نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۹، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۶، ص. ۶۷۴-۶۵۲

Journal of Agroecology
Vol. 9, No. 3, Fall 2017, p. 652-674

اثر نظام‌های مختلف کوددهی (شیمیایی، زیستی و تلفیقی) بر غلظت عناصر، ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.)

رقیه محمدپور وشوایی[1*]، احمد قنبری[2] و براتعلی فاخری[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۵

محمدپور وشوایی، ر.، قنبری، ا.، و فاخری، ب. ۱۳۹۶. اثر نظام‌های مختلف کوددهی (شیمیایی، زیستی و تلفیقی) بر غلظت عناصر، ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.). بوم‌شناسی کشاورزی، ۹(۳): ۶۵۲-۶۷۴.

چکیده

چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.) گیاهی دارویی و معطر نیمه‌گرمسیری از خانواده ختمی است که از کاسبرگ آن به دلیل خواص دارویی و خوراکی استفاده می‌شود. به منظور ارزیابی اثر کودهای زیستی در تلفیق با مقادیر مختلف کودهای شیمیایی بر غلظت عناصر نیتروژن و فسفر، ویژگی-های بیوشیمیایی و وزن خشک کاسبرگ‌های چای ترش، آزمایشی به صورت بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زابل در سال‌های زراعی ۹۱-۱۳۹۰ و ۹۲-۱۳۹۱ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل تغذیه گیاه با NPK (به ترتیب۲۲۰، ۱۳۰ و ۷۵ کیلوگرم در هکتار اوره، سوپرفسفات تریپل و سولفات پتاسیم)، کود زیستی بیوفسفات، بیوفسفات+۲۵ درصد NPK، بیوفسفات+۵۰ درصد NPK، بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK، کود زیستی نیتروکسین، نیتروکسین+۲۵ درصد NPK، نیتروکسین+۵۰ درصد NPK، نیتروکسین+۱۰۰ درصد NPK، بیوفسفات+ نیتروکسین، بیوفسفات+ نیتروکسین+۲۵ درصد NPK، بیوفسفات+ نیتروکسین+۵۰ درصد NPK، بیوفسفات+ نیتروکسین+۱۰۰ درصد NPK و عدم استفاده از کود (شاهد) بود. صفات مورد مطالعه شامل درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ، درصد فسفر برگ و کاسبرگ، درصد پروتئین برگ و کاسبرگ، محتوای آنتوسیانین، ویتامین C، درصد اسیدیته و وزن خشک کاسبرگ بودند. نتایج حاصل از تجزیه مرکب دو سال زراعی مبین آن بود که تیمارهای مختلف کود شیمیایی، زیستی و تلفیق آن‌ها اثر معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بر کلیه صفات مورد بررسی داشتند. برای کلیه صفات مورد مطالعه بیشترین مقادیر در تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK حاصل گردید که به جز برای درصد نیتروژن و پروتئین برگ اختلاف آن با تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK معنی‌دار نبود. جهت حصول حداکثر عملکرد و کیفیت مطلوب چای ترش بهترین تیمار "بیوفسفات+ نیتروکسین+۵۰ درصد NPK" بود. بنابراین، با توجه به ضرورت تولید گیاهان دارویی در نظام‌های زراعی کم‌نهاده، استفاده از ۵۰ درصد مقدار توصیه شده کودهای شیمیایی به همراه کودهای زیستی نیتروکسین و بیوفسفات جهت حصول حداکثر کمیت و کیفیت کاسبرگ در چای ترش توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: بیوفسفات، صفات فیزیولوژیک، گیاهان دارویی، نیتروکسین، NPK

مقدمه

چای ترش (*Hibisicus sabdariffa* L.) گیاهی دارویی یک‌ساله متعلق به خانواده ختمی[4] می‌باشد که در بسیاری از نواحی گرمسیری برای استفاده از برگ‌ها، بذرها، ساقه و کاسبرگ‌های آن کشت می-گردد. کاسبرگ‌های خشک چای ترش، مهم‌ترین بخش اقتصادی گیاه بوده و برای تهیه چای، شربت، ژله، مربا و نوشیدنی و در صنعت آرایشی و بهداشتی، به عنوان یک منبع رنگ آمیزی طبیعی استفاده می‌شود (Raifa et al., 2005). کاسبرگ‌های چای ترش حاوی آنتوسیانین (۳-گلوکوزید[5] و سیانیدین ۳- گلوکوزید[1]) است که مسئول

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد اگرواکولوژی، استاد، گروه زراعت و دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
(*- نویسنده مسئول: Email: ro_mohammadpour@yahoo.com)
DOI:10.22067/jag.v9i3.40529

۴ - Malvaceae

۵ - 3-glucoside

رنگ قرمز می‌باشد (Khalil & Abdel-Kader, 2011). چای ترش اساساً دارای خواص ضد باکتری می‌باشد، ولی به عنوان داروی قلبی نیز مصرف می‌شود. استفاده آن به عنوان مسهل نیز مفید است (Hayat, 2007). با توجه به اثر چای ترش بر کاهش و یا تنظیم فشار خون (ضد فشار خون) بدون هیچ گونه عوارض جانبی، یک نوشیدنی بسیار محبوب و گیاه با ارزش دارویی به حساب می‌آید (Faraji & Tarkhani, 1999). همچنین بر روی عملکرد معده اثر داشته و نیز می‌تواند در برابر عفونت‌های مختلف بیماری‌های روده مقاومت ایجاد نماید (Owolabi et al., 1995). اوبی فانا و همکاران (Obiefuna et al., 1994) بیان نمودند که گل چای ترش می‌تواند برای شل شدن عضلات، درد رحم و روده مورد استفاده قرار گیرد. تاناکا و همکاران (Tanaka et al., 1993) اظهار داشتند که اسید پروتوکاتچوئیک[2] (یک ترکیب فنلی ساده) شناسایی شده در چای ترش می‌تواند برای مبارزه با اختلالات تب و کبد مورد استفاده قرار گیرد. همچنین نشان داده شده است که این ترکیب یک عامل مؤثر در کاهش عمل سرطان‌زایی دی‌اتیل‌نیتروزامین[3] در کبد است. علاوه بر این، دانه چای ترش حاوی حدود ۱۷ درصد روغن است که خواص آن مشابه به روغن دانه پنبه است (Metwally et Ahmed, 1980; al., 2002).

اگرچه مواد مؤثره موجود در گیاهان دارویی تحت هدایت ژنتیکی ساخته می‌شوند، ولی عوامل اقلیمی محل رویش از جمله عناصر غذایی تأثیر به‌سزایی در کمیت و کیفیت این مواد دارند. عناصر غذایی ازجمله نیتروژن با تأثیری که بر رشد رویشی و زایشی گیاهان دارویی دارند، باعث تغییر در عملکرد محصول می‌شوند و کمیت و کیفیت ماده مؤثره آن‌ها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند (Griffe et al., 2003). این عنصر تأثیر مستقیم در فرایندهای فتوسنتزی و افزایش سطح برگ و اثر غیرمستقیم از طریق نمو و تغییر سرعت تولید برگ خواهد داشت. در بسیاری از نظام‌های کشاورزی، کمبود فسفر پس از نیتروژن به عنوان اساسی‌ترین عامل در تولید محصولات زراعی مطرح شده است (Mosali et al., 2006). این عنصر در تمام فرآیندهای شیمیایی، سازوکارهای انتقال انرژی (ADP و ATP) و انتقال پیام‌ها دخالت دارد (Kumar et al., 2009).

افزایش هزینه نهاده‌های شیمیایی و مصرف بی‌رویه آن‌ها در کشاورزی متداول در طی چند دهه اخیر مشکلات زیست محیطی بسیار زیادی را سبب گردیده است که در این میان می‌توان به معضلاتی همچون آلودگی منابع آب و خاک، افت کیفیت محصولات غذایی، کاهش میزان حاصلخیزی خاک و برهم خوردن تعادل زیستی در محیط خاک که صدمات جبران ناپذیری به اکوسیستم‌ها وارد می‌سازد، اشاره کرد (Kianisadr & Borna, 2008; Sharma, 2002). در این راستا استفاده از فناوری‌های جدید در زمینه استفاده از کودهای زیستی به ویژه به منظور مدیریت نیتروژن و فسفر خاک اهمیت زیادی دارد که در نهایت می‌تواند ضمن بهبود بازده محصولات و کاهش مصرف کودهای شیمیایی، امنیت غذایی و حفظ محیط زیست را نیز به دنبال داشته باشد. کشاورزی پایدار بر پایه مصرف کودهای زیستی با هدف حذف یا تقلیل چشمگیر در مصرف نهاده‌های شیمیایی، یک راه حل مطلوب برای غلبه بر این مشکلات به شمار می‌آید (Sharma, 2002). کودهای زیستی حاوی مواد نگهدارنده‌ای با جمعیت متراکم یک یا چند نوع ریزموجود مفید خاکزی و یا به صورت فرآورده متابولیک این موجودات می‌باشند که به منظور بهبود حاصلخیزی خاک و عرضه مناسب عناصر غذایی مورد نیاز گیاه در یک سیستم کشاورزی پایدار بکار می‌روند (Sharma, 2002). از طرفی تمایل به تولید گیاهان دارویی و معطر در جهان رو به افزایش است و کشت این گیاهان بر پایه کشاورزی پایدار، کیفیت آن‌ها را تضمین کرده و احتمال اثرات منفی کاربرد نهاده‌های شیمیایی روی کیفیت دارویی این گیاهان را نیز کاهش می‌دهند و به نظر می‌رسد که در چنین شرایطی، حداکثر رشد و عملکرد از آن‌ها حاصل گردد (Kalra, 2003).

تحقیقات زیادی در زمینه کاربرد کودهای زیستی در تولید محصولات مختلف زراعی صورت گرفته است و نتایج ارزنده‌ای نیز به‌دست آمده است. ابوباقر و جهان (Abo-Baker & Gehan, 2011) در چای ترش دریافتند که اضافه نمودن کودهای بیولوژیک به ۱۰۰ درصد مقدار توصیه شده کود شیمیایی به طور قابل ملاحظه‌ای درصد نیتروژن برگ را نسبت به شاهد (۱۰۰ درصد کود شیمیایی) افزایش داده است. علاوه براین، ترکیب ۵۰ درصد کود شیمیایی با کود زیستی تثبیت کننده ازت (NFB)[4] و یا مخلوط کودهای زیستی همین نتیجه

۱- Cyanidin 3-glucoside
2- Protocatechuic acid
3- Diethylnitrosamine
4- Nitrogen fixing bacteria

را حاصل نموده است. بالاترین درصد نیتروژن کاسبرگ از غلظت کامل کود شیمیایی به همراه ترکیب کود زیستی به‌دست آمد. بیشترین درصد فسفر از ترکیب غلظت کامل کود شیمیایی و کود زیستی تثبیت کننده ازت (NFB) حاصل شد. درصد فسفر کاسبرگ تحت تأثیر ترکیب غلظت کامل کود شیمیایی و کودهای زیستی متفاوت قرار نگرفت. حسن (Hassan, 2009) در بررسی کود شیمیایی NPK، کود زیستی ایسترنا[1] و تلقیح باکتریایی *آزوسپیریلیوم لیپوفرم*، *باسیلوس پلی‌میکسا* و *سودوموناس فلورسنس* و تلفیق آن‌ها بیان نمود که کاربرد مجزای تلقیح باکتریایی، کود زیستی و تلفیق آن‌ها با کود شیمیایی NPK، عملکرد کاسبرگ، محتوای آنتوسیانین کل، درصد نیتروژن، فسفر و پتاسیم کاسبرگ را در مقایسه با شاهد بهبود بخشید. این محقق بیان نمود که بهترین تیمار تلقیح باکتریایی به علاوه ۵۰ درصد غلظت توصیه شده کود شیمیایی NPK بود و با کاربرد این تیمار می‌توان با استفاده از نصف غلظت توصیه شده کود شیمیایی NPK به حداکثر کمیت و کیفیت چای ترش رسید. حاجی بلند و همکاران (Hajeeboland et al., 2004) گزارش کردند که به دنبال تلقیح گندم (*Triticum aestivum* L.) با *ازتوباکتر*، غلظت پتاسیم و نیتروژن در اندام‌های هوایی گیاه نسبت به گیاهان تلقیح نشده افزایش یافت. اسری و همکاران (Aseri et al., 2008) طی تحقیقی روی درخت انار (*Punica granatum* L.) گزارش کردند که تلقیح آن با تثبیت کننده‌های نیتروژن *(ازتوباکتر)* و قارچ‌های میکوریزا میزان جذب عناصر غذایی پرمصرف N، P و K را افزایش داد. راویا و همکاران (Rawia et al., 2006) نشان دادند که تلقیح با *آزوسپیریلیوم*، غلظت N، P و K را به طور معنی‌داری در برگ و گل آذین گل تاج خروس تاجی (*Celosia argentea* L.) افزایش داد. درزی و همکاران (Darzi et al., 2008) گزارش کردند که کاربرد کود فسفات زیستی و میکوریزا غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم را در دانه گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) افزایش داد. همچنین پوریوسف و همکاران (Pouryousef et al., 2007) نیز اظهار داشتند که کاربرد کود فسفاته بارور، غلظت فسفر را در بذر گیاه اسفرزه (*Plantago ovata* Forsk.) افزایش داد. داس و همکاران (Das et al., 2008) در مورد جذب عناصر غذایی N، P و K در گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) گزارش کردند که به دنبال کاربرد *آزوسپیریلیوم* (تثبیت‌کننده ازت) و باکتری‌های حل کننده فسفر، در ابتدا میزان N، P و K در گیاه افزایش یافت. سپس با افزایش رشد گیاه میزان این عناصر در تیمارهای ترکیبی نسبت به کاربرد آن‌ها به صورت خالص کمتر شد که این مسئله به توانایی این باکتری‌ها در تثبیت ازت اتمسفری و تبدیل عناصر کم‌مصرف و پرمصرف خاک مثل P، Zn، Cu، Fe و S از شکل غیرقابل استفاده به شکل قابل استفاده برای گیاه نسبت داده شد.

