹۹-۱۳۹۸ اجرا شد. کشت نشاء در اواسط اردیبهشت و اعمال تیمار کود اوره در دو مرحله انجام شد. برای اندازه‌گیری عملکرد ریشه و بیولوژیک، یک مترمربع از هر کرت برداشت و وزن اندام هوایی و ریشه خشک اندازه‌گیری و مجموع این دو به‌عنوان عملکرد بیولوژیک محاسبه شد. استخراج اسانس ریشه و ریزوم از روش تقطیر با آب (کلونجر) و میزان والرنیک اسید با کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) صورت گرفت. همچنین عملکرد اسانس براساس درصد اسانس و عملکرد خشک ریشه محاسبه شد. میانگین قطر ریشه از ۷/۹۷ (۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار) تا ۵/۱۴ میلی‌متر (شاهد) متغیر بود. بیشترین عملکرد ریشه در ۱۵۰ و ۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار به‌همراه تلقیح با نیتروکسین و فسفات بارور-۲ (به‌ترتیب ۴/۸۸ و ۵/۱ تن در هکتار) به‌دست آمد. کاربرد ۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار همراه با نیتروکسین، افزایش محتوای کلروفیل b و کل را در پی داشت. افزایش غلظت اوره منجر به کاهش محتوای اسانس و افزایش عملکرد اسانس شد. محتوای اسانس از ۰/۹۳ (۹۰ کیلوگرم اوره به همراه نیتروکسین و فسفات بارور-۲) تا ۱/۹۴ درصد (عدم کاربرد کود) متغیر بود. بیشترین محتوای والرنیک اسید (۰/۴۶ درصد عصاره) و عملکرد والرنیک اسید (۲۲۰/۲۷ میلی‌گرم بر هکتار) در استفاده از ۳۰ کیلوگرم اوره به همراه فسفات بارور-۲ و عدم کاربرد نیتروکسین مشاهده شد. به‌طور کلی، کاربرد کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲ به‌همراه ۹۰ کیلوگرم اوره با بهبود صفات رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی منجر به تولید عملکرد اسانس و والرنیک اسید قابل قبولی شدند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، اوره، سنبل‌الطیب، عملکرد ریشه، کود، نیتروکسین، والرنیک اسید

*نویسنده مسئول: dr.nasri@yahoo.com

مقدمه

گیاه دارویی سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis* L.) بومی اروپا و آسیا، گیاهی علفی و چندساله بوده که متعلق به خانواده Valerianceae است و از قدیم به‌دلیل دارا بودن آرام‌بخشی ملایم در طب سنتی به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است (Amanifar and Toghranegar, 2020). براساس اطلاعات تمام فارماکوپه‌های معتبر جهان، ریشه و ریزوم این گیاه که دارای ترکیب والرنیک اسید می‌باشد، به‌عنوان منبع مهم‌ترین ترکیب دارویی در درمان بی‌خوابی، میگرن، صرع و اختلالات عصبی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Azizi et al., 2015). علاوه بر آن، عصاره این گیاه حاوی ترکیبات دارویی مختلفی از جمله آلکالوئیدها و اسیدهای آمینه آزاد است (Pashmforoosh and Ahmadabadi, 2020). والرنیک اسید به‌عنوان بخش اصلی که دارای خاصیت آرام‌بخشی است، شناخته می‌شود و معمولاً کیفیت دارویی سنبل‌الطیب با محتوای والرنیک اسید سنجیده می‌شود (Ricigliano et al., 2016). با وجود اهمیت این گیاه دارویی، مطالعات اندکی در مورد به‌زراعی و تعیین پاسخ‌های رشدی، عملکردی و کیفی این گیاه به منابع مختلف کودی انجام شده است.

مدیریت حاصلخیزی خاک در یک سیستم کشاورزی، به‌منظور تأمین عناصر مورد نیاز گیاه، امری لازم و ضروری است (Azizi et al., 2015). نیتروژن، از نظر نیاز و مدیریت در مزرعه، مهم‌ترین ماده مغذی برای همه گیاهان زراعی است (Mahdavi Khorami et al., 2020). به‌عنوان مثال، Lykhovyd و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که کاربرد کودهای نیتروژن، فسفر و پتاسیم برای افزایش پارامترهای رشدی و عملکردی در گیاه سنبل‌الطیب لازم و ضروری است. در این راستا، نتایج مشابهی مبنی بر اثر معنی‌دار کود نیتروژنه بر عملکرد و اجزای عملکرد در گیاهان سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis* L.)، کنجد (*Sesamum indicum* L.) و کلزا (*Brassica napus* L.) گزارش شده است (Filipović and Ugrenović 2020; Mahdavi Khorami et al., 2020; Oladaskari et al., 2020). نیتروژن برای سنتز کلروفیل ضروری بوده و کمبود آن باعث محدود شدن رشد و کاهش عملکرد در گیاهان می‌شود. استفاده بیش از حد از کودهای شیمیایی از جمله نیتروژن، یکی از مشکلات مهم در زمین‌های کشاورزی است. زیرا این امر منجر به غنی‌سازی اجزای فعال نیتروژن در اتمسفر، خاک و آب می‌شود که منجر به اختلال در فعالیت‌های اکوسیستم همانند اسیدی شدن خاک، آلودگی محیط‌زیست و کاهش فعالیت میکروبی خاک می‌شود (Mahdavi Khorami et al., 2020).

امروزه کودهای زیستی به‌عنوان مکملی برای افزایش حاصلخیزی خاک و تولید محصول در کشاورزی پایدار شناخته شده است (Javan Gholiloo et al., 2019). میکروارگانیسم‌هایی که معمولاً به‌عنوان اجزای کود زیستی استفاده می‌شوند عبارتند از: حلال کننده‌های پتاسیم و فسفر، تثبیت‌کننده‌های نیتروژن، ریزوباکتری‌های محرک بر رشد و سایر ارگانیسم‌های مفید میکروسکوپی (Itelima et al., 2018). استفاده از کودهای زیستی منجر به بهبود مواد مغذی و جذب آب، رشد گیاه و تحمل گیاه نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شود (Javan Gholiloo et al., 2019). کود زیستی نیتروکسین حاوی باکتری‌های آزوسپیریلیوم و ازتوباکتر است که این باکتری‌ها می‌توانند تثبیت نیتروژن، حلالیت فسفات و آزادسازی آهن را از خاک و تولید سیدروفور و همچنین وجود هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، سیتوکینین، جیبرلین و ACC-deaminase را افزایش دهند (Kamali and Mehraban, 2020a). اثر افزایش‌دهندگی نیتروکسین بر صفات رشدی، عملکردی، اجزای عملکردی و

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل در گیاهان مختلف گزارش شده است (Lamochi and Sakinejad, 2018; Kamali and Mehraban, 2020a; Mahdavi Khorami et al., 2020).

کود زیستی فسفات بارور-۲ حاوی باکتری‌های مفید حل‌کننده فسفاتاز گونه‌های *Pseudomonas putida* و *Pantoea Agglomerans* است که با اسیدی کردن خاک و ترشح آنزیم‌های فسفاتاز، منجر به رهاسازی و قابل جذب شدن یون فسفات توسط گیاهان می‌شود (Hasanour et al., 2020). افزایش رشد، عملکرد و اجزای عملکرد در گیاهان تحت تیمار با فسفات بارور-۲ گزارش شده است (Hasanour et al., 2020; Nasiri et al., 2020).

Filizadeh and Goodarzi (۲۰۱۰) گزارش کردند که استفاده از کود زیستی ازتوباکتر، راهکاری مناسب برای افزایش تولید ریشه در سنبل‌الطیب می‌باشد. نتایج پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهد که کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲ با افزایش تثبیت نیتروژن و جذب فسفر نقش مهمی در رشد گیاهان مختلف دارد. Rezaei Chiyaneh و همکاران (۲۰۱۵) بیان داشتند که بیشترین عملکرد و محتوای اسانس زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) در کاربرد تلفیقی فسفات بارور-۲ + ازتوباکتر + بیوسولفور به‌دست آمد. این پژوهشگران نتیجه‌گیری کردند که استفاده از کودهای زیستی اثر معنی‌دار در بهبود عملکرد کمی و کیفی زیره سبز داشت. از طرف دیگر، بیان شد که بین کاربرد کود شیمیایی و تلفیقی از کودهای آلی و زیستی، از نظر صفاتی چون عملکرد دانه، اجزای عملکرد، درصد پروتئین دانه گندم (*Triticum aestivum* L.) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (Nasiri et al., 2020). از این‌رو، کارایی کودهای زیستی وابستگی شدیدی به شرایط محیطی، نوع گیاه، و سایر موارد دارد، که نیاز به بررسی خواهد داشت. کودهای زیستی در مقایسه با کودهای شیمیایی دارای مواد غذایی و سرعت آزادسازی کمتر، اما استفاده در طول زمان طولانی‌تر می‌باشند. همچنین کودهای زیستی با کاهش فشردگی و نابودی ساختمان خاک، باعث افزایش تنوع زیستی خاک می‌گردد (Wezel et al., 2014). بنابراین با توجه به لزوم مدیریت تغذیه گیاهی در راستای افزایش و پایداری تولید و حفظ محیط‌زیست، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲ بر ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه دارویی سنبل‌الطیب و مقایسه آن با کود شیمیایی اوره، به‌منظور یافتن تلفیقی مناسب از کودها و کاهش مصرف و افزایش کارایی آن‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر کاربرد کودهای شیمیایی اوره و کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲ بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی سنبل‌الطیب به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار و در مزرعه تحقیقات گیاهان دارویی مجتمع کشاورزی هومند آبسرد دماوند، تهران (مزارع نوین ایرانیان) در سال زراعی ۹۹-۱۳۹۸ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل کود شیمیایی اوره در پنج سطح (صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار)، کود زیستی نیتروکسین در دو سطح (کاربرد و عدم کاربرد) و کود زیستی فسفات بارور-۲ در دو سطح (کاربرد و عدم کاربرد) بودند. قبل از کشت، نمونه‌گیری از خاک مزرعه به‌منظور تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی، نمونه‌گیری از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری انجام شد. نتایج آنالیز فیزیکو-شیمیایی خاک و همچنین مشخصات اقلیمی محل اجرای آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.

بذر گیاه سنبل‌الطیب در زمین خزانه به‌صورت ردیفی با فواصل ۲۰ سانتی‌متر در شیارهایی به‌عمق ۵-۴ میلی‌متر کاشته شدند (Filizadeh and Goodarzi, 2010). بعد از کاشت غلطک سبکی روی ردیف‌ها برای اتصال بهتر بذور با ذرات خاک انجام گرفت. نشاءهای سالم و یکنواخت گیاه سنبل‌الطیب انتخاب و تلقیح نشاءها با کودهای زیستی نیتروکسین (حاوی 10^{7} تا 10^{8} باکتری‌های *Azotobacter chroecoccum*، *Azotobacter agillis*، *Azospirilium brazilens* و *Azospirilium lipophorum*: ساخت شرکت بیوتکنولوژی مهرآسیا، ایران) و کود زیستی فسفره (برند بارور-۲ حاوی 10^{7} تا 10^{8} باکتری حل‌کننده فسفات *Bacillus* سویه P5 و *Pseudomonas* سویه P13 در هر گرم محصول) با حل کردن آن‌ها در آب و آغشته کردن ریشه در سایه (به‌علت حساس بودن باکتری‌ها به نور و گرما) انجام گرفت. نشاءها بلافاصله بعد از تلقیح در کرت‌هایی آزمایشی به مساحت ۳۰ مترمربع با فواصل ۵۰×۳۰ سانتی‌متر در تاریخ ۱۵ اردیبهشت، به زمین اصلی منتقل گردیدند. عملیات زراعی شامل وجین، آبیاری، مبارزه با آفات و بیماری‌ها به‌صورت دوره‌ای انجام گرفت. تیمار کود شیمیایی اوره شامل صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هر هکتار در دو مرحله ۱۰-۸ سانتی‌متری گیاه (به‌میزان ۲/۳ مقدار کل کود نیتروژن) و سپس ۲۰ روز پس از این مرحله (به‌میزان ۱/۳ مقدار کود نیتروژن به‌صورت سرک) استعمال گردید.

نمونه‌گیری برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و رشدی همچون محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، شاخص سطح برگ و طول و عرض برگ در اواسط شهریور (قبل از زرد شدن اندام هوایی) به‌صورت تصادفی و رعایت اثر حاشیه‌ای صورت گرفت. به‌منظور اندازه‌گیری میزان کلروفیل، مقدار ۰/۲ گرم از ماده تر گیاهی را به‌همراه پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی مخلوط گردید. بعد از سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر اندازه‌گیری و در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر مقدار کلروفیل a، b و کل محاسبه شد (Lichtenthaler and Buschmann, 2001).

معادله ۱

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3\times A663 - 0.86\times A645)\ V/100W$$

معادله ۲

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3\times A\ 645 - 3.6\times A\ 663)\ V/100\ W$$

معادله ۳

$$\text{Chlorophyll T} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

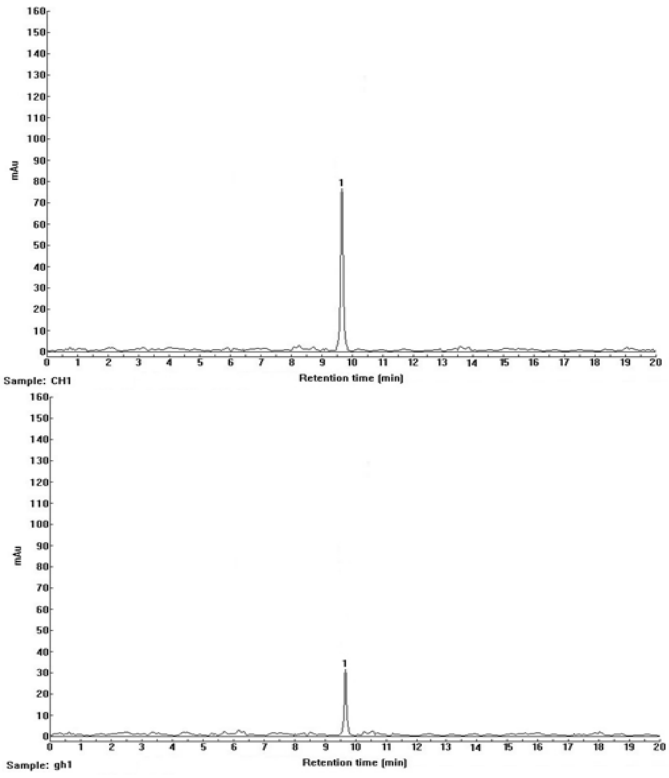
که در آن V= حجم محلول صاف شده، A= جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵، W= وزن تر نمونه برحسب گرم.

عملیات برداشت اندام هوایی، ریشه و ریزوم‌های گیاهان کاشته شده، در نیمه دوم مهرماه صورت گرفت. ارتفاع بوته، قطر و طول ریشه بلافاصله بعد از برداشت اندازه‌گیری شد. برای تعیین ویژگی‌های کمی و کیفی، نمونه‌های گیاهی، بعد از جمع‌آوری در سایه و درجه حرارت اتاق خشک شدند. برای اندازه‌گیری عملکرد ریشه و بیولوژیک، یک مترمربع از هر کرت برداشت و وزن اندام هوایی و ریشه خشک اندازه‌گیری و مجموع این دو به‌عنوان عملکرد بیولوژیک محاسبه شد. در نهایت، شاخص برداشت از تقسیم عملکرد ریشه به عملکرد بیولوژیک و ضرب آن به ۱۰۰ بدست آمد (Aghighi Shahverdi et al., 2019).

به‌منظور استخراج و اندازه‌گیری اسانس ریشه و ریزوم از روش تقطیر با آب با استفاده از کلونجر استفاده شد. همچنین عملکرد اسانس براساس درصد اسانس و عملکرد خشک ریشه محاسبه شد (Azizi et al., 2015). تعیین میزان ماده مؤثره اندام‌های دارویی گیاه سنبل‌الطیب (والرنیک اسید) با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC)

مدل KNUER-YL-9100 انجام گرفت. مقدار ۵ گرم پودر ریشه گیاه سنبل‌الطیب در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و به آن ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل ۷۰ درصد افزوده شد. جهت حل شدن کامل پودر گیاه و تهیه محلول یکنواخت، مخلوط به‌دست آمده با دستگاه شیکر به مدت دو ساعت در درجه حرارت اتاق هم زده شد. پس محلول به دست آمده به مدت ۲ ساعت در دستگاه سانتریفیوژ قرار گرفته و محلول شفاف به دست آمده بعد از صاف شدن به‌وسیله فیلتر سر سرنگ ۰/۴۵ میکرونی (Agilent 1200) به دستگاه تزریق شد (Javan Gholiloo et al., 2019). نمونه کروماتوگرام به دست آمده در شکل ۱ ارائه شده است.