با توجه به لزوم مدیریت تغذیه گیاهی در راستای افزایش و پایداری تولید و اهمیت کودهای زیستی در کشاورزی پایدار و حفظ محیط زیست و ضرورت کاهش مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی و بهینه‌سازی مصرف آن‌ها در بوم نظام‌های زراعی کشور، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر کودهای زیستی در تلفیق با مقادیر مختلف کودهای شیمیایی بر غلظت عناصر نیتروژن و فسفر، ویژگی‌های بیوشیمیایی و وزن خشک کاسبرگ‌های چای ترش جهت یافتن تلفیقی مناسب از کودهای زیستی و شیمیایی به منظور کاهش مصرف و افزایش کارایی مصرف کودهای شیمیایی برای نیل به توسعه پایدار در بخش تولید گیاهان دارویی در کشور انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زابل با طول جغرافیایی بین ۶۰ درجه و ۱۵ دقیقه تا ۶۱ درجه و ۵۰ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۰ دقیقه تا ۳۱ درجه و ۲۸ دقیقه شمالی و با ارتفاع ۴۸۰ متر از سطح دریا آزاد، در سال‌های زراعی ۹۱-۱۳۹۰ و ۹۲-۱۳۹۱ اجرا شد. این منطقه دارای اقلیمی بیابانی با تابستان بسیار خشک و زمستان ملایم است. میانگین دمای سالانه ۲۱/۷، حداکثر مطلق دما ۴۹ و حداقل مطلق آن ۷- درجه سانتی‌گراد می‌باشد. میانگین سالانه رطوبت نسبی ۳۹/۲۰ درصد و میانگین بارندگی و تبخیر سالانه به ترتیب ۵۳ و ۵۰۰۰-۴۰۰۰ میلی‌متر است. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از آزمایش در عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری در جدول ۱ آمده است.

تیمارها شامل تغذیه گیاه با NPK (به ترتیب۲۲۰، ۱۳۰ و ۷۵ کیلوگرم در هکتار اوره، سوپرفسفات تریپل و سولفات پتاسیم)، کود زیستی بیوفسفات، بیوفسفات+۲۵ درصد NPK، بیوفسفات+۵۰ درصد NPK، بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK، کود زیستی نیتروکسین، نیتروکسین+۲۵ درصد NPK، نیتروکسین+۵۰ درصد NPK،

2- Easterna

نیتروکسین+۱۰۰ درصد NPK، بیوفسفات+نیتروکسین، بیوفسفات+نیتروکسین+۲۵ درصد NPK، بیوفسفات+ نیتروکسین+۵۰ درصد NPK، بیوفسفات+ نیتروکسین+۱۰۰ درصد NPK و عدم استفاده از کود (شاهد) بود.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از آزمایش در عمق ۰-۳۰ سانتی‌متر

Table 1- Physical and chemical properties of soil after testing in the depth of 0-30 cm

بافت Texture	درصد شن Sand (%)	درصد رس Clay (%)	درصد لای Silt (%)	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) EC ($dS.m^{-1}$)	درصد نیتروژن کل Total N (%)	فسفر کل (میلی‌گرم در کیلوگرم) Total P ($mg.kg^{-1}$)	پتاسیم کل (میلی‌گرم در کیلوگرم) Total K ($mg.kg^{-1}$)
رسی- لومی Clay-Loam	12	60	28	7.2	1.5	0.17	12	140

کودهای شیمیایی مورد استفاده شامل ۲۲۰ کیلوگرم اوره (۴۶ درصد ازت)، ۱۳۰ کیلوگرم سوپرفسفات تریپل (۲۳ درصد P_2O_5) و ۷۵ کیلوگرم سولفات پتاسیم (۴۸ درصد K_2O) بودند. کودهای سوپرفسفات تریپل، سولفات پتاسیم و نصف مقدار کود اوره قبل از کاشت در زمان انجام عملیات زراعی (دیسک زدن) و باقیمانده کود اوره به صورت سرک قبل از گلدهی استفاده شدند. میزان کود مورد استفاده بر اساس تجزیه خاک و نیاز گیاه تعیین شد. نیاز کودی این گیاه ۸۰ کیلوگرم در هکتار ازت، ۵۴-۳۶ کیلوگرم در هکتار P_2O_5 و ۷۵ تا ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار K_2O می‌باشد (Duke, 1983). کود زیستی نیتروکسین حاوی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن از جنس‌های *ازتوباکتر کروکوکوم*[۱]، *آزوسپریلوم لیپوفروم*[۲] و حل‌کننده فسفات از جنس *سودوموناس پوتیدا*[۳] با ۱۰[۸] سلول زنده در هر میلی‌لیتر و کود زیستی بیوفسفات شامل دو نوع باکتری حل‌کننده فسفر از گونه‌های *باسیلوس لنتوس*[۴] که با ترشح اسیدهای آلی و *سودوموناس پوتیدا* با ترشح اسید فسفاتاز سبب افزایش حلالیت فسفر نامحلول می‌شوند با ۱۰[۸] سلول زنده در هر گرم بود (Karami & Sepehri, 2013). کودهای زیستی نیتروکسین و بیوفسفات به میزان دو لیتر در هکتار به صورت بذرمال استفاده شد (Karami & Sepehri, 2013). عملیات بذرمال کردن کودها شامل قرار دادن بذور به مدت ۳۰ دقیقه در محلول باکتریایی بود و بلافاصله پس از خشک شدن بذرها در سایه و به دور از تابش مستقیم نور خورشید، اقدام به کاشت گردید. کودهای زیستی استفاده شده در این تحقیق توسط شرکت فن‌آوری زیستی مهر آسیا (MABCO[۵]) و تحت لیسانس و نظارت مستقیم مؤسسه خاک و آب کشور تولید شده بودند. در طول اجرای آزمایش، هیچ نوع علف‌کش، آفت‌کش و یا قارچ‌کشی مصرف نشد.

کاشت به صورت هیرم‌کاری صورت گرفت. بدین منظور ۴-۳ بذر در هر کپه با عمق سه سانتی‌متر به روش جوی و پشته در چهار ردیف پنج متری با فاصله ۳۰ سانتی‌متر روی ردیف و ۶۰ سانتی‌متر بین ردیف کشت شدند (Morton, 1987). عملیات تنک کردن در مرحله دو الی چهار برگی انجام شد. آبیاری مزرعه به روش جوی و پشته و با فاصله هر هفته یک بار انجام شد. مبارزه با علف‌های هرز به صورت دستی صورت گرفت. کلیه عملیات زراعی به طور معمول انجام شد. ویژگی‌های درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ، درصد فسفر برگ و کاسبرگ، درصد پروتئین برگ و کاسبرگ، محتوای آنتوسیانین کاسبرگ (میلی‌گرم درگرم وزن خشک)، محتوای ویتامین C کاسبرگ (میلی‌گرم درگرم وزن خشک)، درصد اسیدیته کاسبرگ و وزن خشک کاسبرگ (گرم در بوته) در انتهای مرحله رسیدگی در تاریخ ۲۰ مهرماه هر سال مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. برای نمونه‌برداری ۱۰ بوته پس از حذف اثرات حاشیه به طور تصادفی از هر کرت انتخاب شدند و نشانه‌گذاری شدند و در چین‌های متفاوت برداشت شدند. درصد نیتروژن برگ وکاسبرگ به روش میکروکجلدال (Bremner & Mulvany, 1982) تعیین گردید. درصد فسفر برگ و کاسبرگ به

۱ - *Azotobacter chorococum*

۲ - *Azospirillum lipoferoum*

۳ - *Pseudomonas putida*

۴ - *Bacillus lentus*

۵- Mehr Asia Biotechnology Company

روش جکسون (Jackson, 1967) تعیین شد. محتوای آنتوسیانین کاسبرگ به روش دو و فرانسیس (Du & Francis, 1973) و محتوای ویتامین C به روش جاکوبز (Jacobs, 1951) اندازه‌گیری شد. اسیدیته کاسبرگ با توجه به روش کمیست (Chemists, 1970) تعیین شد. داده‌های هر کرت پس از میانگین‌گیری (برای ۱۰ نمونه اندازه‌گیری شده) مورد تجزیه واریانس مرکب و مقایسه میانگین قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد و با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. همبستگی‌های ساده بین صفات و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل‌های آماری (تجزیه واریانس، مقایسه میانگین، تجزیه همبستگی و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی) با استفاده از نسخه ۹/۲ نرم افزار SAS[۱] (SAS Institute, 2013, Cary, NC.) صورت گرفت.

نتایج و بحث

درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ تحت تأثیر ($P\leq$۰/۰۱) تیمارهای مختلف کود شیمیایی، زیستی و تلفیق آن‌ها قرار گرفتند (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بالاترین درصد نیتروژن برگ (۱/۸۹۲ درصد) از تیمار بیوفسفات+ نیتروکسین+۱۰۰ درصد NPK به‌دست آمد که اختلاف آن با تیمار بیوفسفات+ نیتروکسین+۵۰ درصد NPK (۱/۵۶۶ درصد) معنی‌دار بود. بیشترین درصد نیتروژن کاسبرگ (۲/۴۱۰ درصد) در تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK حاصل گردید (جدول ۳). این تیمار نسبت به شاهد (عدم مصرف کود) به ترتیب ۲۲۲/۳۲ و ۱۰۶/۳۴ درصد، نسبت به تیمار NPK به ترتیب ۶۵/۱۰ و ۲۲/۵۸ درصد و نسبت به تیمار بیوفسفات+ نیتروکسین+۵۰ درصد NPK به ترتیب ۲۰/۸۲ و ۲/۱۹ درصد، صفات درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ را بهبود بخشید. ابوباقر و جهان (Abo-Baker & Gehan, 2011) نیز در چای ترش بیان نمودند که حداکثر مقدار نیتروژن کاسبرگ در استفاده از غلظت کامل کود شیمیایی NPK در تلفیق با کودهای زیستی تثبیت کننده ازت و فسفر به‌دست آمد. اختلاف این تیمار با سایر تیمارها به جز تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK (۲/۳۵۹ درصد) معنی‌دار بود (جدول ۳).

۱- Statistical Analysis System

جدول ۲- آنالیز واریانس (میانگین مربعات) غلظت عناصر N و P، ویژگی‌های بیوشیمیایی و وزن خشک کاسبرگ چای ترش تحت اثرات کودهای شیمیایی، زیستی و ترکیب آن‌ها (سال‌های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲)

Table 2-Variance analysis for (mean of squares) N and P concentration, biochemical traits and sepal dry weight of roselle under effects of chemical and bio-fertilizers and combination of them (2012 and 2013)

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	نیتروژن برگ N Leaf	نیتروژن کاسبرگ Sepal N	فسفر برگ Leaf P	فسفر کاسبرگ Sepal P	پروتئین برگ Leaf protein	پروتئین کاسبرگ Sepal protein	محتوای آنتوسیانین کاسبرگ Sepal anthocyanin content	محتوای ویتامین C کاسبرگ Sepal vitamin C content	اسیدیته کاسبرگ Sepal acidity	وزن خشک کاسبرگ Sepal dry weight
سال Year	1	0.1415**	0.1208**	0.0403**	0.0331**	6.0543**	5.0660**	85.407**	33.450**	0.0104**	49.824**
بلوک (سال) Block (Year)	4	0.0110	0.0112	0.0006	0.0047	0.4455	0.3059	7.016	2.377	0.0007	1.871
تیمار Treatment	13	1.0661**	0.9777**	0.0784**	0.3731**	41.3671**	37.7794**	1713.063**	91.765**	0.0514**	293.783**
سال×تیمار Year×Treatment	13	0.0050**	0.0077**	0.0009^{ns}	0.0021^{ns}	0.1776**	0.2558**	15.474**	0.384**	0.0006**	2.575^{ns}
خطا Error	52	0.0008	0.0010	0.0007	0.0014	0.0350	0.0633	4.408	0.146	0.0002	3.972
ضریب تغییرات (٪) C.V (%)		2.66	1.79	5.24	7.52	2.81	2.31	2.96	1.63	2.60	6.96

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و ns غیر معنی‌دار

* and**: are significant at 0.05 and 0.01 probability levels, and ns is not significant, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین غلظت عناصر N و P، ویژگی‌های بیوشیمیایی و وزن خشک کاسبرگ چای ترش تحت اثرات کودهای شیمیایی، زیستی و ترکیب آن‌ها (سال‌های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲)

Table 3- Mean comparisons of N and P concentration, biochemical traits and sepal dry weight of roselle under effects of chemical and bio-fertilizers and combination of them (2012 and 2013)