در نهایت بعد از جمع‌آوری داده‌ها، با استفاده از آزمون‌های Kolmogorov-Smirnov و ShapiroWilk test در نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲، نرمال‌سازی و در ادامه تجزیه واریانس داده‌ها انجام شد. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. همبستگی ساده (پیرسون) بین صفات رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی با استفاده نرم‌افزار ذکر شده صورت گرفت.



شکل ۱: نمونه کروماتوگرام والرنیک اسید با استفاده دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) مدل KNUER-YL-9100

نتایج

اثر کودهای اوره و نیتروکسین و همچنین اثر متقابل اوره، نیتروکسین و فسفات بارور-۲ بر ارتفاع بوته معنی‌دار بودند. کاربرد کود اوره و همچنین نیتروکسین منجر به افزایش ارتفاع بوته شد (جدول ۲). به‌طوری که بیشترین ارتفاع بوته (۶۱/۳۳ سانتی‌متر) در کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار به همراه کاربرد نیتروکسین و عدم کاربرد فسفات بارور-

۲ به‌دست آمد که افزایش ۶۱/۹ درصدی در مقایسه با تیمار شاهد داشت. کمترین ارتفاع بوته در عدم کاربرد کود اوره، نیتروکسین و فسفات بارور-۲ با میانگین ۲۳/۳۳ سانتی‌متر مشاهده شد (جدول ۳).

عرض برگ تحت تأثیر کود اوره، نیتروکسین و اثر متقابل این دو تفاوت معنی‌دار داشت، در حالی که طول برگ تحت اثر متقابل کود اوره، نیتروکسین و فسفات بارور-۲ تفاوت معنی‌دار نشان داد (جدول ۲). استفاده از ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار همراه با کود نیتروکسین، بیشترین عرض برگ (۱۲/۵ سانتی‌متر) را نشان داد. البته کاربرد ۶۰ و ۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار به همراه کود نیتروکسین نیز در گروه مشترک با بالاترین میانگین قرار داشتند. کمترین عرض برگ در عدم کاربرد و کاربرد کود نیتروکسین به همراه عدم کاربرد کود اوره به‌دست آمد (شکل A۲). کاربرد ۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار به همراه کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲ منجر به افزایش و ایجاد بیشترین طول برگ (۷/۳۳ سانتی‌متر) گردید که در مقایسه با شاهد افزایش ۴۷/۷ درصدی داشت. عدم کاربرد کود اوره و نیتروکسین به همراه کاربرد و عدم کاربرد کود فسفات بارور-۲ کمترین طول برگ را نشان دادند (جدول ۳).

کاربرد کود اوره و کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲ منجر به افزایش معنی‌دار میانگین LAI شدند (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه نشان داد که استفاده از ۱۵۰ کیلوگرم اوره به همراه کاربرد کود نیتروکسین و فسفات بارور-۲، بیشترین LAI (۵/۵) را منجر شد. علاوه بر این در این سطح کود اوره، استفاده از نیتروکسین به همراه عدم استفاده از فسفات بارور-۲ و همچنین عدم استفاده از نیتروکسین در کنار استفاده از کود فسفات بارور-۲ نیز در گروه مشترک با بیشترین میانگین قرار داشتند. به بیان دیگر، وجود یکی از کودهای زیستی در کنار کود اوره برای بالاتر رفتن LAI لازم بود (جدول ۳).

اثر کود اوره بر قطر و طول ریشه معنی‌دار بود. همچنین، اثر متقابل سه‌گانه اوره، نیتروکسین و فسفات بارور-۲ بر قطر ریشه معنی‌دار و بر طول ریشه غیرمعنی‌دار به‌دست آمد. میانگین قطر ریشه از ۷/۹۷ (در سطح کودی ۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار) تا ۵/۱۴ میلی‌متر (بدون مصرف کود اوره) متغیر بود (جدول ۲). بیشترین قطر ریشه در کاربرد ۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار به همراه نیتروکسین و عدم کاربرد فسفات بارور-۲ با میانگین ۹/۶۷ میلی‌متر مشاهده شد که افزایش ۴۶/۵ درصدی در مقایسه با شاهد داشت (جدول ۳). نتایج نشان داد که استفاده از غلظت‌های بالاتر از ۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار، اثر منفی و کاهنده بر قطر ریشه داشت. نتایج مشابهی در طول ریشه نیز مشاهده شد. به‌طوری که بیشترین طول ریشه (۱۴/۲۹ سانتی‌متر) در ۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار به‌دست آمد و کمترین طول (۸/۲۹ سانتی‌متر) مربوط به تیمار شاهد بود. کاربرد کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲ به‌ترتیب منجر به افزایش ۱۱/۵ و ۱۰/۱۵ درصدی طول ریشه در مقایسه با عدم کاربرد این دو کود شدند (جدول ۲).

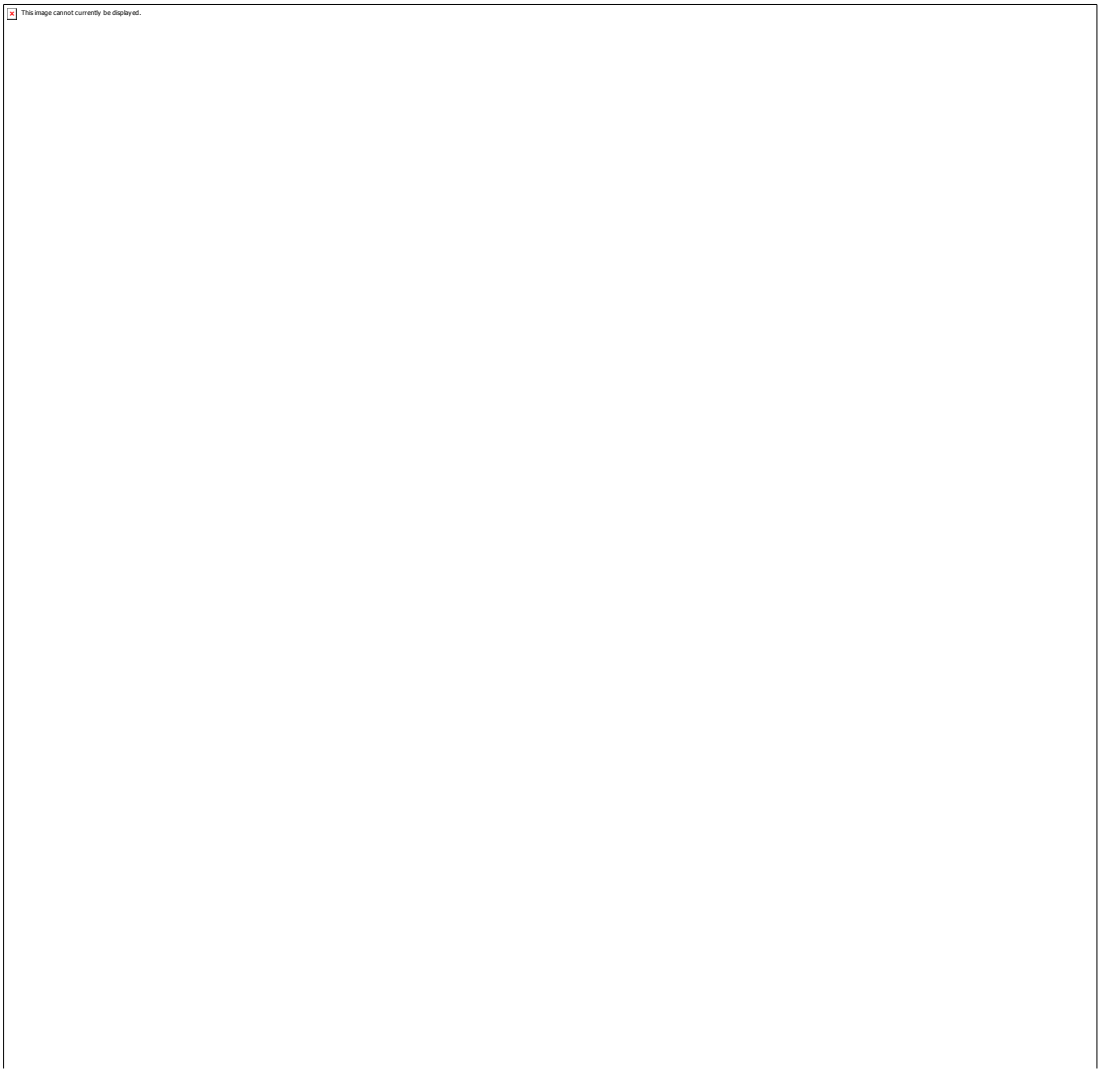
نتایج حاکی از اثر معنی‌دار هر سه کود مورد مطالعه و همچنین اثر متقابل کود اوره و نیتروکسین بر وزن خشک اندام هوایی بود. استفاده از کود اوره و تلقیح با کودهای نیتروکسین و فسفات بارور-۲، افزایش وزن خشک اندام هوایی را در پی داشت (جدول ۲). بیشترین وزن خشک اندام هوایی در کاربرد ۹۰ و ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار به‌همراه تلقیح با نیتروکسین مشاهده شد که در مقایسه با شاهد به‌ترتیب افزایش ۵۲/۳ و ۴۸/۵ درصدی داشتند.

جدول ۲: اثر غلظت‌های مختلف کود اوره و کاربرد کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲ بر برخی صفات مورفولوژیک، عملکردی و فیزیولوژیک سنبل‌الطیب

	ارتفاع بوته (cm)	عرض برگ (cm)	طول برگ (cm)	LAI	قطر ریشه (mm)	طول ریشه (cm)	وزن خشک اندام هوایی (ton/ha)	عملکرد ریشه (ton/ha)	عملکرد بیولوژیک (ton/ha)	شاخص برداشت (٪)
سطوح کود اوره (UR) (kg/ha)										
صفر	۳۰/۰۸±۷/۳ c	۸/۶۳±۲/۰۶ b	۴/۲۹±۰/۷۵ d	۴/۲۱±۰/۴۳ b	۵/۱۴±۱/۱۵ b	۸/۲۹±۱/۳۸ d	۳/۹۳±۰/۵۷ d	۱/۹۷±۰/۳ d	۵/۹±۰/۷۶ d	۵۰/۴۵±۹/۲ b
۳۰	۳۳/۸۳±۹/۵۸ c	۹±۱/۴۸ b	۴/۵۸±۰/۸۷ cd	۴/۲۷±۰/۵۲ b	۵/۱۹±۱/۰۶ b	۹/۷۱±۲/۱۳ c	۴/۶۷±۱/۱۳ c	۲/۳۹±۰/۳ c	۷/۰±۱/۲۸ c	۵۳/۴±۱۲/۸ b
۶۰	۴۲±۷/۷۸ b	۱۰/۲۵±۱/۲۲ a	۴/۸۸±۰/۶۵ bc	۴/۴۱±۰/۳۷ b	۶/۰۱±۱/۳۴ b	۱۱/۹۶±۲/۵۸ b	۵/۶۴±۰/۸ b	۲/۷۳±۰/۴ b	۸/۳۷±۱/۰ b	۴۸/۹۳±۹/۵ b
۹۰	۴۸/۶۷±۱۲/۳۵ a	۱۰/۶۷±۱/۱۹ a	۵/۶۷±۱/۱۷ a	۴/۷۲±۰/۴۶ a	۷/۹۷±۲/۰۲ a	۱۴/۲۹±۱/۸۷ a	۷/۰۸±۱/۳۷ a	۳/۷۷±۰/۸ a	۱۰/۸±۲/۱ a	۵۳/۲۳±۶/۸ b
۱۵۰	۵۲±۹/۸۴ a	۱۱/۰۸±۱/۹۴ a	۵/۱۷±۰/۹۱ ab	۴/۹۹±۰/۴۷ a	۶/۰۵±۱/۱۴ b	۱۱/۸۳±۱/۶۲ b	۶/۵۶±۱/۰۷ a	۳/۹۷±۰/۶ a	۱۰/۵±۱/۶ a	۶۰/۹۱±۷/۷ a
LSD (α=۰/۰۵)	۶/۰	۱/۱۱	۰/۵۱	۰/۲۶	۰/۹۵	۱/۳۴	۰/۵۵	۰/۲۶	۰/۶۲	۶/۹۲
نیتروکسین (Ni)										
عدم کاربرد	۳۷/۰۷±۱۲/۱۶ b	۹/۳۶±۱/۴۴ b	۴/۴۳±۰/۷۸ b	۴/۳۷±۰/۵۳ b	۵/۹۲±۱/۴۵	۱۰/۵۳±۲/۹۹ b	۴/۹۸±۱/۲۳ b	۲/۶۴±۰/۷ b	۷/۶۲±۱/۸ b	۵۳/۵۶±۱۱/۱
کاربرد	۴۵/۵۷±۱۱/۵۱ a	۱۰/۴۹±۲/۰۳ a	۵/۴±۰/۹۳ a	۴/۶۷±۰/۵ a	۶/۲۲±۱/۹۲	۱۱/۹۱±۲/۴۸ a	۶/۱۸±۱/۵۹ a	۳/۲۹±۱/۰ a	۹/۴۶±۲/۵ a	۵۳/۲۱±۸/۹
LSD (α=۰/۰۵)	۳/۷۹	۰/۷۰	۰/۳۲	۰/۱۷	NS(۰/۶۰)	۰/۸۵	۰/۳۴	۰/۱۶	۰/۳۹	NS(۴/۳۸)
فسفات بارور-۲ (PB)										
عدم کاربرد	۴۰/۰۷±۱۳/۲	۹/۶۶±۱/۸۸	۴/۶۴±۰/۸۲ b	۴/۳۳±۰/۵۴ b	۶/۱۵±۱/۷۶	۱۰/۶۲±۲/۶۵ b	۵/۲۳±۱/۲۲ b	۲/۷±۰/۷۶ b	۷/۹۳±۱/۸ b	۵۱/۸۶±۹/۰۳
کاربرد	۴۲/۵۷±۱۱/۷	۱۰/۱۹±۱/۷۸	۵/۲±۱/۰۶ a	۴/۷۱±۰/۴۵ a	۶±۱/۶۵	۱۱/۸۲±۲/۸۸ a	۵/۹۳±۱/۷۴ a	۳/۲۳±۱/۰۹ a	۹/۱۶±۲/۷ a	۵۴/۹۱±۱۰/۹
LSD (α=۰/۰۵)	NS(۳/۷۹)	NS(۰/۷۰)	۰/۳۲	۰/۱۷	NS(۰/۶۰)	۰/۸۵	۰/۳۴	۰/۱۶	۰/۳۹	NS(۴/۳۸)
Statistical analysis										
UR×Ni	NS	*	*	NS	*	NS	*	**	*	**
UR×PB	*	NS	*	*	*	NS	NS	*	*	NS
Ni×PB	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
UR×Ni×PB	**	NS	*	*	*	NS	NS	*	NS	NS
خطا	۵۲/۷	۱/۸۱	۰/۳۸	۰/۱۰۶	۱/۳۳	۲/۶۵	۰/۴۴	۰/۱۰	۰/۵۶	۷۰/۲
(٪) ضریب تغییرات	۱۷/۵۷	۱۳/۵۸	۱۲/۶۹	۷/۲۰	۱۹/۰۶	۱۴/۵۲	۱۱/۹۸	۱۰/۸۱	۸/۸۲	۱۵/۷۰

NS: غیر معنی‌دار و * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ؛ میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون، از نظر آزمون مقایسه میانگین LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

This image cannot currently be displayed.



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل کاربرد غلظت‌های مختلف کود اوره (صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) و کود زیستی نیتروکسین (کاربرد و عدم کاربرد) بر عرض برگ (A)، وزن خشک اندام هوایی (B)، عملکرد بیولوژیک (C)، شاخص برداشت (D)، کلروفیل b (E) و کلروفیل کل (F) گیاه دارویی سنبل‌الطیب

کمترین میانگین وزن خشک اندام هوایی نیز مربوط به سطح عدم کاربرد کود اوره در هر دو سطح کود نیتروکسین و همچنین کاربرد ۳۰ کیلوگرم اوره در هکتار در عدم تلقیح با نیتروکسین بود (شکل B۲).