تیمار Treatment	درصد نیتروژن برگ Leaf N (%)	درصد نیتروژن کاسبرگ Sepal N (%)	درصد فسفر برگ Leaf P (%)	درصد فسفر کاسبرگ Sepal P (%)	درصد پروتئین برگ Leaf protein (%)	درصد پروتئین کاسبرگ Sepal protein (%)	محتوای آنتوسیانین کاسبرگ (میلی گرم/گرم وزن خشک) Sepal anthocyanin content (g^{-1} dry weight).(mg	محتوای ویتامین C کاسبرگ (میلی گرم/گرم وزن خشک) Sepal vitamin C content ($mg.g^{-1}$ dry weight)	درصد اسیدیته کاسبرگ Sepal acidity (%)	وزن خشک کاسبرگ (گرم/بوته) Sepal dry weight ($g.plant^{-1}$)
شاهد Control	0.587^{f*}	1.168^{g}	0.280^{i}	0.227^{i}	3.77^{f}	7.43^{h}	50.31^{i}	16.94^{j}	0.303^{f}	16.73^{k}
مقدار توصیه شده نیتروژن، فسفر و پتاسیم NPK	1.146^{d}	1.966^{b}	0.536^{d}	0.566^{b}	7.16^{d}	12.28^{bc}	83.11^{c}	24.89^{e}	0.443^{e}	24.52^{h}
بیوفسفات Biophosphate	0.639^{f}	1.275^{fg}	0.455^{g}	0.276^{def}	3.99^{f}	7.97^{gh}	52.70^{hi}	21.25^{g}	0.306^{f}	18.77^{j}
بیوفسفات+۲۵ درصد NPK Biophosphate+25% NPK	0.678^{f}	1.681^{cd}	0.494^{ef}	0.336^{cd}	4.24^{f}	10.51^{de}	56.28^{fgh}	24.15^{e}	0.426^{e}	21.95^{i}
بیوفسفات+۵۰ درصد NPK Biophosphate+50% NPK	1.173^{d}	1.756^{c}	0.514^{de}	0.356^{c}	7.33^{d}	10.98^{d}	66.36^{e}	26.13^{d}	0.483^{d}	26.53^{gh}
بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK Biophosphate+100% NPK	1.384^{c}	2.029^{b}	0.626^{b}	0.826^{a}	8.65^{c}	12.68^{bc}	86.13^{bc}	27.06^{b}	0.564^{ab}	29.09^{ef}
نیتروکسین Nitroxin	0.657^{f}	1.267^{fg}	0.365^{h}	0.281^{def}	4.11^{f}	7.92^{gh}	55.70^{gh}	26.41^{cd}	0.456^{ed}	24.67^{h}
نیتروکسین+۲۵ درصد NPK Nitroxin+25% NPK	0.621^{f}	1.325^{f}	0.441^{g}	0.355^{c}	3.88^{f}	8.28^{g}	61.19^{f}	18.22^{i}	0.543^{bc}	30.51^{de}
نیتروکسین+۵۰ درصد NPK Nitroxin+50% NPK	1.397^{c}	1.946^{b}	0.526^{de}	0.611^{b}	8.73^{c}	12.28^{bc}	77.81^{d}	19.69^{h}	0.526^{c}	34.02^{e}
نیتروکسین+۱۰۰ درصد NPK Nitroxin+100% NPK	1.426^{c}	2.058^{b}	0.576^{c}	0.820^{a}	8.91^{c}	12.86^{b}	90.52^{b}	27.00^{bc}	0.549^{bc}	36.52^{b}
نیتروکسین+ بیوفسفات Nitroxin+ Biophosphate	0.839^{e}	1.539^{e}	0.388^{h}	0.246^{ef}	5.25^{e}	9.62^{f}	58.84^{fg}	18.37^{h}	0.523^{c}	28.33^{fg}
نیتروکسین+ بیوفسفات+۲۵ درصد NPK Nitroxin+ Biophosphate+25% NPK	0.866^{e}	1.560^{de}	0.475^{gf}	0.301^{cde}	5.41^{e}	9.93^{ef}	60.71^{fg}	23.18^{f}	0.543^{bc}	31.90^{d}
نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK Nitroxin+ Biophosphate+50% NPK	1.566^{b}	2.359^{a}	0.671^{a}	0.833^{a}	9.78^{b}	14.75^{a}	99.62^{a}	28.32^{a}	0.685^{a}	38.92^{a}
نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK Nitroxin+ Biophosphate+100% NPK	1.892^{a}	2.410^{a}	0.678^{a}	0.856^{a}	11.82^{a}	15.06^{a}	101.64^{a}	28.40^{a}	0.692^{a}	40.41^{a}

*در هرستون، میانگین‌های دارای حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون دانکن می‌باشد.

*In the each column means with similar letters indicate not significant at 0.05 probability levels in Duncan test.

این نتیجه در توافق با یافته‌های ابوباقر و جهان (Abo-Baker & Gehan, 2011) در چای ترش بود. کمترین درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ (به ترتیب ۰/۵۸۷ و ۱/۱۶۸ درصد) از تیمار شاهد (عدم استفاده از کود) حاصل شد.

تیمار NPK نسبت به شاهد (عدم استفاده از کود) موجب بهبود معنی‌دار درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ (به ترتیب با ۹۶/۲۳ و ۶۸/۳۲ درصد) شد. اختلاف تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK با شاهد (عدم استفاده از کود) و NPK برای درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ معنی‌دار بود (جدول ۳). این تیمار نسبت به شاهد (عدم مصرف کود) به ترتیب ۱۶۶/۷۸ و ۱۰۱/۹۷ درصد و نسبت به تیمار NPK به ترتیب ۳۶/۶۵ و ۱۹/۹۹ درصد، درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ را بهبود بخشید. بهبود معنی‌دار تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK نسبت به تیمار NPK، حاکی از آن بود که استفاده از کودهای زیستی در تلفیق با ۵۰ یا ۱۰۰ درصد مقدار توصیه شده NPK موجب بهبود صفات درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ شده است. نتایج مشابهی در چای ترش توسط ابوباقر و جهان (Abo-Baker & Gehan, 2011) و حسن (Hassan, 2009) گزارش شده است. حسن (Hassan, 2009) در چای ترش بیان نمود که کاربرد مجزای تلقیح باکتریایی، کود زیستی و تلفیق آن‌ها با کود شیمیایی NPK، درصد نیتروژن کاسبرگ را به طور معنی‌دار افزایش داد. این محقق بیان نمود که بهترین تیمار تلقیح باکتریایی به علاوه ۵۰ درصد غلظت توصیه شده کود شیمیایی NPK بود. بهبود ویژگی‌های درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ در تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK نسبت به تیمار NPK حاکی از تأثیر مثبت کودهای زیستی نیتروکسین و بیوفسفات بر صفات فوق بود.

جذب عناصر غذایی توسط گیاه تابع دو عامل، رشد سیستم ریشه و فراهمی عناصر غذایی در خاک به خصوص در ریزوسفر می‌باشد (Russel, 1977). افزودن کودهای زیستی به خاک، نه تنها فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را افزایش داده است، بلکه با بهبود شرایط فیزیکی و فرایندهای حیاتی خاک، ضمن ایجاد یک بستر مناسب برای رشد ریشه، موجبات افزایش دسترسی به عناصر معدنی را فراهم آورده است (Das et al., 2008). کود زیستی نیتروکسین حاوی مؤثرترین باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (*ازتوباکتر* و *آزوسپریلیوم*) می‌باشد. باکتری‌های تثبیت‌کننده غیرهمزیست *آزوسپیریلیوم* علاوه بر قابلیت تثبیت نیتروژن و متعادل کردن جذب عناصر غذایی اصلی پرمصرف و ریزمغذی مورد نیاز گیاه، با تولید مواد محرک رشد (ایندول استیک اسید، جیبرلین و سیتوکنین و غیره) و ویتامین‌های گروه B، سبب بهبود رشد ریشه (افزایش پتانسیل ریشه‌زایی، طویل شدن ریشه‌ها و افزایش ریشه‌های جانبی) و متعاقب آن افزایش جذب آب و عناصر غذایی شده است (Rodriguez & Fraga, 1999 ; Revilas et al., 2000 ; Tilak et al., 2005). عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+بیوفسفات+۵۰ درصد NPK برای درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ گیاه چای ترش حاکی از آن بودکه استفاده از ۵۰ درصد مقدار توصیه شده کودهای شیمیایی به همراه کودهای زیستی موجب حداکثر کارایی جذب عناصر در چای ترش می‌شود. این نتایج در توافق با یافته‌های شالان و همکاران (Shalan et al., 2001) و حسن (Hassan, 2009) در چای ترش بود. به عبارت دیگر، کودهای زیستی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را تأمین نموده‌اند و افزودن بیشتر کود شیمیایی نه تنها موجب افزایش معنی‌دار این صفات نمی‌شود، بلکه موجب شستشو و هدر رفت آن و آلودگی محیط زیست می‌گردد.

درصد فسفر برگ و کاسبرگ

نتایج تجزیه مرکب حاکی از آن بود که تیمارهای مختلف کود شیمیایی، زیستی و تلفیق آن‌ها، اثر معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۱$) بر درصد فسفر برگ و کاسبرگ داشتند (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین درصد فسفر برگ و کاسبرگ (به ترتیب ۰/۶۷۸ و ۰/۸۵۶ درصد) از گیاهان تحت تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK به‌دست آمد که با گیاهان تحت تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK (به ترتیب ۰/۶۷۱ و ۰/۸۳۳ درصد) اختلاف معنی‌دار نداشتند. اختلاف این تیمار با سایر تیمارها معنی‌دار بود (جدول ۳). این تیمار نسبت به شاهد (عدم استفاده از کود) و تیمار NPK بهبود معنی‌داری را برای صفات درصد فسفر برگ (به ترتیب ۱۴۲/۱۴ و ۲۶/۴۹ درصد) و کاسبرگ (به ترتیب ۲۲۷/۰۹ و ۲۶/۴۹ درصد) نشان داد. بهبود این تیمار نسبت به تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK برای فسفر برگ (۱/۰۴ درصد) و

کاسبرگ (۲/۷۶ درصد) معنی‌دار نبود. ابوباقر و جهان (Abo-Baker & Gehan, 2011) نیز در چای ترش بیان نمودند که حداکثر مقدار فسفر برگ و کاسبرگ در استفاده از غلظت کامل کود شیمیایی در تلفیق با کودهای زیستی تثبیت کننده ازت و فسفر به‌دست آمد و بین دو تیمار تلفیق غلظت کامل کود شیمیایی با کودهای زیستی تثبیت کننده ازت و فسفر و تلفیق۵۰ درصد غلظت کود شیمیایی با کودهای زیستی تثبیت کننده ازت و فسفر برای درصد فسفر برگ اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. حسن (Hassan, 2009) در چای ترش بیان نمود که کاربرد مجزای تلقیح باکتریایی، کود زیستی و تلفیق آن‌ها با کود شیمیایی NPK، درصد فسفر کاسبرگ را به طور معنی‌داری افزایش داد. این محقق بیان نمود که بهترین تیمار تلقیح باکتریایی+ ۵۰ درصد غلظت توصیه شده کود شیمیایی NPK بود. کمترین درصد فسفر برگ و کاسبرگ به ترتیب با مقادیر ۰/۲۸۰ و ۰/۲۲۷ درصد برای گیاهان تحت تیمار عدم استفاده از کود (شاهد) حاصل شد که اختلاف آن با تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK، نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK و NPK معنی‌دار بود (جدول ۳). تیمار NPK نسبت به شاهد (عدم استفاده از کود) به ترتیب ۹۱/۴۳ و ۱۴۹/۳۴ درصد، موجب بهبود درصد فسفر برگ و کاسبرگ شد. تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK نسبت به شاهد (عدم استفاده از کود) بهبود معنی‌داری را برای صفات درصد فسفر برگ (۱۳۹/۶۴ درصد) و کاسبرگ (۲۶۶/۹۶ درصد) نشان داد. اختلاف تیمار NPK با این تیمار نیز برای درصد فسفر برگ و کاسبرگ معنی‌دار بود (جدول ۳) و نسبت به تیمار NPK موجب بهبود درصد فسفر برگ (۲۵/۱۹ درصد) و کاسبرگ (۴۷/۱۷ درصد) شد. بهبود ویژگی‌های درصد فسفر برگ و کاسبرگ در تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK نسبت به تیمار NPK حاکی از تأثیر مثبت کودهای زیستی نیتروکسین و بیوفسفات بر این صفات بود. نتایج گزارش شده توسط میتال و همکاران (Mittal et al., 2008) مبنی بر تأثیر مثبت کاربرد توأم کودهای زیستی و آلی فسفر بر غلظت فسفر اندام‌های گیاه نخود (*Cicer arietimum* L.) با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مطابقت داشت. این محققین بیان نمودند که کاربرد توأم کودهای زیستی و آلی فسفر نسبت به کود فسفر موجب بهبود معنی‌دار فسفر اندام‌های گیاه نخود شد.