عملکرد ریشه تحت تأثیر کود اوره و کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲ تفاوت معنی‌دار نشان داد. به‌طوری که استفاده از این کودها، افزایش میانگین عملکرد ریشه را در مقایسه با تیمار عدم کاربرد نشان داد (جدول ۲). در مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه، بیشترین عملکرد ریشه در کاربرد ۱۵۰ و ۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار به‌همراه تلقیح با کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲ (به‌ترتیب ۴/۸۸ و ۵/۱ تن در هکتار) به‌دست آمد که افزایش ۶۷/۰ و ۶۸/۴ درصدی در مقایسه با تیمار عدم کاربرد این کودها (شاهد) که کمترین عملکرد ریشه (۱/۶۱ تن در هکتار) را داشت، نشان دادند (جدول ۳).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر کود اوره و کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲ و همچنین اثر متقابل اوره در نیتروکسین و اوره در فسفات بارور-۲ بر عملکرد بیولوژیک معنی‌دار بودند. تلقیح گیاهان با فسفات بارور-۲ منجر به افزایش ۱۳/۴ درصدی عملکرد بیولوژیک شد (جدول ۲). بیشترین عملکرد بیولوژیک در استفاده از ۹۰ و ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار به همراه تلقیح با کود زیستی نیتروکسین (به‌ترتیب ۱۲/۱۹ و ۱۱/۶۱ تن در هکتار) به‌دست آمد که افزایش ۵۵/۲ و ۵۳/۰ درصدی در مقایسه با شاهد داشتند. عدم کاربرد کود اوره و نیتروکسین نیز کمترین عملکرد بیولوژیک (۵/۴۵ تن در هکتار) را داشت (شکل C۲).

نتایج نشان داد اثر کود اوره و همچنین اثر متقابل اوره و نیتروکسین بر شاخص برداشت معنی‌دار بودند. در بین سطوح کود اوره، فقط غلظت ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار، تفاوت معنی‌داری با بقیه سطوح تیماری داشت (جدول ۲). در مقایسه میانگین اثر متقابل اوره و نیتروکسین، بیشترین شاخص برداشت در ۳۰ کیلوگرم اوره در هکتار همراه با عدم کاربرد نیتروکسین مشاهده شد که تیمارهای صفر، ۹۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار همراه با کاربرد نیتروکسین نیز در گروه برتر قرار داشتند. به نظر می‌رسد عدم تفاوت مابین سطوح صفر تا ۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار این ناهمگونی را در شاخص برداشت باعث شده است. کمترین شاخص برداشت نیز در کاربرد ۳۰ کیلوگرم اوره در هکتار همراه با نیتروکسین با میانگین ۴۳/۸ درصد مشاهده شد (شکل D۲).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر کود اوره و نیتروکسین بر محتوای کلروفیل‌های a، b و کل و همچنین اثر کود فسفات بارور-۲ و اثر متقابل اوره در نیتروکسین بر محتوای کلروفیل‌های b و کل معنی‌دار بودند. نتایج نشان داد استفاده از ۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار منجر به ایجاد بالاترین محتوای کلروفیل a شد که در مقایسه با شاهد افزایش ۲۴/۵ درصدی داشت. استفاده از ۶۰ و ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار نیز در گروه مشترک با تیمار برتر قرار داشتند. کمترین میانگین این صفت در عدم کاربرد کود اوره با میانگین ۱۳/۰۳ میکروگرم بر گرم وزن تر بود. علاوه بر این، تلقیح گیاهان با نیتروکسین افزایش ۱۰/۶ درصدی کلروفیل a را در پی داشت (جدول ۲). بیشترین محتوای کلروفیل b و کل در کاربرد ۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار همراه با تلقیح گیاهان با نیتروکسین (به‌ترتیب با میانگین ۱۲/۷۲ و ۳۱/۶ میکروگرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد که افزایش ۷۳/۰۳ و ۵۲/۴ درصدی در مقایسه با شاهد داشتند. کمترین محتوای کلروفیل b و کل مربوط به تیمار شاهد (عدم کاربرد) بود (شکل E,F۲).

اثر کود اوره بر محتوای و عملکرد اسانس ریشه سنبل‌الطیب معنی‌دار بود. همچنین اثر نیتروکسین و اثر متقابل اوره، نیتروکسین و فسفات بارور-۲ بر محتوای اسانس معنی‌دار به‌دست آمد. نتایج نشان داد که افزایش غلظت اوره در محیط کشت گیاه، کاهش محتوای اسانس و افزایش عملکرد اسانس را در پی داشت. به‌طوری‌که بیشترین عملکرد اسانس (۵۴/۳۵ لیتر بر هکتار) در بالاترین سطح کود اوره مشاهده شد که در مقایسه با تیمار شاهد افزایش ۳۹/۹ درصدی داشت. در حالی که در این سطح کودی، محتوای اسانس کاهش ۱۵/۸ درصدی در مقایسه با عدم کاربرد کود (شاهد) نشان داد (جدول ۲). در مقایسه میانگین اثر متقابل، رنج عددی محتوای اسانس از ۰/۹۳ (۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار به‌همراه تلقیح با نیتروکسین و فسفات بارور-۲) تا ۱/۹۴ درصد (عدم کاربرد اوره، نیتروکسین و فسفات بارور-۲) متغیر بود.

This image cannot currently be displayed.

This image cannot currently be displayed.

نتایج نشان داد که نقش اوره در افزایش یا کاهش محتوای اسانس بسیار مؤثرتر از نقش دو کود زیستی دیگر بود. چرا که، در سطوح پایین کود اوره، کاربرد یا عدم کاربرد کودهای زیستی نیز دارای بالاترین محتوای اسانس بودند. به‌طور مثال، عدم تلقیح گیاهان با کودهای زیستی در شرایط کاربرد صفر، ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم اوره در هکتار، بیشترین محتوای اسانس را داشتند (جدول ۳).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر کود نیتروکسین و اثر متقابل اوره، نیتروکسین و فسفات بارور-۲ بر محتوای و عملکرد والرنیک اسید معنی‌دار بودند. استفاده از کودهای اوره و نیتروکسین کاهش محتوای والرنیک اسید را در پی داشت (جدول ۲). محتوای والرنیک اسید در پژوهش حاضر از ۰/۲۵ تا ۰/۴۶ درصد عصاره متغیر بود. کمترین محتوای والرنیک اسید مربوط به عدم کاربرد اوره و فسفات بارور-۲ به همراه کاربرد نیتروکسین، کاربرد ۹۰ و ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار و تلقیح با کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲ بود. بیشترین محتوای والرنیک اسید (۰/۴۶ درصد) و عملکرد والرنیک اسید (۲۲۰/۲۷ میلی‌گرم بر هکتار) در استفاده از ۳۰ کیلوگرم اوره به‌همراه فسفات بارور-۲ و عدم کاربرد نیتروکسین مشاهده شد که در مقایسه با شاهد به‌ترتیب افزایش ۴/۳۴ و ۲۹/۹ درصدی داشتند (جدول ۳).

نتایج همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه نشان داد که محتوای اسانس و والرنیک اسید با صفات رشدی، عملکردی همبستگی منفی دارند، ولی عملکرد اسانس و عملکرد والرنیک اسید با توجه به وابستگی به عملکرد ریشه، همبستگی مثبتی نشان دادند. عملکرد ریشه به‌عنوان صفت اقتصادی در سنبل‌الطیب با تمامی صفات رشدی، عملکردی و همچنین محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت (جدول ۴).