جذب عناصر غذایی توسط گیاه تابع دو عامل، رشد سیستم ریشه و فراهمی عناصر غذایی در خاک به خصوص در ریزوسفر می‌باشد (Russel, 1977). کودهای زیستی از طریق ترشح اسیدهای آلی و معدنی باعث افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی در ریزوسفر می‌شود. همچنین ریزجانداران موجود در کودهای زیستی با ترشح پیش‌ماده هورمون‌های تنظیم کننده رشد گیاه و کنترل پاتوژن‌های گیاهی باعث افزایش رشد ریشه گیاهان می‌شوند (Khalid et al., 2004). کود زیستی بیوفسفات حاوی دو نوع باکتری حل کننده فسفات (*سودوموناس پوتیدا* و *باسیلوس لنتوس*) می‌باشد که جنس *باسیلوس* با ترشح اسیدهای آلی و غیر آلی ابتدا باعث کاهش pH به صورت موضعی شده و سپس با تجزیه پیوند موجود در ساختار ترکیبات فسفاته معدنی که به صورت نامحلول در خاک درآمده‌اند، آن‌ها را به شکل محلول قابل جذب توسط ریشه گیاه در می‌آورد (Singh & Kapoor, 1999). گونه‌های مختلف جنس *سودوموناس* موجود در این کودها، با ترشح آنزیم‌های فسفاتاز باعث تجزیه ترکیبات فسفاته آلی و در نتیجه معدنی شدن و قابل جذب شدن آن‌ها می‌شود. علاوه بر این، این باکتری‌ها با کنترل قارچ‌های بیماریزا (Pal et al., 2001) و از طریق سازوکارهای مختلفی از جمله تولید سیدروفورها، سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید هورمون‌های گیاهی و ساخت آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن در گیاه را تنظیم می‌کنند (کاهش اتیلن)، سبب رشد ریشه و در نتیجه جذب عناصر غذایی می‌شوند (Abdul-Jaleel et al., 2007). در خصوص تأثیر میکروارگانیزم‌های حل کننده فسفات بر روی جذب عناصر غذایی راتی و همکاران (Ratti et al., 2001) در پژوهشی بر روی گیاه دارویی علف لیمو (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.)، مشاهده نمودند که مصرف یک گونه باکتری حل‌کننده فسفات همراه با تری‌کلسیم فسفات، موجب بهبود بارز غلظت فسفر ساقه نسبت به شاهد گردید. در تحقیقی دیگر که توسط ساندرا و همکاران (Sundara et al., 2002) در گیاه نیشکر (*Sacharum officinarum* L.) انجام شد، مشاهده گردید که کاربرد یک گونه از باکتری‌های حل‌کننده فسفات به نام *Bacillus megatherium* همراه با سنگ فسفات، غلظت فسفر در غلاف برگ و عملکرد ساقه نیشکر را در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری افزایش داد. همچنین تورو و همکاران (Toro et al., 1997) نیز نشان دادند که کاربرد باکتری‌های حل کننده فسفات، موجب افزایش غلظت نیتروژن و فسفر اندام رویشی نسبت به تیمار عدم مصرف گردید. این محققین بیان نمودند که کودهای زیستی با ترشح اسیدهای آلی و معدنی موجب

کاهش pH محیط ریشه و افزایش قابلیت جذب فسفر و نیتروژن در ریزوسفر و در نتیجه افزایش غلظت آن‌ها در اندام‌های رویشی می‌شوند. عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK برای درصد فسفر برگ و کاسبرگ چای ترش مبین آن بود که استفاده از ۵۰ درصد مقدار توصیه شده کودهای شیمیایی به همراه کودهای زیستی موجب بهبود جذب فسفر در چای ترش می‌شود. این نتایج در توافق با یافته‌های شالان و همکاران (Shalan et al., 2001) و حسن (Hassan, 2009) در چای ترش بود. به عبارت دیگر، کودهای زیستی فسفر مورد نیاز گیاه را تأمین نموده و افزودن بیشتر کود شیمیایی موجب تثبیت و هدر رفت آن و آلودگی محیط زیست می‌گردد.

درصد پروتئین برگ و کاسبرگ

در تجزیه مرکب دو سال زراعی اثر تیمارهای مختلف کود شیمیایی، زیستی و تلفیق آن‌ها بر درصد پروتئین برگ و کاسبرگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن بود که بیشترین درصد پروتئین برگ (۱۱/۸۲ درصد) در تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK حاصل شد که اختلاف آن با تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK با مقدار ۹/۷۸ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK حداکثر درصد پروتئین کاسبرگ (۱۵/۰۶ درصد) را نیز دارا بود ولی اختلاف آن با تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK (۱۴/۷۵ درصد) معنی‌دار نبود (جدول ۳). اختلاف تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK با تیمارهای شاهد (عدم استفاده از کود) و NPK برای درصد پروتئین برگ و کاسبرگ نیز معنی‌دار بود (جدول ۳). این تیمار نسبت به تیمار عدم مصرف کود (شاهد) به ترتیب ۲۱۳/۵۳ و ۱۰۲/۶۹ درصد، نسبت به تیمار NPK به ترتیب ۶۵/۰۸ و ۲۲/۶۴ درصد و نسبت به تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK به ترتیب ۲۰/۸۶ و ۲/۱۰ درصد، پروتئین برگ و کاسبرگ را بهبود بخشید. در تیمار عدم استفاده از کود (شاهد) کمترین درصد پروتئین برگ (۳/۷۷ درصد) و کاسبرگ (۷/۴۳ درصد) به‌دست آمد (جدول ۳). تیمار NPK نسبت به تیمار شاهد موجب بهبود معنی‌دار درصد پروتئین برگ (۸۹/۹۲ درصد) و کاسبرگ (۶۵/۲۸ درصد) شد. اختلاف تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK با تیمارهای شاهد (عدم استفاده از کود) و NPK برای درصد پروتئین برگ و کاسبرگ نیز معنی‌دار بود (جدول ۳). این تیمار نسبت به تیمار عدم مصرف کود (شاهد) به ترتیب ۱۰۲/۶۹ و ۹۸/۵۲ درصد و نسبت به تیمار NPK به ترتیب ۲۲/۶۴ و ۲۰/۱۱ درصد، موجب بهبود درصد پروتئین برگ و کاسبرگ شد. بهبود ویژگی‌های درصد پروتئین برگ و کاسبرگ در تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK نسبت به تیمار NPK مبین تأثیر مثبت کودهای زیستی نیتروکسین و بیوفسفات بر این صفات بود. این موضوع با نتایج رام رائو و همکاران (Ram Rao et al., 2007) در توت (*Morus alba* L.) مطابقت داشت. کاربرد کودهای زیستی با فراهمی نیتروژن مقدار تقسیط نیتروژن از سایر قسمت‌ها به برگ و کاسبرگ را در مقایسه با هیدرات‌های‌کربن افزایش داده و موجب افزایش غلظت نیتروژن برگ و کاسبرگ و درصد پروتئین آن‌ها شده است. دلیل بالا بودن پروتئین برگ و کاسبرگ با کاربرد کودهای زیستی را می‌توان به جذب سریع‌تر نیتروژن و افزایش غلظت نیتروژن در اندام‌های هوایی و در نتیجه انتقال بیشتر به برگ و کاسبرگ ذکر کرد (Marschner, 1995). همچنین کاربرد کودهای زیستی موجب تثبیت نیتروژن می‌گردد که این عنصر ماده اولیه تشکیل دهنده پروتئین می‌باشد. عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK برای درصد پروتئین کاسبرگ چای ترش نشان داد که استفاده از ۵۰ درصد مقدار توصیه شده کودهای شیمیایی به همراه کودهای زیستی موجب بهبود جذب نیتروژن و تولید پروتئین در کاسبرگ‌های چای ترش می‌شود. به عبارت دیگر کودهای زیستی نیتروژن موردنیاز گیاه برای ساخت پروتئین در کاسبرگ را تأمین نموده و افزودن بیشتر کود شیمیایی موجب تثبیت و هدر رفت آن و آلودگی محیط زیست می‌گردد.

محتوای آنتوسیانین کاسبرگ

نتایج تجزیه مرکب آزمایش حاکی از تأثیر معنی‌دار ($P\leq۰/۰۱$) تیمارهای مختلف کود شیمیایی، زیستی و تلفیق آن‌ها بر محتوای آنتوسیانین کاسبرگ بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین محتوای آنتوسیانین کاسبرگ (۱۰۱/۶۴ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) از تیمار بیوفسفات+ نیتروکسین+۱۰۰ درصد NPK به-

دست آمد و اختلاف معنی‌دار با تیمار بیوفسفات+ نیتروکسین+۵۰ درصد NPK (۹۹/۶۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) نداشت (جدول ۳). این تیمار نسبت به شاهد (عدم مصرف کود) ۱۰۲/۰۳ درصد، نسبت به تیمار NPK، ۲۲/۳۰ درصد و نسبت به تیمار بیوفسفات+ نیتروکسین+۵۰ درصد NPK، ۲/۰۳ درصد، محتوای آنتوسیانین کاسبرگ را بهبود بخشید. کمترین محتوای آنتوسیانین کاسبرگ (۵۰/۳۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) از تیمار شاهد (عدم استفاده از کود) حاصل شد. تیمار NPK نسبت تیمار شاهد (عدم استفاده از کود) موجب بهبود معنی‌دار (۶۵/۲۰ درصد) محتوای آنتوسیانین کاسبرگ شد. اختلاف تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK با تیمار شاهد (عدم استفاده از کود) و NPK برای محتوای آنتوسیانین کاسبرگ معنی‌دار بود (جدول ۳). این تیمار نسبت به تیمار شاهد (عدم مصرف کود) ۹۸/۰۱ درصد و نسبت به تیمار NPK، ۱۹/۸۷ درصد محتوای آنتوسیانین کاسبرگ را بهبود بخشید. بهبود ویژگی محتوای آنتوسیانین کاسبرگ در تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK نسبت به تیمار NPK حاکی از تأثیر مثبت کودهای زیستی نیتروکسین و بیوفسفات بر صفت فوق بود. این مسئله در تطابق با یافته‌های حسن (Hassan, 2009) در چای ترش بود. این محقق بیان نمود که استفاده از کود زیستی یا تلقیح باکتریایی به تنهایی یا در تلفیق با کود شیمیایی محتوای آنتوسیانین کاسبرگ را به‌طور معنی‌دار بهبود بخشید. این محقق بیان نمود که باکتری‌های حل کننده فسفات و تثبیت کننده نیتروژن موجود در کود زیستی از طریق جذب کارآمد فسفر و نیتروژن موجب افزایش محتوای آنتوسیانین کاسبرگ چای ترش شده‌اند.

ساخته شدن آنتوسیانین و تجمع آن دربافت‌های گیاهی تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله میزان هیدرات‌های کربن موجود دربافت‌ها قرار می‌گیرد (Taiz & Zeiger, 2006). به عبارت دیگر توسعه رنگدانه‌های سلول و ساخت آنتوسیانین با بالا رفتن میزان کربوهیدرات‌ها نسبت مستقیم داشته و هر عاملی که بتواند روی افزایش، جذب یا ساخته شدن قندها مؤثر باشد، باعث افزایش میزان آنتوسیانین کل در گیاه می‌شود (Vitrac et al., 2000). به دلیل اینکه آنتوسیانین جزو ترکیبات فلاونوئیدی می‌باشد، تجمع مواد فنلی حساس به تنش عناصر غذایی بوده و میزان کل فنل با کاهش میزان نیتروژن محیط افزایش می‌یابد. بنابراین، مقادیر اضافی نیتروژن معمولاً رشد را تحریک نموده و از تولید فنل جلوگیری می‌کند (Omidbaigi & Nobakht, 2001)، ولی از آن‌جایی که واحدهای سازنده فلاونوئیدها نیاز مبرم به ATP و NADPH دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های فوق ضروری می‌باشد، بنابراین باکتری‌های حل کننده فسفات و تثبیت کننده نیتروژن از طریق جذب کارآمد فسفر و نیتروژن توسط ریشه چای ترش، موجب افزایش محتوای آنتوسیانین این گیاه دارویی شده‌اند (Hassan, 2009). علاوه بر این ریشه تلقیح شده با کودهای زیستی توانایی ساخت و ترشح مواد بیولوژیک فعال مانند ویتامین‌های گروه B، اسید نیکوتنیک، اسید پنتوتنیک، بیوتین، اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و غیره را دارند که این مواد موجب افزایش محتوای ماده آلی و هیدرات‌های کربن گیاه و در نتیجه افزایش آنتوسیانین می‌شوند (Rodriguez & Fraga, 1999). اسیدجیبرلیک یک هورمون گیاهی است که تجزیه ترکیبات ذخیره‌ای گیاه توسط آن تسهیل می‌شود. به گونه‌ای که این هورمون موجب تحریک آنزیم آلفا آمیلاز و دیگر آنزیم‌های هیدرولیزی می‌گردد که خود عامل هیدرولیز کننده برای منبع ذخیره‌ای می‌باشند. در نتیجه در افزایش مواد هیدروکربنی گیاه مؤثر بوده و میزان آنتوسیانین را افزایش می‌دهند (Liang et al., 1996). از آن‌جا که کودهای زیستی به جذب منیزیم و کلسیم در گیاه کمک می‌کنند، می‌توانند سنتز آنتوسیانین را افزایش دهند (Vitrac et al., 2000). عناصر معدنی مانند کلسیم باعث بالا رفتن میزان هیدرات‌های کربن شده و موجب توسعه رنگدانه‌های سلولی و سنتز آنتوسیانین می‌شود (Vitrac et al., 2000). لی و همکاران (Li et al., 2002) بیان نمودند که کلسیم با تأثیر مثبت روی آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز[۱] (PAL) باعث افزایش سنتز آنتوسیانین می‌شود. استفاده از کودهای زیستی در تلفیق با ۵۰ یا ۱۰۰ درصد مقدار توصیه شده NPK موجب بهبود درصد آنتوسیانین کاسبرگ شد. این نتیجه در توافق با یافته‌های حسن (Hassan, 2009) و عباس و علی (Abbas & Ali, 2011) در چای ترش بود. حسن (Hassan, 2009) در چای ترش بیان نمود که بهترین تیمار تلقیح باکتریایی به علاوه ۵۰ درصد غلظت توصیه شده کود شیمیایی NPK بود. این محقق بیان نمود که باکتری‌های حل کننده فسفات و تثبیت کننده نیتروژن موجود در کود زیستی از طریق جذب کارآمد فسفر و نیتروژن موجب افزایش محتوای آنتوسیانین کاسبرگ چای ترش شده‌اند. خلیل و یوسف (Khalil & Yousef, 2014) در چای

۱- Phenylalanine ammonia lyase

ترش بیان نمودند که بیشترین مقدار آنتوسیانین از کاربرد ۱۰۰ درصد NPK و اسیدهیومیک در مقایسه با تیمارهای دیگر به‌دست آمد. این محققین بیان نمودند که در حضور اسید هیومیک و کاهش pH در محیط ریزوسفر، نیتروژن و فسفر بیشتری در اختیار گیاه قرار می‌گیرد و این مسأله موجب افزایش محتوای آنتوسیانین کاسبرگ می‌شود. عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+بیوفسفات+۵۰ درصد NPK برای این صفت حاکی از آن بود که استفاده از ۵۰ درصد مقدار توصیه شده کودهای شیمیایی به همراه کودهای زیستی سبب بروز حداکثر پتانسیل آنتوسیانین در کاسبرگ چای ترش می‌شود. این نتیجه در توافق با یافته‌های شالان و همکاران (Shalan et al., 2001) و حسن (Hassan, 2009) در چای ترش بود. به عبارت دیگر، کودهای زیستی کاستی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه برای حصول حداکثر پتانسیل این صفت را تأمین نموده‌اند و افزودن بیشتر کود شیمیایی نه تنها موجب افزایش معنی‌دار این صفت نمی‌شود، بلکه موجب شستشو و هدر رفت آن و آلودگی محیط زیست می‌گردد.