بحث

پژوهش حاضر با هدف بررسی رفتارهای رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی سنبل‌الطیب در پاسخ به کاربرد کودهای اوره، نیتروکسین و فسفات بارور-۲ انجام شد. براساس نتایج به‌دست آمده در جدول ۲، استفاده از غلظت‌های مختلف کود اوره اثرات معنی‌داری بر صفات رشدی (ارتفاع بوته، عرض و طول برگ، شاخص سطح برگ)، عملکردی (قطر، طول و عملکرد ریشه، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت) و فیزیولوژیکی (محتوای کلروفیل a، b و کل) و همچنین صفات کیفی (محتوای اسانس و والرنیک اسید) داشت. در همین راستا، Mahdavi Khorami و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که استفاده از کود شیمیایی اوره اثر معنی‌داری بر صفات رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی از جمله محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی کنجد داشت. این پژوهشگران بیان داشتند که استفاده از کود نیتروژن منجر به افزایش این عنصر در خاک شده و جذب آن توسط گیاه را توسعه می‌دهد. در نتیجه محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی که یکی از عناصر لازم برای افزایش آن نیتروژن است، را افزایش می‌دهد.

پژوهشگران بیان داشتند اگرچه عملکرد کمی کودهای شیمیایی در گیاهان دارویی کمی بالاتر از کودهای آلی و زیستی می‌باشد، اما پایین آمدن کیفیت ترکیبات مؤثر در گیاهان دارویی بعد از استعمال کودهای معمول شیمیایی باعث ایجاد تردید در استفاده بیش از اندازه از آن‌ها شده است (Javan Gholiloo et al., 2020). در پژوهشی بیان شد که کاربرد کود شیمیایی اوره، درصد والرنیک اسید را

نسبت به تیمار شاهد کاهش داد (Osman, 2011) که هم‌راستا با یافته‌های نتایج آزمایش حاضر می‌باشد (جدول ۲). این افزایش به بالا رفتن شرایط تنش با محدود شدن رشد رویشی گیاه سنبل‌الطیب مرتبط می‌باشد. نتایج نشان داد که محتوای اسانس در غلظت‌های کم اوره، دارای برتری معنی‌داری است. به بیان دیگر عدم کاربرد یا کاربرد کم (۳۰ و ۶۰ کیلوگرم در هکتار) اوره افزایش محتوای اسانس را در پی داشت (جدول ۲). در این راستا، پژوهشگران بیان داشتند که فراهم بودن عناصر غذایی برای گیاه در تیمارهای کودی باعث افزایش تولید مواد فتوسنتزی شده و این امر منجر به افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Azizi et al., 2015).

استفاده از کودهای زیستی مانند باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن باعث کاهش استفاده از کودهای شیمیایی شده و محصولات را با کیفیت بالا و عاری از مواد شیمیایی مضر برای ایمنی انسان ارائه کرده است. نیتروکسین حاوی 10^8 CFU/ml ازتوباکتر و آزوسپیلیوم می‌باشد (Mahdavi Khorami et al., 2020). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از کود زیستی نیتروکسین منجر به بهبود و افزایش صفات رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی شد (جداول ۲ و ۳). در همین راستا، در چندین مطالعه گزارش داده‌اند که کود زیستی نیتروکسین می‌تواند باعث افزایش عملکرد و اسانس در چند گیاه دارویی و زراعی شود (Karimi et al., 2020; Mahdavi Khorami et al., 2020). Karimi و همکاران (۲۰۲۰) اظهار داشتند که کودهای زیستی باعث افزایش تماس ریشه با خاک و در نهایت جذب مواد مغذی می‌شوند. محققان همچنین اظهار کردند که تولید اسیدهای مختلف توسط باکتری‌ها می‌تواند منجر به حلالیت آلی بیشتر خاک شود. به نظر می‌رسد تأثیر کودهای زیستی تا ۵۰ درصد نیازهای تغذیه‌ای گیاه را تأمین می‌کند و بقیه نیازهای گیاه را باید با استفاده از کودهای شیمیایی تأمین کرد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده همزمان از کود شیمیایی اوره به همراه کود زیستی نیتروکسین بالاترین میانگین صفات ارتفاع بوته، شاخص سطح برگ و عملکرد ریشه را در پی داشت (جدول ۳). در همین راستا، نتایج مشابه در گندم (Karimi et al., 2020)، کنجد (Mahdavi Khorami et al., 2020)، کلزا (Oladaskari et al., 2020) و سنبل‌الطیب (Filizadeh and Goodarzi, 2010) گزارش شده است.

استفاده از کود نیتروکسین افزایش شاخص‌های رشدی ریشه و اندام هوایی و در نتیجه افزایش عملکرد را در پی داشت (جدول ۲). در همین راستا، پژوهشگران بیان داشتند که علاوه بر تثبیت نیتروژن مولکولی، ریزوباکتری‌های موجود در کود زیستی نیتروکسین باعث تولید هورمون IAA می‌شوند که منجر به افزایش طول و ساختارهای ریشه گیاه شده و بنابراین جذب نیتروژن را از خاک بهبود می‌بخشد (Kamali and Mehraban, 2020a). در پژوهشی بیان شد که تیمارهای تغذیه‌ای کود زیستی (نیتروکسین) به‌طور معنی‌داری باعث افزایش ارتفاع بوته، وزن خشک گل و اندام‌های هوایی، درصد و عملکرد اسانس گیاه دارویی بابونه آلمانی شد (Saravani et al., 2020). اگرچه فراهمی نیترات موجود در انواع کودها در رشد و نمو اندام‌های هوایی تأثیر بسزایی داشته اما در محیط ریشه گیاه نیتروکسین توانایی ساخت و ترشح برخی مواد بیولوژیکی فعال مانند اکسین‌ها، جیبرلین‌ها، ویتامین‌های گروه ب، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتنیک، بیوتین و غیره را دارند که در افزایش رشد نقش مؤثری ایفا می‌کنند (Aghighi Shahverdi et al., 2019).

عملکرد بیولوژیک در استفاده از ترکیب کودی زیستی و اوره دارای بالاترین میانگین بود (شکل C۲).

در این راستا، پژوهشگران بیان داشتند که کودهای زیستی با افزایش راندمان و جذب نیتروژن منجر به بیشترین رشد ساقه و در نتیجه افزایش عملکرد بیولوژیک می‌شوند (Karimi et al., 2020). گزارش‌های دیگر نشان داده است که تلقیح ذرت با باکتری‌های تقویت کننده گیاه علاوه بر کاهش ۳۰ تا ۳۵ درصدی کود نیتروژن، رشد گیاه را بهبود می‌بخشد. افزایش زیست‌توده میکروبی با سلامت خاک ارتباط مستقیم دارد. این باعث افزایش تعادل عناصر غذایی و در دسترس بودن مواد مغذی در ریزوسفرهای ریشه می‌شود که باعث افزایش رشد و در نهایت بر افزایش عملکرد تأثیر می‌گذارد (de Matos Nascimento et al., 2020; Karimi et al., 2020).

در پژوهشی نتیجه‌گیری شد که استفاده از کود زیستی نیتروکسین باعث افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و صفات عملکردی از جمله تعداد دانه، وزن صد دانه و عملکرد دانه در گیاه سورگوم (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) شد (Kamali and Mehraban, 2020b). افزایش محتوای کلروفیل از طریق تلقیح با کودهای زیستی احتمالاً به این دلیل افزایش فعالیت آنزیم pyridoxal باشد. این آنزیم نقش مهمی در سنتز α-aminolevulinic acid به‌عنوان یک ترکیب اصلی در کلروفیل، ایفا می‌کند (Kahil et al., 2017).

کودهای زیستی با حداقل خسارت به ساختمان و اسیدیته خاک، مکمل مناسبی برای کودهای شیمیایی محسوب می‌شوند. استفاده از کودهای زیستی از نوع باکتری‌های حل کننده فسفر و تثبیت کننده نیتروژن، تأثیر معنی‌داری بر کیفیت ترکیبات دارویی ریشه سنبل‌الطیب داشتند (Javan Gholiloo et al., 2020).