محتوای ویتامین C و درصد اسیدیته کاسبرگ

در تجزیه مرکب دو سال زراعی اثر تیمارهای مختلف کود شیمیایی، زیستی و تلفیق آن‌ها بر محتوای ویتامین C و درصد اسیدیته کاسبرگ چای ترش معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین محتوای ویتامین C و درصد اسیدیته کاسبرگ (۲۸/۴۰ میلی‌گرم در گرم وزن خشک و۰/۶۹۲ درصد) از گیاهان تحت تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK به‌دست آمد که با گیاهان تحت تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK (۲۸/۳۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک و ۰/۶۸۵ درصد) اختلاف معنی‌دار نداشتند. در تیمار عدم استفاده از کود (شاهد) کمترین محتوای ویتامین C کاسبرگ با مقدار ۱۶/۹۴ میلی-گرم در گرم وزن خشک و درصد اسیدیته کاسبرگ (۰/۳۰۳ درصد) به‌دست آمد و اختلاف آن با تیمار NPK معنی‌دار بود (جدول ۳). تیمار NPK نسبت به شاهد (عدم استفاده از کود) به ترتیب ۴۶/۹۳ و ۴۶/۲۰ درصد، محتوای ویتامین C و درصد اسیدیته کاسبرگ چای ترش را بهبود بخشید. تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK نسبت به شاهد (عدم استفاده از کود) بهبود معنی‌داری را برای محتوای ویتامین C (به‌ترتیب ۶۷/۶۵ و ۶۷/۱۸ درصد) و درصد اسیدیته کاسبرگ (به ترتیب ۱۲۸/۳۸ و ۱۲۶/۰۷ درصد) نشان دادند. اختلاف تیمار NPK با این تیمارها برای محتوای ویتامین C کاسبرگ نیز معنی‌دار بود (جدول ۳) و نسبت به تیمار NPK موجب بهبود محتوای ویتامین C (به ترتیب۱۴/۱۰ و ۱۳/۷۸ درصد) و درصد اسیدیته (به ترتیب۵۶/۲۱ و ۵۴/۶۳ درصد) کاسبرگ شد. بهبود ویژگی‌های محتوای ویتامین C و درصد اسیدیته کاسبرگ در تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK نسبت به تیمار NPK حاکی از تأثیر مثبت کودهای زیستی نیتروکسین و بیوفسفات بر صفات فوق بود. این مسأله در تطابق با یافته‌های ابوباقر و جهان (Abo-Baker & Gehan, 2011) و حسن (Hassan, 2009) در چای ترش بود. این محققین بیان نمودند که استفاده از کود زیستی به تنهایی یا در تلفیق با کود شیمیایی محتوای ویتامین C و درصد اسیدیته کاسبرگ را به‌طور معنی‌دار بهبود بخشید.

تولید ویتامین C بستگی به وجود قند در میوه دارد چرا که گیاه اسید اسکوربیک را از قندهای هگزوز مثل D-گلوکز و D-گالاکتوز می‌سازد (Fortaleza et al., 2005). فریبر و همکاران (Freire et al., 2010) و دیاس و همکاران (Dias et al., 2011) بیان نمودند که اسیدهای آلی و قندهای موجود در منابع آلی قابل دسترس برای گیاه سطوح ویتامین C را در میوه اضافه می‌نمایند. علاوه بر این از آن‌جایی که کودهای زیستی دارای اسیدهای آلی و قند می‌باشند، این منابع ممکن است به میوه انتقال یابند و موجب ساخت ویتامین C گردند (Nardi et al., 2002). از طرف دیگر، برای حصول حداکثر ویتامین C کاسبرگ چای ترش، باید بین عناصر غذایی تعادل برقرار گردد تا گیاه با نیل به حداکثر رشد رویشی به حداکثر کیفیت تغذیه‌ای نیز نایل گردد. این تعادل زمانی برقرار می‌شود که بین عناصر لازم برای رشد رویشی (نیتروژن) با عناصر لازم برای حصول حداکثر کیفیت (فسفر و پتاسیم) تعادل برقرار باشد. این باکتری‌ها با ایجاد تعادل بین عناصر، موجب حداکثر رشد رویشی و کیفیت می‌شوند. ناگی (Nagy, 1980) بیان نمود که سطوح بالای نیتروژن موجب کاهش محتوای ویتامین C آب پرتقال (*Citrus sinens*is L.)، لیمو (*Citrus limonum* Risso.)، گریپ فروت (*Citrus paradisi* Macfadyen) و ماندارین (*Citrus reticulate* L.) شد، در صورتی که افزایش میزان پتاسیم موجب افزایش محتوای اسید اسکوربیک این میوه‌ها گردید. بر اساس این گزارش، کود نیتروژن، به خصوص در نرخ

بالا، به نظر می‌رسد که موجب کاهش غلظت ویتامین C در بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات می‌گردد، ولی در کلم پیچ (*Brassica oleracea* L. c.v. capitata) غلظت ویتامین C رابطه مستقیمی با نیتروژن دارد (Muller & Hippe, 1987). این اختلاف ممکن است به علت تفاوت در عادت رشد و شرایط رو به رشد محصولات گیاهی مختلف باشد. با این حال، به نظر می‌رسد که کودهای زیستی با ایجاد تعادل بین جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم موجب افزایش ویتامین C و اسیدیته کاسبرگ چای ترش گردند. وجود فسفر کافی در محیط ریشه سبب توسعه سریع ریشه و استفاده بهتر گیاه از آب و دیگر مواد غذایی ضروری می‌شود و در نتیجه میزان ویتامین C و اسیدهای خوراکی موجود در میوه بهبود یافته و اسیدیته میوه بالا می‌رود. بر اساس یافته‌های باجل و همکاران (Bagel et al., 1989) کودهای زیستی با افزایش جذب فسفر در فعال ساختن آنزیم‌هایی که برای سنتز ویتامین C و سایر اسیدهای خوراکی لازم و ضروری می‌باشند، نقش اساسی دارند و با افزایش فسفر جذب شده، فعالیت این آنزیم‌ها نیز بیشتر شده و در نتیجه غلظت ویتامین C در میوه بالا می‌رود. علاوه بر این استفاده گیاه از ذخایر عناصر کم مصرف خاک در جوار کود زیستی در افزایش ویتامین C و اسیدهای خوراکی میوه نقش دارد. شاید بتوان گفت که کودهای زیستی از طریق افزایش سطح تماس ریشه گیاه با خاک و توسعه ریشه، جذب مواد غذایی مورد نیاز و آب را بالا برده و در نتیجه باعث افزایش کیفیت میوه می‌شوند. در این آزمایش نیز کود زیستی با افزایش فسفر قابل جذب برای گیاه باعث افزایش غلظت ویتامین C و اسیدهای خوراکی در کاسبرگ شده است. بنابراین درصد اسیدیته نیز بالا رفته است. این باکتری‌ها با ساخت انواع ویتامین‌ها و اسیدهای‌آمینه باعث افزایش رشد و کیفیت محصول می‌شوند. علاوه بر این کودهای زیستی با تولید تنظیم کننده‌های رشد، به طور غیر مستقیم بر کیفیت تغذیه‌ای میوه‌ها و سبزیجات تأثیر می‌گذارند. استفاده از جیبرلین محتوای ویتامین C چای سبز (*Camellia sinensis* L.) را ۱۸ درصد افزوده است (Liang et al., 1996). عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+بیوفسفات+۵۰ درصد NPK برای محتوای ویتامین C و درصد اسیدیته کاسبرگ چای ترش حاکی از آن بود که استفاده از ۵۰ درصد مقدار توصیه شده کودهای شیمیایی به همراه کودهای زیستی موجب بروز حداکثر پتانسیل این صفات می‌شود. این نتایج در توافق با یافته‌های شالان و همکاران (Shalan et al., 2001) و حسن (Hassan, 2009) در چای ترش بود. به عبارت دیگر، کودهای زیستی حداکثر کیفیت مورد نیاز کاسبرگ‌های چای ترش را تأمین نموده‌اند و افزودن بیشتر کود شیمیایی نه تنها موجب افزایش کیفیت نمی‌شود، بلکه موجب شستشو و هدر رفت آن و آلودگی محیط زیست می‌گردد.

وزن خشک کاسبرگ

اختلاف وزن خشک کاسبرگ در تجزیه مرکب دو سال زراعی در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر تیمارهای مختلف کود شیمیایی، زیستی و تلفیق آن‌ها قرار گرفت (جدول ۲). در مقایسه میانگین تیمارها بیشترین وزن خشک کاسبرگ (۴۰/۴۱ گرم در بوته) از تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK به‌دست آمد که اختلاف آن با تیمار نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK (۳۸/۹۲ گرم در بوته) معنی‌دار نبود (جدول۳). ابوباقر و جهان (Abo-Baker & Gehan, 2011) نیز در چای ترش بیان نمودند که حداکثر وزن خشک کاسبرگ در استفاده از غلظت کامل کود شیمیایی در تلفیق با کودهای زیستی تثبیت کننده ازت و فسفر به‌دست آمد و بین دو تیمار تلفیق غلظت کامل کود شیمیایی با کودهای زیستی تثبیت کننده ازت و فسفر و تیمار تلفیق۵۰ درصد غلظت کود شیمیایی با کودهای زیستی تثبیت کننده ازت و فسفر برای وزن خشک کاسبرگ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. حسن (Hassan, 2009) در چای ترش بیان نمود که کاربرد مجزای تلقیح باکتریایی، کود زیستی و تلفیق آن‌ها با کود شیمیایی NPK، عملکرد کاسبرگ را در مقایسه با شاهد بهبود بخشید. این محقق بیان نمود که بهترین تیمار تلقیح باکتریایی به علاوه ۵۰ درصد غلظت توصیه شده کود شیمیایی NPK بود و با کاربرد این تیمار می‌توان با استفاده از نصف غلظت توصیه شده کود شیمیایی NPK به حداکثر کمیت و کیفیت چای ترش رسید. کمترین وزن خشک کاسبرگ (۱۶/۷۳ گرم در بوته) از تیمار شاهد (عدم استفاده از کود) به‌دست آمد و اختلاف آن با تیمار NPK برای این صفت معنی‌دار بود (جدول ۳). تیمار NPK نسبت به تیمار شاهد موجب بهبود وزن خشک کاسبرگ (۴۶/۵۶ درصد) در گیاه شد. اختلاف تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK برای وزن خشک کاسبرگ با تیمار شاهد معنی‌دار بود (جدول ۳) و موجب بهبود وزن خشک کاسبرگ (به ترتیب ۱۴۱/۵۴ و ۱۳۲/۶۴ درصد) شد. اختلاف این

تیمارها با تیمار NPK نیز برای وزن خشک کاسبرگ معنی‌دار شد (جدول ۳) و نسبت به آن، موجب بهبود وزن خشک کاسبرگ (به ترتیب ۶۴/۸۰ و ۵۸/۷۳ درصد) شد. این نتیجه در توافق با یافته‌های ابوباقر و جهان (Abo-Baker & Gehan, 2011) در چای ترش بود. استفاده از کودهای زیستی در تلفیق با ۵۰ یا ۱۰۰ درصد مقدار توصیه شده NPK موجب بهبود وزن خشک کاسبرگ شد. این نتیجه در توافق با یافته‌های هاردی و آمارا (Harridy & Amara, 1998) در چای ترش بود. بهبود ویژگی وزن خشک کاسبرگ در تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK نسبت به تیمار NPK حاکی از تأثیر مثبت کودهای زیستی نیتروکسین و بیوفسفات بر این صفت بود. این نتایج در توافق با یافته‌های قریب و همکاران (Gharib et al., 2008) در مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) و محفوظ و شرف‌الدین (Mahfoz & Sharaf- Eldin, 2007) در رازیانه و سانچز و همکاران (Sanches et al., 2008) در بارهنگ (*Plantago major* L.) بود. قریب و همکاران (Gharib et al., 2008) بیان نمودند که تلقیح مرزنجوش با ۱۵ و ۳۰ درصد عصاره آبی کمپوست و کودهای بیولوژیک موجب تحریک هورمونی، توسعه ریشه و تأمین نیتروژن ترکیبی و در نتیجه افزایش عملکرد ماده خشک شده است. محفوظ و شرف‌الدین (Mahfoz & Sharaf- Eldin, 2007) بیان نمودند که کوددهی رازیانه با *ازتوباکتر کوروکوکوم*، *آزوسپیریلیوم لیپوفروم* و *باسیلوس مگاتریوم* در تلفیق با ۵۰ درصد غلظت NPK، وزن خشک گیاه و عملکرد میوه را نسبت به تیمار ۵۰ و ۱۰۰ درصد غلظت NPK افزایش دادند. بیشترین مقدار عملکرد میوه در تیمار ۵۰ درصد NPK و ترکیب نژادهای *ازتوباکتر کوروکوکوم*، *آزوسپیریلیوم لیپوفروم* و *باسیلوس مگاتریوم* به‌دست آمد. این محققین بیان نمودند که این مسأله ممکن است ناشی از نقش *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلیوم* در تثبیت نیتروژن و فراهم نمودن مواد اغواء کننده رشد ایندول استیک اسید و جیبرلین‌ها برای گیاه باشد. همچنین باکتری‌های حل‌کننده فسفات *باسیلوس مگاتریوم* ممکن است موجب افزایش جذب فسفر و عناصر میکرو شوند.

استفاده از کودهای زیستی از طریق بهبود فعالیت میکروبی خاک و در دسترس قرار دادن انواع هورمون‌ها و مواد محرک رشد (سیتوکنین، اکسین، بیوتین و اسید پنتوتنیک) و نیز فراهمی عناصر غذایی (Karthikeyan et al., 2008) سبب افزایش فتوسنتز و بهبود ماده خشک گیاهی گردیده است که این مسئله در نهایت باعث افزایش وزن خشک کاسبرگ چای ترش شد. چنین به نظر می‌رسد که استفاده از کودهای زیستی موجب افزایش فراهمی عناصر غذایی برای ریشه گیاه شده است. فراهمی عناصر غذایی موجب تحریک رشد گیاه و افزایش اجزای عملکرد و به تبع آن افزایش وزن خشک کاسبرگ گردیده است. به عبارت دیگر، کودهای زیستی با ایجاد تعادل بین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، ضمن افزایش رشد رویشی و با ایجاد مقصد فراوان و انتقال آسمیلات‌های تولیدی حاصل از رشد رویشی، رشد زایشی را نیز افزایش داده‌اند (Mohammadpour Vashvaei et al., 2015). به نظر می‌رسد که تولید ایندول استیک اسید و سیتوکنین با استفاده از اسیدهای آمینه تریپتوفان و آدنین ترشح شده از ریشه، هیدرولیز پیش ماده اتیلن، ۱- آمینوسیکلو پروپان-۱-کربوکسیلیک اسید دی‌آمیناز[۲] و تولید مواد هورمونی در اثر واکنش نیتریت ۱- آمینوسیکلو پروپان-۱- کربوکسیلیک اسید (نیتریت ACC)[۳] به وسیله آنزیم ACC دآمیناز[۴] حاصل از تنفس نیتراتی با اسید اسکوربیک مهم‌ترین سازوکار تأثیر این باکتری‌ها باشند (Zahir et al., 2004). علاوه براین، باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و حل کننده فسفر، در حضور نیتروژن و فسفر شیمیایی، نیتروژن و فسفر بیشتری را در اختیار گیاه قرار می‌دهند (Mohammadpour Vashvaei et al., 2015). با توجه به ارتباط مستقیم و مثبتی که بین نیتروژن و فسفر وجود دارد، این باکتری‌ها می‌توانند به جذب بیشتر نیتروژن و فسفر توسط گیاه کمک کنند. با توجه به اثر مثبت این عناصر در عملکرد زیستی و تشکیل گل، می‌توان نتیجه گرفت که تأمین نیتروژن و فسفر کافی برای چای ترش یکی از راهکارهای افزایش عملکرد زیستی محسوب شده و دلیل دیگر را می‌توان به نقش بسیار مهم فسفر در تأمین انرژی در ساختار ATP دانست، زیرا برای تثبیت نیتروژن انرژی فراوانی مورد نیاز گیاه است (Olivera et al., 2002). بسیاری از محققین (Mohammadpour Vashvaei et al., 2015; Adesemoye et al., 2010; Yadegari et al., 2010) به نقش مثبت (Kumar et al., 2007; Kumar et al., 2009;

۲- Ethylene, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase

۳- Nitrite, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (Nitrite ACC)

۴- 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase (ACC deaminase)

ریزوباکترهای محرک رشد گیاه، بر عملکرد محصولات زراعی مختلف اشاره کرده‌اند و آن را به ترشح هورمون‌های گیاهی، تولید و آزادسازی انواع اسیدهای آلی در خاک، تثبیت نیتروژن و در نهایت، برهمکنش مثبت بین آن‌ها و سایر ریزموجودات خاک نسبت داده‌اند. از آن‌جایی که کمبود عناصر غذایی، یکی از عوامل اصلی تعیین کننده عملکرد کاسبرگ است، تیمار شاهد (عدم مصرف کود) به علت کمبود مواد غذایی از رشد کمتری برخوردار بود و به تبع آن وزن خشک کاسبرگ کمتری داشت.

عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای نیتروکسین+ بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK و نیتروکسین+ بیوفسفات+۵۰ درصد NPK برای وزن خشک کاسبرگ گیاه چای ترش حاکی آن بود که استفاده از ۵۰ درصد مقدار توصیه شده کودهای شیمیایی به همراه کودهای زیستی موجب بهبود عملکرد کاسبرگ در چای ترش می‌شود. این نتایج در توافق با یافته‌های شالان و همکاران (Shalan et al., 2001) و حسن (Hassan, 2009) در این گیاه و شالان و همکاران (Shaalan, 2005) در سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) بود. به عبارت دیگر کودهای زیستی عناصر غذایی موردنیاز گیاه جهت رشد گیاه و رسیدن به عملکرد پتانسیل را تأمین نموده‌اند و افزودن بیشتر کود شیمیایی تأثیر معنی‌دار بر افزایش عملکرد و اجزای آن ندارد و موجب شستشو و هدر رفت آن و آلودگی محیط زیست می‌گردد. عرضه مداوم و پایدار عناصر معدنی به گیاه، به ویژه نیتروژن باعث افزایش رشد و گلدهی می‌شود. عنصر فسفر در کنار نیتروژن موجب رشد زایشی و میوه‌دهی می‌شود. فسفر یک عنصر ضروری جهت تقسیم سلولی، توسعه ریشه و تشکیل دانه است (El-Gizawy & Mehasen, 2009). باکتری‌های موجود در کودهای زیستی به‌کار گرفته شده در این آزمایش از طریق تأمین عناصر معدنی نظیر فسفر، آهن، مس و روی به ویژه نیتروژن برای گیاه، باعث افزایش وزن خشک کاسبرگ می‌شوند. کودهای زیستی عناصر معدنی غیرقابل دسترس و همچنین ترکیب‌های آلی را به شکل قابل دسترس برای گیاه فراهم می‌کنند، همچنین باعث افزایش رشد می‌شوند (Akhtar & Siddiqui, 2009).

برای عملکرد کاسبرگ بالا باید رشد رویشی یا زایشی در گیاه، متعادل و کاسه‌های گل مراحل رشدی خود را به طور کامل طی کرده و بزرگ شوند. این تعادل زمانی برقرار می‌شود که بین عناصر لازم برای رشد رویشی (نیتروژن) با عنصر لازم برای رشد زایشی (فسفر) تعادل برقرار باشد. این باکتری‌ها با ایجاد تعادل بین عناصر موجب حداکثر رشد رویشی و زایشی می‌شوند. بنابراین می‌توان اظهار داشت که کاربرد کودهای زیستی به همراه ۵۰ درصد کود شیمیایی بهترین تیمار کودی در جهت افزایش وزن خشک کاسبرگ در گیاه چای ترش است. این نتیجه با تحقیقات دیگر محققان نیز مطابقت دارد. حسن (Hassan, 2009) در چای ترش بیان نمود که بهترین تیمار تلقیح باکتریایی به علاوه ۵۰ درصد غلظت توصیه شده کود شیمیایی NPK است و با کاربرد این تیمار می‌توان با استفاده از نصف غلظت توصیه شده کود شیمیایی NPK به حداکثر کمیت چای ترش رسید. حبیبی و همکاران (Habibi et al., 2013) بیان نمودند که تیمارهای تلفیقی کودهای زیستی و ۵۰ درصد کودهای شیمیایی باعث افزایش عملکرد و اجزای عملکرد کدوی تخم کاغذی (*Cucurbita pepo* L. Convar. *pepo* Var. *styriaca*) شده است. الحربی و وهب الله (Al-Harbi & Wahb-Allah, 2006) نیز در پژوهش خود روی کدو تابستانه (*Cucurbita pepo* L.) نشان دادند که کاربرد نیتروژن به میزان ۷۲ کیلوگرم در هکتار در ترکیب با کود زیستی (*ازتوباکتر*، *آزوسپریلیوم* و *کلبسیلا*[۵]) نسبت به کاربرد نیتروژن به میزان ۲۱۶ گیلوگرم در هکتار بدون تلقیح با باکتری، عملکرد کل را افزایش داد. الگیزاوی و محسن (El-Gizawy & Mehasen, 2009) نیز نشان دادند که بالاترین عملکرد دانه باقلا (*Vicia faba* L.) در ترکیب کودی باکتری‌های حل‌کننده فسفات و کود شیمیایی فسفر به‌دست آمد. یساری و همکاران (Yasari et al., 2008) نیز نشان دادند که تیمار کود شیمیایی+ تلقیح با باکتری‌های *ازتوباکتر* و *آزوسپریلیوم* حصول بیشترین عملکرد دانه در کلزا (*Brassica napus* L.) را موجب شدند. شاهین و همکاران (Shaheen et al., 2007) در تحقیق خود نشان دادند که عملکرد غلاف بامیه (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) در کاربرد ۵۰ درصد کود نیتروژن مورد نیاز گیاه از منبع سولفات آمونیوم+*ازتوباکتر* یا *آزوسپریلیوم* نسبت به کاربرد ۱۰۰ درصدی کود نیتروژن بدون تلقیح، افزایش معنی‌دار داشت.

همبستگی و تجزیه مؤلفه‌های اصلی

نتایج حاصل از همبستگی بین صفات (جدول ۴) نشان داد که بیشترین همبستگی بین درصد پروتئین برگ و کاسبرگ (۰/۹۸) وجود

۵- Klebsiela

جدول ٤- ضرایب همبستگی بین غلظت عناصر N و P، ویژگی‌های بیوشیمیایی و وزن خشک کاسبرگ چای ترش تحت اثرات کودهای شیمیایی، زیستی و ترکیب آن‌ها (سال‌های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲)

Table 4- Correlations between N and concentration, biochemical traits and sepal dry weight of roselle under effects of chemical and bio-fertilizers and combination of them (2012 and 2013)

صفات Traits	درصد نیتروژن برگ Leaf N (%)	درصد نیتروژن کاسبرگ Sepal N (%)	درصد فسفر برگ Leaf P (%)	درصد فسفر کاسبرگ Sepal P (%)	درصد پروتئین برگ Leaf protein (%)	درصد پروتئین کاسبرگ Sepal protein (%)	محتوای آنتوسیانین کاسبرگ (میلی-گرم/گرم وزن خشک) Sepal anthocyanin content ($mg.g^{-1}$ dry weight)	محتوای ویتامین C کاسبرگ (میلی‌گرم/گرم وزن خشک) Sepal vitamin C content ($mg.g^{-1}$ dry weight)	درصد اسیدیته کاسبرگ Sepal acidity (%)
درصد نیتروژن کاسبرگ Sepal N (%)	0.94^{**}								
درصد فسفر برگ Leaf P (%)	0.85^{**}	0.90^{**}							
درصد فسفر کاسبرگ Sepal P (%)	0.90^{**}	0.89^{**}	0.96^{**}						
درصد پروتئین برگ Leaf protein (%)	0.98^{**}	0.94^{**}	0.85^{**}	0.80^{**}					
درصد پروتئین کاسبرگ Sepal protein (%)	0.95^{**}	0.97^{**}	0.91^{**}	0.90^{**}	0.94^{**}				
محتوای آنتوسیانین کاسبرگ (میلی-گرم/گرم وزن خشک) Sepal anthocyanin content ($mg.g^{-1}$ dry weight)	0.94^{**}	0.93^{**}	0.85^{**}	0.95^{**}	0.94^{**}	0.93^{**}			
محتوای ویتامین C کاسبرگ (میلی-گرم/گرم وزن خشک) Sepal vitamin C content ($mg.g^{-1}$ dry weight	0.64^{**}	0.68^{**}	0.72^{**}	0.64^{**}	0.64^{**}	0.68^{**}	0.65^{**}		
درصد اسیدیته کاسبرگ Sepal acidity (%)	$0.70^{*}*$	0.70^{**}	$0.67^{*}*$	0.65^{**}	0.69^{**}	0.70^{**}	0.69^{**}	0.97^{**}	
وزن خشک کاسبرگ (گرم/بوته) Sepal dry weight ($g.plant^{-1}$)	0.78^{**}	0.76^{**}	0.70^{**}	0.71^{**}	0.78^{**}	0.75^{**}	0.46^{*}	0.45^{*}	0.48^{**}

* and**: are significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

داشت.