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از کود زیستی فسفات بارور-۲ منجر به افزایش طول برگ، شاخص سطح برگ، طول ریشه، وزن خشک اندام هوایی، عملکرد ریشه، عملکرد بیولوژیک و محتوای کلروفیل b و کل گردید (جدول ۲). کودهای زیستی حاوی مقادیر کافی از یک یا چند گونه میکروارگانیسم مفید خاکزی می‌باشند و نقش مثبتی در رفع نیاز غذایی گیاهان داشته و سبب بهبود شرایط رشد آن‌ها می‌شوند. در این راستا، تأثیر مثبت کودهای زیستی به‌ویژه فسفات بارور-۲ بر رشد و عملکرد گیاهان زراعی و دارویی گزارش شده است (Alahresani and Ramazani, 2021). این کود زیستی شامل سویه‌های مختلف باکتری‌های حل کننده فسفات شامل *Bacillus lentus* و *Pseudomonas putida* بوده و از خاک‌های کشاورزی داخل کشور جداسازی شده و با شرایط اقلیمی ایران سازگار است. جنس سودوموناس با ترشح آنزیم‌های فسفاتاز باعث تجزیه ترکیبات فسفات‌دار آلی و در نتیجه معدنی شدن و قابل جذب شدن آن‌ها می‌شود و جنس باسیلیوس با ترشح اسیدهای آلی منجر به کاهش اسیدیته به‌صورت موضعی شده و در ادامه با تجزیه پیوند موجود در ساختار ترکیبات فسفاته معدنی که به‌صورت نامحلول در خاک بوده‌اند، را به شکل محلول قابل جذب برای ریشه گیاه در می‌آورد (Mojadam, 2019).

استفاده از کودهای زیستی فسفات بارور-۲ و نیتروکسین و همچنین کود اوره منجر به افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی شد (شکل E,F۲). در این راستا نتایج مشابهی در ذرت (Alahresani and Ramazani, 2021) و کتان (Shojaeian Kishi et al., 2019) گزارش شد. این پژوهشگران دلایل افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی را به جذب بیشتر عناصر از خاک و افزایش سطح برگ مرتبط دانستند. به نظر می‌رسد که کود زیستی فسفات بارور-۲ از طریق تولید هورمون‌های رشد گیاه، بهبود رشد و گسترش ریشه، تحریک جذب عناصر کم‌مصرف و پرمصرف توسط

ریشه و ساخت آنزیم‌های دخیل در رشد و نمو باعث تحریک رشد رویشی و زایشی و افزایش زیست‌توده و عملکرد می‌شود (Aghighi Shahverdi et al., 2019; Mojadam, 2019).

اسانس‌های ترکیبات ترپنوئیدی بوده و بیوسنتز واحدهای سازنده آن نیاز به NADPH و ATP دارند. برای سنتز این دو ترکیب، عناصر نیتروژن و فسفر لازم و ضروری است، لذا مصرف کودهای شیمیایی و زیستی عملاً باید منجر به افزایش درصد اسانس گردد (Aghighi Shahverdi et al., 2019) که در این پژوهش نتایج متفاوتی حاصل شده است و عدم کاربرد کودهای زیستی نیتروکسین منجر به ایجاد بالاترین محتوای اسانس در ریشه سنبل‌الطیب شد و اثر کود فسفات بارور-۲ بر محتوای اسانس غیرمعنی‌دار به‌دست آمد (جدول ۲). نتایج نشان داد که کود اوره، نیتروکسین و فسفات بارور-۲ بر محتوای و عملکرد والرنیک اسید معنی‌دار بودند (جدول ۲). در این راستا، نتیجه مشابهی در گیاه سنبل‌الطیب گزارش شد (Javan Gholiloo et al., 2019). نتایج یافته‌ها نشان داد که محتوای اسانس و والرنیک اسید برخلاف عملکرد اسانس و والرنیک اسید، به عدم کاربرد کودهای زیستی بهتر پاسخ دادند. در این راستا، پژوهشگران بیان داشتند که افزایش وزن خشک ریشه در تیمارهای استفاده از کودهای زیستی نشان دهنده شرایط مطلوب رشدی برای گیاه سنبل‌الطیب بوده و از آنجایی که والرنیک اسید جزئی از متابولیت‌های ثانویه می‌باشد و تحت شرایط تنش سنتز آن بیشتر می‌شود، می‌توان انتظار داشت که در تیمارهای نامناسب از نظر سطح کودی، درصد اسانس و همچنین والرنیک اسید افزایش یابد (Javan Gholiloo et al., 2019). این پژوهشگران نتایج مشابهی مبنی بر کاهش محتوای اسانس و والرنیک اسید تحت تیمار کاربرد کودهای زیستی را گزارش کردند. از سویی دیگر، استفاده از کود شیمیایی و زیستی افزایش عملکرد اسانس و والرنیک اسید را در پی داشت که علت این امر دخیل بودن عملکرد ریشه در محاسبه این دو پارامتر می‌باشد. هم‌راستا با نتایج این پژوهش، پژوهشگران گزارش کردند که استفاده از کودهای زیستی باعث کاهش محتوای اسانس و والرنیک اسید و افزایش عملکرد اسانس در گیاه سنبل‌الطیب شد (Mousavi et al., 2021).

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طور کلی یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد، برای بالا بردن عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی سنبل‌الطیب، می‌توان مبادرت به استعمال تلفیقی کود شیمیایی و زیستی نمود. استفاده تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی در غلظت‌های پایین‌تر باعث گسترش رشد و افزایش کیفیت گیاهان دارویی در ترکیبات ثانویه آن‌ها می‌گردد. در همین راستا، نتیجه‌گیری کردند که بالاترین میزان عملکرد کیفی و کمی گیاه دارویی بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) در شرایط استعمال تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی به‌دست آمد (Ahmadian et al., 2011). در نهایت یافته‌های کلی از این پژوهش نشان داد که گیاه سنبل‌الطیب به کاربرد غلظت‌های مختلف کود اوره و همچنین کودهای زیستی نیتروکسین و فسفات بارور-۲ پاسخ افزایشی از نظر صفات رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی داد. به طوری که استفاده از این کودها باعث افزایش این صفات شد. از طرف دیگر، درصد اسانس و درصد والرنیک اسید با کاربرد این کودها (البته غلظت‌های بالای کود اوره) روند کاهشی داشت ولی عملکرد این دو متابولیت روند افزایشی داشتند. در نهایت می‌توان نتیجه‌گیری کرد که استفاده از ۹۰ کیلوگرم اوره در هکتار برای دستیابی به مطلوب‌ترین عملکرد کمی و کیفی در گیاه دارویی سنبل‌الطیب به همراه استفاده از کودهای نیتروکسین و فسفات بارور-۲ قابل توصیه می‌باشد.

Reference

1. Aghighi Shahverdi, M., Amini Dahaghi, M., Ataei Somagh, H., and Mamivand, B. 2019. The effect of different nutritional systems with nitrogen and phosphorous fertilizers on quantitative and qualitative traits of basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture), 41: 1-14.
2. Ahmadian, A., Ghanbari, A., and Siahsar, B. 2011. Study of the yield and its components of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) under drought stress and organic and inorganic fertilizers using and their residue. Agroecology, 3: 383-395.
3. Alahresani, M., and Ramazani, S.H.R. 2021. Effects of biological, chemical and animal fertilizers on photosynthetic pigments, yield and yield components of corn 500 single cross. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 31: 125-143.
4. Amanifar, S., and Toghranegar, Z. 2020. The efficiency of arbuscular mycorrhiza for improving tolerance of *Valeriana officinalis* L. and enhancing valerenic acid accumulation under salinity stress. Industrial Crops and Products, 147: 112234.
5. Azizi, M., Mirmostafaee, S., Bahreini, M., Arouee, H., and Oroojalian, F. 2015. Evaluation of the effect of organic manure and compost application on growth, development, essential oil content, and microbial load in valerian (*Valeriana officinalis* L.). Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture), 38: 1-14.
6. de Matos Nascimento, A., Maciel, A.M., Silva, J.B.G., Mendonça, H.V., de Paula, V.R., and Otenio, M.H. 2020. Biofertilizer application on corn (*Zea mays*) increases the productivity and quality of the crop without causing environmental damage. Water, Air, & Soil Pollution, 231: 1-10.
7. Filipović, V., and Ugrenović, V. 2020. Innovative approach in the production of valerian (*Valeriana officinalis* L.) using organic production methods. Sustainable Agriculture and Rural Development in Terms of the Republic of Serbia Strategic Goals Realization within the Danube Region, Thematic Proceedings. Institute of Agricultural Economics, Belgrade, Serbia, 593-611.
8. Filizadeh, Y., and Goodarzi, G. 2010. Essential oils from hairy root cultures and field cultivated roots of valerian (*Valeriana sisymbriifolium*). Journal of Medicinal Plants, 9: 120-128.
9. Hasanour, O., Azizi, K., Feizian, M., and Ismaeili, A. 2020. Study the effect of Phosphate Barvar-2 biofertilizer, iron nano-chelate and superabsorbent on qualitative and quantitative yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under dry farming conditions. Iranian Journal Pulses Research, 11: 62-75.
10. Itelima, J., Bang, W., Onyimba, I., Sila, M., and Egbere, O. 2018. Bio-fertilizers as key player in enhancing soil fertility and crop productivity: A review. Direct Research Journal of Agriculture and Food Science, 6: 73-83.
11. Javan Gholiloo, M., Yarnia, M., Ghorttapeh, A.H., Farahvash, F., and Daneshian, A.M. 2019. Evaluating effects of drought stress and bio-fertilizer on quantitative and qualitative traits of valerian (*Valeriana officinalis* L.). Journal of Plant Nutrition, 42: 1417-1429.
12. Javan Gholiloo, M., Yarnia, M., Hassanzadeh Ghorttapeh, A., Farahvash, F., and Daneshian, A. 2020. The reaction of valerian to the application of bio-fertilizers under drought stress. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 30: 59-72.
13. Kahil, A., Hassan, F., and Ali, E. 2017. Influence of bio-fertilizers on growth, yield and anthocyanin content of *Hibiscus sabdariffa* L. plant under Taif region conditions. Annual Research & Review in Biology, 5: 1-15.
14. Kamali, S., and Mehraban, A. 2020a. Effects of Nitroxin and arbuscular mycorrhizal fungi on the agro-physiological traits and grain yield of Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) under drought stress conditions. PLoS One, 15: e0243824.