جدول ۵- تجزیه به مؤلفه‌های غلظت عناصر N و P، ویژگی‌های بیوشیمیایی و وزن خشک کاسبرگ چای ترش تحت اثرات کودهای شیمیایی، زیستی و ترکیب آن‌ها (سال‌های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲)

Table 5- Principal component of N and P concentration, biochemical traits and sepal dry weight of roselle under effects of chemical and bio-fertilizers and combination of them (2012 and 2013)

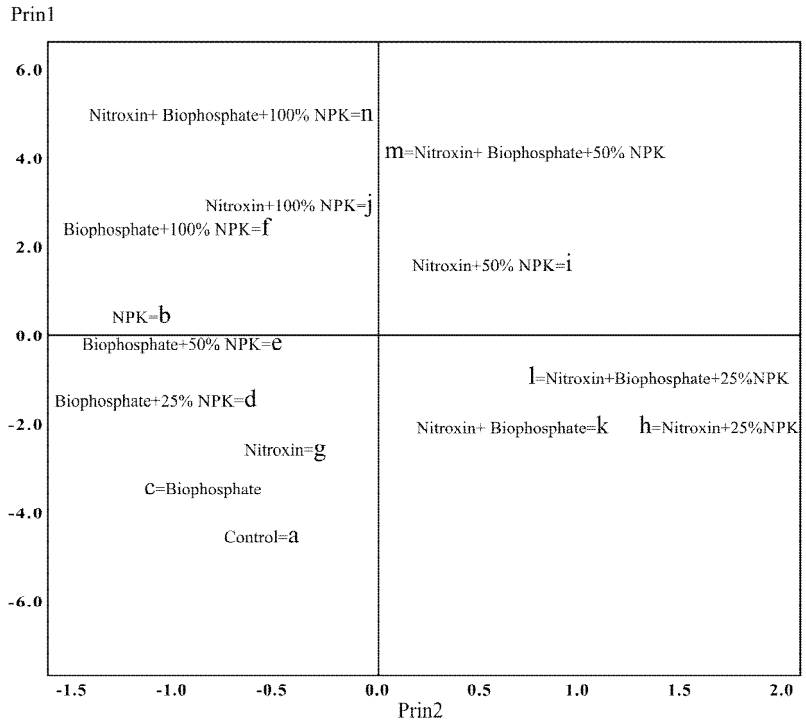
صفات Traits	مؤلفه اول Prin1	مؤلفه دوم Prin2	همبستگی صفات با مؤلفه اول Correlation with prin1	همبستگی صفات با مؤلفه دوم Correlation with prin2
درصد نیتروژن برگ Leaf N (%)	0.3353	-0.0289	0.97**	-0.03ns
درصد نیتروژن کاسبرگ Sepal N (%)	0.3374	-0.0903	0.97**	-0.08ns
درصد فسفر برگ Leaf P (%)	0.3255	-0.1599	0.94**	-014ns
درصد فسفر کاسبرگ Sepal P (%)	0.3261	-0.1169	0.94**	-0.10ns
درصد پروتئین برگ Leaf protein (%)	-0.0301	0.3347	-0.03ns	0.97**
درصد پروتئین کاسبرگ Sepal protein (%)	-0.0928	0.3372	-0.08ns	0.98**
محتوای آنتوسیانین کاسبرگ (میلی‌گرم/گرم وزن خشک) Sepal anthocyanin content (mg.g^{-1} dry weight)	-0.0592	0.3357	-0.05ns	0.97**
محتوای ویتامین C کاسبرگ (میلی‌گرم/گرم وزن خشک) Sepal vitamin C content (mg.g^{-1} dry weight	-0.2471	0.5349	-0.46*	0.81**
درصد اسیدیته کاسبرگ (%) Sepal acidity (%)	-0.2731	0.5949	-0.52*	0.89**
وزن خشک کاسبرگ (گرم/بوته) Sepal dry weight (g.plant^{-1})	0.5465	-0.2955	0.95**	-0.47*
ریشه مشخصه Eigen value	7.37	1.75	مجموع واریانس توجیه شده Total of justified variance	
درصد واریانس توجیه شده Proportion of justified variance	83.71	7.50	91.21	

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و ns، غیر معنی‌دار.

* and**: are significant at 0.05 and 0.01 probability levels, and ns is not significant, respectively.

همبستگی وزن خشک کاسبرگ با درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ (به ترتیب ۰/۷۸ و ۰/۷۶)، درصد فسفر برگ و کاسبرگ (به ترتیب ۰/۷۰ و ۰/۷۱)، درصد پروتئین برگ و کاسبرگ (به ترتیب ۰/۷۸ و ۰/۷۵) مثبت، قوی و بسیار معنی‌دار بود. همبستگی وزن خشک کاسبرگ با محتوای آنتوسیانین، محتوای ویتامین C و درصد اسیدیته کاسبرگ (به ترتیب ۰/۴۶، ۰/۴۵ و ۰/۴۸) مثبت، متوسط و معنی‌دار بود (جدول ۴). در این تحقیق تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای ۱۰ صفت زراعی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در چای ترش انجام شد. ریشه و بردارهای مشخصه و نسبت واریانسی که توسط هر مؤلفه و مجموع آن‌ها توجیه می‌گردد، در جدول ۵ نشان داده شده است. در تجزیه حاصل دو مؤلفه استخراج گردید، زیرا ضرایب ماتریس باقیمانده اجازه استخراج مؤلفه‌های بیشتر را نداد. بردار مشخصه مربوط به دو ریشه مشخصه اول نشان داد که دو مؤلفه اول در مجموع ۹۱/۲۱ درصد واریانس کل را توجیه می‌نمایند، که از این مقدار سهم مؤلفه اول و دوم به ترتیب ۸۳/۷۱ و۷/۵۰ درصد بود. لذا کمتر از دو مؤلفه برای بیان مفاهیم بیولوژیک کافی بود. از آن‌جایی‌که همبستگی صفات درصد نیتروژن برگ و کاسبرگ (هر یک ۰/۹۷)، درصد فسفر برگ و کاسبرگ (هر یک ۰/۹۴) و وزن خشک کاسبرگ (۰/۹۵) با مؤلفه اول بالا بود، می‌توان این مؤلفه را تحت عنوان "عملکرد" نامگذاری نمود. در مؤلفه دوم متغیرهای درصد پروتئین برگ و کاسبرگ (به‌ترتیب ۰/۹۷ و ۰/۹۸)، محتوای آنتوسیانین کاسبرگ (۰/۹۷)، محتوای ویتامین C کاسبرگ (۰/۸۱) و درصد اسیدیته کاسبرگ (۰/۸۹) دارای همبستگی بالا با این مؤلفه بودند. بنابراین این مؤلفه را می‌توان تحت عنوان "کیفیت" نامگذاری نمود. نمودار حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی تیمارهای آزمایشی در شکل ۱ نشان داده شده است. تیمار نیتروکسین+۵۰ درصد NPK (i) دارای عملکرد

قابل قبول و کیفیت خوب بود. تیمار بیوفسفات+ نیتروکسین+۵۰ درصد NPK (m) دارای کیفیت قابل قبول و عملکرد خوب بود.



شکل ۱- نمودار تجزیه به مؤلفه‌های اصلی تیمارهای مورد بررسی (a =شاهد، b=NPK، c =بیوفسفات، d=بیوفسفات+۲۵درصد NPK، e=بیوفسفات+۵۰ درصد NPK، f=بیوفسفات+۱۰۰درصد NPK، g=نیتروکسین، h=نیتروکسین+۲۵ درصد NPK، i=نیتروکسین+۵۰ درصد NPK، j=نیتروکسین+۱۰۰ درصد NPK، k=نیتروکسین+بیوفسفات، l=نیتروکسین+بیوفسفات+۲۵ درصد NPK، m=نیتروکسین+بیوفسفات+۵۰ درصد NPK، n=نیتروکسین+بیوفسفات+۱۰۰ درصد NPK)

Fig.1- Diagram of principal component analysis of studied treatments (a=Control, b=NPK, c=Biophosphate, d=Biophosphate+25% NPK, e=Biophosphate+50% NPK, f=Biophosphate+100% NPK, g=Nitroxin, h=Nitroxin+25% NPK, i=Nitroxin+50% NPK, j=Nitroxin+100% NPK, k=Nitroxin+ Biophosphate, l=Nitroxin+ Biophosphate+25% NPK, m=Nitroxin+ Biophosphate+50% NPK, n=Nitroxin+ Biophosphate+100% NPK)

تیمار بیوفسفات+ نیتروکسین+۱۰۰ درصد NPK (n) دارای حداکثر عملکرد بود ولی از کیفیت قابل قبولی برخوردار نبود چرا که از نظر مؤلفه دوم در ناحیه دوم مختصات قرار گرفته بود. با توجه به نتایج حاصل جهت حصول حداکثر عملکرد و کیفیت مطلوب بهترین تیمار در آزمایش فوق تیمار بیوفسفات+ نیتروکسین+ ۵۰ درصد NPK بود. این تیمار در حین اینکه حداکثر عملکرد را تولید نمود، کیفیت مورد قبول را نیز ارائه داد. لذا در راستای نیل به تولید چای ترش در نظام های زراعی کم نهاده توصیه می‌گردد.

نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج این تحقیق حاکی از آن بود که استفاده از ۵۰ درصد مقدار توصیه شده کودهای شیمیایی NPK به همراه کودهای زیستی بیوفسفات و نیتروکسین موجب بهبود رشد گیاهان و افزایش کمیت و کیفیت کاسبرگ در چای ترش شد. این بهبود ممکن است در نتیجه اثرات مستقیم کودهای شیمیایی و یا اثرات غیرمستقیم از طریق آلودگی میکروبی باشد. بنابراین، استفاده تلفیقی از کودهای زیستی و شیمیایی ضمن فراهم کردن بهترین سیستم تغذیه‌ای برای گیاه و افزایش کیفیت و عملکرد کاسبرگ گیاه دارویی چای ترش و پایداری تولید آن و با هدف کاهش مصرف و افزایش کارایی مصرف کودهای شیمیایی در راستای نیل به کشاورزی پایدار و حفظ محیط زیست توصیه می‌گردد. با توجه به ضرورت تولید گیاهان دارویی در نظام‌های زراعی و لزوم توجه به کشت این گیاهان در نظام‌های کم نهاده و کاهش هزینه‌های مصرف کودهای شیمیایی به نظر می‌رسد که کودهای زیستی جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی در تولید

این گیاهان باشند.

منابع

Abbas, M.K., and Ali, A.S. 2011. Effect of foliar application of NPK on some growth characters of two cultivars of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). American Journal of Plant Physiology 6(4): 220-227.

Abdul-Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R., and Panneerselvam, R. 2007. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomas yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 60: 7–11.

Abo-Baker A.A., and Gehan G.M. 2011. Effect of bio-and chemical fertilizers on growth, sepals yield and chemical composition of *Hibiscus sabdariffa* at new reclaimed soil of south valley area. Asian Journal of Crop Science 3:16-25.

Adesemoye, A.O., Torbert, H.A., and Kloepper, J.W. 2008. Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system. Canadian Journal of Microbiology 54: 876-886.

Ahmed, A.K. 1980. Karkade (*Hibiscus sabdariffa* L.) seed as new oilseed and a source of edible oil. PhD dissertation, University of Reading, England.

Akhtar, M.S., and Siddiqui, Z.A. 2009. Effect of phosphate solubilizing microorganisms and *Rhizobium* sp. On the growth, nodulation, yield and root- rot disease complex of chickpea under field condition. African Journal of Biotechnology 8(15): 3489-3496.

Al-Harbi, A.R., and Wahb-Allah, M.A. 2006. Effect of biofertilization under different nitrogen levels on growth, yield and quality of summer squash. Journal of the Saudi Society for Agricultural Sciences 5(1): 42-54.

Aseri, G.K., Jain, N., Panwar, J., Rao, A.V., and Meghwal, P.R. 2008. Biofertilizers improve plant growth, fruit yield, nutrition, metabolism and rhizosphere enzyme activities of pomegranate (*Punica granatum* L.) in Indian Thar Desert. Scientia Horticulturae 117: 130-135.

Bagel, S.D., Shaikh, G.A., and Adsule, R.N. 1989. Influence of different levels of N, P and K fertilizers on the protein, ascorbic acid, sugars and mineral contents. Journal of Maharashtra Agricultural Universitie 14(2): 153-155.

Bremner, J.M., and Mulvany, G.S. 1982. Nitrogen Total. In: A.L. Page (Ed.). Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy, Madison, WI., USA. p. 595-622.

Chemists. 1970. Official and Jentative Methods of Analysis. 11th Ed., Madison Publisher, Washington, D.C., USA.

Darzi, M.T., Ghalavand, A., Sephidkan, F., and Rejali, F. 2008. Effect of mycorrhiza, vermicompost and biological phosphate fertilizer on the quality and quantity of essential oil of fennel. Iran Aromatic and Medicinal Plant Research Journal 24: 396-413. (In Persian with English Summary)

Das, K., Dang, R., and Shivananda, V. 2008. Influence of biofertilizers on the availability of nutrients (N, P and K) in soil in relation to growth and yield of *Stevia rebaudiana* grown in South India. International Journal of Applied Research in Natural Products 1: 20-24.

Dias, T.J., Cavalcante, L.F., Freire, J.L.O., Nascimento, J.A.M., Beckmann-Cavalcante, M.Z., and Santos, G.P. 2011. Qualidade quimica de frutos do maracujazeiro-amarelo em solo com biofertilizante irrigado com aguas salinas. Revista Brasileira de Engenharia Agricola e Ambiental, Campina Grande 15(3): 229-236.

Du, C.T., and Francis, F.J. 1973. Anthocyanins of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). Journal of Food Science 38: 810-812.

Duke, J.A. 1983. Handbook of Energy Crops. Electronic publication on the NewCROPS web site, Purdue University. https://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/dukeindex.html

El-Gizawy, N.K.B., and Mehasen, S.A.S. 2009. Response of Faba bean to bio, mineral phosphorus fertilizers and foliar application with zinc. World Applied Sciences Journal 6(10): 1359-1365.

Faraji, M.H., and Tarkhani, A.H. 1999. The effect of sour tea (*Hibiscus sabdariffa*) on essential hypertention. Journal of Ethnopharmacology 7: 231-236.

Fortaleza, J.M., Peixoto, J.R., Junqueira, N.T.V., Oliveira, A.T., and Rangel, L.E.P. 2005. Caracteristicas fisicas e quimicas em nove genotipos de maracuja azedo cultivado sob tres niveis de adubacao potassica. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal 27(1): 124-127.