15. Kamali, S., and Mehraban, A. 2020b. Nitroxin and arbuscular mycorrhizal fungi alleviate negative effects of drought stress on *Sorghum bicolor* yield through improving physiological and biochemical characteristics. Plant Signaling & Behavior, 15: 1813998.
16. Karimi, M., Marashi, S.K., and Payandeh, K. 2020. Investigation integrated effect of fertilizer and biofertilizer (nitrogen and phosphorus) on Wheat (*Triticum aestivum* L.) crop production. Journal of Crop Nutrition Science, 6: 50-60.
17. Lamochi, S., and Sakinejad, T. 2018. Assessment effect of super absorbent polymer and Nitroxin on growth curves and corn (*Zea mays* L.) production. Journal of Crop Nutrition Science, 4: 33-46.
18. Lichtenthaler, H.K., and Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UVVIS spectroscopy'. Current Protocols in Food Analytical Chemistry, 1: 31-38.
19. Lykhovyd, P., Biliaieva, I., Piliarskyi, V., Lavrenko, N., and Maksymov, M. 2021. Modeling valerian roots yield depending on mineral fertilization rates. Modern Phytomorphology, 15: 51-55.
20. Mahdavi Khorami, A., Masoud Sinaki, J., Amini Dehaghi, M., Rezvan, S., and Damavandi, A. 2020. Sesame (*Sesame indicum* L.) biochemical and physiological responses as affected by applying chemical, biological, and nano-fertilizers in field water stress conditions. Journal of Plant Nutrition, 43: 456-475.
21. Mojadam, M. 2019. Evaluation effect of biological fertilizer (nitroxin case study) on corn (*Zea mays* L.) crop production. Journal of Crop Nutrition Science, 5: 61-71.
22. Mousavi, S.A., Dalir, N., Rahnemaie, R., and Ebadi, M.T. 2021. Phosphate concentrations and methionine application affect quantitative and qualitative traits of valerian (*Valeriana officinalis* L.) under hydroponic conditions. Industrial Crops and Products, 171: 113821.
23. Nasiri, Y., Mousavizadeh, S.A., and Asadi, M. 2020. Effect of farmyard, biological and chemical fertilizers on yield, yield components and some morphological characteristics of wheat. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 30: 313-328.
24. Oladaskari, F., Mojaddam, M., Babaei Nejad, T. 2020. Effect of combined application of biological and chemical nitrogen fertilizers on different planting methods on yield and yield components of canola (*Brassica napus* L.). Journal of Crops Improvement, 22: 283-294.
25. Osman, Y. 2011. Organic vs chemical fertilization of medicinal plants: a concise review of researches. Advances in Environmental Biology, 5: 394-400.
26. Pashmforoosh, N., and Ahmadabadi, M. 2020. Optimization of tissue culture and regeneration in Valerian (*Valeriana officinalis*) medicinal plant. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 33: 156-166.
27. Rezaei Chiyaneh, I., Pirzad, A., and Farjami, A. 2015. Effect of nitrogen, phosphorus and sulfur supplier bacteria on seed yield and essential oil of cumin (*Cuminum cyminum* L.). Journal of Agricultural Science and sustainable Production, 24: 71-83.
28. Ricigliano, V., Kumar, S., Kinison, S., Brooks, C., Nybo, S.E., Chappell, J., and Howarth, D.G. 2016. Regulation of sesquiterpenoid metabolism in recombinant and elicited *Valeriana officinalis* hairy roots. Phytochemistry, 125: 43-53.
29. Saravani, K., Rahemi, A., Gholizadeh, A., Gholamalipour Alamdari, E., and Sabouri, H. 2020. The effect of silkworm residues and nitroxin on some quantitative and qualitative characteristics of German chamomile (*Matricaria chamomilla*). Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 33: 607-621.
30. Shojaeian Kishi, F., Yadavi, A., Salehi, A., and Movahhedi Dehnavi, M. 2019. Assessment of agronomical traits and photosynthesis pigments of linseed (*Linum usitatissimum* L. cv. Norman) under irrigation cut-off condition and application of mycorrhiza fungi and phosphate bio fertilizer in Yasouj.

2014. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. Agronomy for Sustainable Development, 34: 1-20.

Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 29: 65-81.

31. Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J.F., Ferrer, A., and Peigné, J.

Evaluation of growth, yield, and physiological responses of *Valeriana officinalis* L. to the application of urea, nitroxin, and phosphate Barvar-2 fertilizers

Heydari-Rahni, M.[1], Nasri, M.[2]*, Filizadeh, Y.[3], Kasraie, P.[2], Azadi, P.[4]

[1]Ph.D. student, Department of Agronomy, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

[2]Assistant Professor, Department of Agronomy, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

[3]Assistant Professor, Department of Agronomy, Shahed University, Tehran, Iran.

[4]Assistant Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran.

Received: 4-10-2021; Accepted: 14-12-2021

Abstract

In the study, to survey the growth, yield, and physiological responses of valerian (*Valeriana officinalis* L.) using different concentrations of urea fertilizer (0, 30, 60, 90, and 150 kg.ha^{-1}) and nitroxin and phosphate Barvar-2 bio-fertilizers, an experiment was conducted in medicinal Plants farm, Tehran, as a factorial in a randomized complete block design with three replications in the 2019-2020 crop year. Seedling cultivation was carried out in mid-May and urea fertilizer treatment was performed in two stages. To measure root and biological yield, one square meter was harvested from each plot and the dry weight of shoot and root was measured and the sum of these two was calculated as biological yield. Root and rhizome essential oils were extracted by water distillation (Clevenger) and valerenic acid by high performance liquid chromatography (HPLC). Essential oil yield was also calculated based on the essential oil percentage and dry root yield. The average root diameter varied from 7.97 (90 kg urea per ha) to 5.14 mm (control). The highest root yield was obtained in 150 and 90 kg urea.ha^{-1} along with inoculation with nitroxin and phosphate Barvar-2 (4.88 and 5.1 ton.ha^{-1}, respectively). Application of 90 kg urea.ha^{-1} along with nitroxin resulted in increased chlorophyll b and total content. Increasing the urea concentration decreased essential oil content and increased essential oil yield. Essential oil content ranged from 0.93 (90 kg urea.ha^{-1} with nitroxin and phosphate Barvar-2) to 1.94% (no-application of fertilizers). The highest valerenic acid content (0.46% of the extract) and valerenic acid yield (220.27 mg.ha^{-1}) were observed using 30 kg of urea with phosphate Barvar-2 and no application of nitroxin. In general, application of nitroxin and phosphate Barvar-2 bio-fertilizers along with 90 kg urea.ha^{-1} by improving growth, yield, and physiological traits led to the production of acceptable essential oil and valerenic acid yield.

Keywords: Essential oil, Nitroxin, Root yield, Valerenic acid, *Valeriana officinalis* L., Urea

*Corresponding author; dr.nasri@yahoo.com