Freire, J.L.O., Cavalcante, L.F., Rebequi, A.M., Nunes, J.C., Dias, T.J., and Cavalcante, I.H.L. 2010. Atributos qualitativos do maracuja amarelo produzido com agua salina, biofertilizante e cobertura morta no solo. Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária) 5(1): 102-110.

Gharib, F.A., Moussa, L.A., and Massoud, O.N. 2008. Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Marjorana hortensis* L.). Journal of Agriculture and Biological Science 10: 381-387.

Griffe, P., Metha, S., and Shankar, D. 2003. Organic production of medicinal, aromatic and dye yielding plants (MADPs): forward, preface and introduction. Food and Agriculture Organization 2: 52-63.

Habibi, A., Heidari, G.R., Sohrabi, Y., and Mohammadi, K. 2013. Effect of biofertilizers and chemical fertilizers on yield and yield components of pumpkin (*Cucurbita pepo* L. Convar. *pepo* Var. *styriaca*). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 28(4): 604-615. (In Persian with English Summary)

Hajeeboland, R., Asgharzadeh, N., and Mehrfar, Z. 2004. Ecological study of azotobacter in two pasture lands of the north-west Iran and its inoculation effect on growth and mineral nutrition of wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Omid) plants. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 8(2): 75-90. (In Persian with English Summary)

Harridy, I.M., and Amara, M. 1998. Effect of presowing inoculation of seeds by nitrogen fixed bacteria on growth, fruit production, sepals yield and the chemical composition of roselle plants. Egypt Journal of Applied Science 13: 217-231.

Hassan, F.A.S. 2009. Response of *Hibiscus sabdariffa* L. plant to some biofertilization treatments. Annals of Agricultural Science 54: 437-446.

Hayat, A.E.H. 2007. Physiological studies on *Hibiscus sabdariffa* L. production in new reclaimed soils. MSc dissertation, Faculty of Agriculture, Zagazig University, Egypt.

Jackson, M.L. 1967. Soil Chemical Analysis. Prentric-Hall of India Pvt. Ltd., New Delhi.

Jacobs, M.B. 1951. The Chemical Analysis of Food and Food Products Standardized Dye Method. Vol. 27. 2nd Ed., D Van Nostrand Co., New York p. 31-36.

Kalra, A. 2003. Organic cultivation of medicinal and aromatic plants. A hope for sustainability and qualility enhancement. Journal of Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye-Yielding Plants (MADPs), FAO 198 p.

Karami, A., and Sepehri, A. 2013. Effects of application of nitroxin and biophosphate on the nutrient use efficiency and harvest index of (*Borago officinalis* L.) under water deficit stress. Sustainable Agriculture and Production Science 23(3): 144-156.

Karthikeyan, B., Abdul Jaleel, C., and Changxing, Z. 2008. The effect of AM fungi and phosphorous level on the biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus*. Eurasian Journal of Biosciences 2: 26-33.

Khalid, A., Muhammad, A.M., and Zahir, Z.A. 2004. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. Journal of Applied Microbiology 96: 473–480.

Khalil, S.E., and Abdel-Kader, A.A.S. 2011. The influence of soil moisture stress on growth, water relation and fruit quality of *Hibisicus sabdariffa* L. grown within different soil types. Nature and Science 9(4): 62-74.

Khalil, S.E., and Yousef, R.M.M. 2014. Study the effect of irrigation water regime and fertilizers on growth, yield and some fruit quality of *Hibiscus sabdariffa* L. International Journal of Advanced Research 2(5): 738-750.

Kianisadr, M., and Borna, A. 2008. Environmental Effects of Chemical Fertilizers. 2nd Iranian National Congress of Ecological Agriculture, Gorgan. 17-18 October p. 4216-4199.

Kumar, B., Trivedi, P., and Pandey, A. 2007. *Pseudomonas corrugates*: A suitable bacterial inoculants for maize grown under rain fed conditions of Himalayan region. Soil Biology and Biochemistry 39: 3093-3100.

Kumar, T.S., Swaminathan, V., and Kumar, S. 2009. Influence of nitrogen, phosphorus and biofertilizers on growth, yield and essential oil constituents in ratoon crop of davana (*Artemisia pallens* Wall.). Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry 8(2): 86-95.

Li, Z.H., Gemma, H., and Iwahori, S. 2002. Stimulation of 'Fuji' apple skin color by ethephon and phosphorus calcium mixed compounds in relation to flavonoid synthesis. Scientia Horticulture 94: 193-199.

Liang, Y., Lu, J., and Shang, S. 1996. Effect of gibberellins on chemical composition and quality of tea (*Camellia sinensis* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture 72: 411–414.

Mahfouz, S.A., and Sharaf-Eldin, M.A. 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). International Agrophysics 21(4): 361-366.

Marschner, H. 1995. Nutrition of Higher Plants, 2nd Ed. Academic Press, San Diago, CA 889 p.

Metwally, M.M., Afify, M.M., Wahba, H.E., Makarem, A.M., Mohamed A., Mohamed, A.E., and Mahfouz, S. 2002. Effect of irrigation and vapor gard on growth, yield and chemical composition of roselle plant. Bullten of National Research Centre (NRC), Egypt 27(4): 533-548.

Mittal, V., Sigh, O., Nayyar, H., Kaur, G., and Tewari, R. 2008. Stimulatory effect of phosphate solubilizng fungal strains (*Aspergillus awarvori* and *Pencillum citrinum*) on the yield of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. GPF2.). Soil Biology and Biochemistry 40: 718-727.

Mohammadpour Vashvaei, R., Galavi, M., Ramroudi, M., and Fakheri, B.A. 2015a. Effects of drought stress and bio-fertilizers inoculation on growth, essential oil yield and constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.). Journal of Agroecology 7(2): 237-253. (In Persian with English Summary)

Morton, J. 1987. Roselle. p. 281–286. In: Morton, J. F. Fruits of warm climates. Miami, FL.

Mosali, J., Desta, K., Teal, R.K., Freeman, K.W., Martin, K.L., Lawles, J.W., and Raun, W.R. 2006. Effect of foliar application of phosphorus on winter wheat grain yield, phosphorus uptake, and use efficiency. Journal of Plant Nutrition 29: 2147-2163.

Muller, K., and Hippe, J. 1987. Influence of differences in nutrition on important quality characteristics of some agricultural crops. Plant and Soil 100: 35–45.

Nagy, S. 1980. Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. Journal of Agricural and Food Chemistry 28: 8–18.

Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., and Vianelo, F. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry 34(4): 1527-1536.

Obiefuna, P.C., Owolabi, O.A., Adegunloye, B.J., Obiefuna, L.P., and Sofola, O.A. 1994. The petal extract of *Hibiscus sabdariffa* produces relaxation of isolated rat aorta. Journal of Pharmacognosy 32: 69-74.

Olivera, M., Iribane C., and Liuck, C. 2002. Effect of Phosphorus on Nodulacion and N_2 Pixation by Bean (*Phaseolus vulgaris*). Proceedings of the 15th International Meeting on Microbia Phosphate Solubilization. Salamanca University, Salamanca, Spain 16-19 July.

Omidbaigi, R., and Nobakht, A. 2001. Nitrogen fertilizer affecting growth, seed yield and active substances of Milk thistle. Pakistan Journal of Biological Science 4: 1345-1349.

Owolabi, O.A., Ajagbona, B.J. Sfola, O.A., and Obiefuna, P.C. 1995. Mechanism of relaxant effect mediated by an aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* petal in isolated aorta. Internatinal Journal of Pharmacy 33: 210-214.

Pal, K.K., Tilak, V.B.R., Saxena, A.K., Dey, R., and Singh, C.S. 2001. Suppression of maize root diseases caused by *Macrophomia phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminaerum* caused by plant growth promoting rhizobacteria. Microbiological Research 156: 209–223.

Pouryousef, M., Chaichi, M.R., Mazaheri, V., Fakhretabatabaii, M., and Ashraf Jafari, V. 2007. Effect of different soil fertilizing systems on seed and mucilage yield and seed P content of Isabgol (*Plantago ovata* Forsk.). Asian Journal of Plant Sciences 6: 1088-1092.

Raifa, A.H., Hemmat, K.I., Hala, M.S., and Sadak, M.S. 2005. Increasing the active constituents of sepals of Roselle (*Hibiscus subdariffa* L.) plant applying gibberellic acid and benzyladenine. Journal of Applied Science Research 1(2): 137-146.

Ram Rao, D.M., Kodandar Amaiah, J., Reddy, M.P., Katiyar R.S., and Rahmathulla, V.K. 2007. Effect of VAM fungi and bacterial biofertilizers on mulberry leaf quality and silkworn cocoon characters under semiaride conditions. Caspian Journal of Environmenal Science 5(2): 111-117.

Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N., and Gautam, S.P. 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. motia by rhizobacteria, AMF and *Azospirillum* inoculation. Microbiological Research 156: 145-149.

Rawia, A., Eid, S., Abo-sedera, A., and Attia, M. 2006. Influence of nitrogen fixing bacteria incorporation with organic and/or inorganic nitrogen fertilizers on growth, flower yield and chemical composition of *Celosia argentea*. World Journal of Agricultural Sciences 2: 450-458.

Revilas, J.J., Rodelas, B., Pozo, C., Martinez-Toledo, M.V., and Gonzalez-Lopez, J. 2000. Production of B-group vitamins by two Azotobacter strains with phenolic compounds as sole carbon source under diazotrophic and adiazotrophic conditions. Journal of Applied Microbiology 89: 486-493.

Rodriguez, H., and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances 17: 319-339.

Russel, R. 1977. Plant Root Systems (the Function and Interaction with the Soil). Marcel Dekter. USA.

Sanchez, G.E., Carballo, G.C., and Romos, G.S.R. 2008. Influence of organic manures and biofertilizers on the quality of two Plantaginaceae: *Plantago major* L. and *P. lanceolota* L. Revista cubana de plants. Medicinales 13: 12-15.

SAS Institute. 2013. The SAS system for Windows. Release 9.2. SAS Institute. Cary, NC.

Shaalan, M.N. 2005. Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of *Nigella sativa* L. plants. Egyptian Journal of Agricultural Research 83: 811-828.

Shaheen, A.M., Fatma, A., Omiama, R., Sawan, M., and Ghoname, A.A. 2007. The integrated use of bio-inoculants and chemical nitrogen fertilizer on growth, yield and nutritive value of two okra (*Abelmoschus esculentus* L.) cultivars. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 1(3): 307-312.

Shalan, M.N., Abd El-Latif, T.A., Soliman, S.G., and El-Ghawas, E.O. 2001. Effect of some chemical and biofertilizer treatments on roselle plants (*Hibiscus sabdariffa* L.). Egyptian Journal of Agricultural Research 79: 587-606.

Sharma, A.K. 2002. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios, India 424 p.

Singh, S., and Kapoor, K.K. 1999. Inoculation with phosphate solubilizing microorganisms and a Vesicular arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. Biology and

Fertility Soils 28: 139-144.
Sundara, B., Natarajan, V., and Hari, K. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugar cane and sugar yields. Field Crops Research 77: 43-49.
Taiz, L., and Zeiger, E. 2006. Plant physiology, (4th Edition). Sinauer Associates, Sunderland, England, 623 p.
Tanaka, T., Kojima, T., Yoshimi, N., and Mori, H. 1993. Chemoprevention of diethylnitrosamine induced hepatocarcinogensis by a simple phenolic acid. Protocatechuic acid in rats. Cancer Research 53: 2775-2779.
Tilak, K.V.B.R., Ranganayaki, N., Pal, K.K., De, R., Saxena, A.K., Shekhar Nautiyal, C., Mittal, S., Tripathi, A.K., and Johri, B.N. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. Current Science 89: 136-150.
Toro, M., Azcon, R., and Barea, J.M. 1997. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (^{32}P) and nutrient cycling. Applied and Environmental Microbiology 63(11): 4408-4412.
Vitrac, X., Larronde, F., Krisa, S., Decendit, A., Deffieux, G., and Mérillon, J.M. 2000. Sugar sensing and Ca^{2+} calmodulin requirement in *Vitis vinifera* cells producing anthocyanins. Phytochemistry 53: 659-665.
Yadegari, M., Asadirahmani, H., Noormohammadi, G., and Ayneband, A. 2010. Plant growth promoting rhizobacteria increase growth, yield and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. Journal of Plant Nutrition 33: 1733-1743.
Yasari, E., Esmaeili Azadgoleh, A.M., Pirdashti, H., and Mozafari, S. 2008. *Azotobacter* and *Azospirillum* inoculant as biofertilizer in canola (*Brassica napus* L.) cultivation. Asian Journal of Plant Sciences 7(5): 490-494.
Zahir, A.Z., Arshad, M., and Frankenberger, W.F. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in Agriculture. Advanced Agronomy 81: 97-168.

Journal of Agroecology
Vol. 9, No. 3, Fall 2017, p. 652-674

نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۹، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۶، ص. ۶۷۴-۶۵۲

Effect of Different Fertilization Systems (Chemical, Biological and Integrated) on Nitrogen and Phosphorus Concentration, Biochemical Attributes and Sepals Dry Weight of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)

R. Mohammadpour Vashvaei[1*], A. Ghanbari[2] and B.A. Fakheri[3]

Submitted: 23-10-2014
Accepted: 04-02-2015

Mohammadpour Vashvaei, R., Ghanbari, A., and Fakheri, B.A. 2017. Effects of different fertilization systems (chemical, biological and integrated) on elements concentration, biochemical attributes and yield of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). Journal of Agroecology 9(3): 652-674.

Introduction

Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) is a subtropical medicinal plant belongs to the Malvaceae family. Roselle sepals are valuable due to its therapeutic properties and culinary uses. During past decades rising cost of chemical inputs and overusing them in conventional farming have caused various environmental issues such as soil and water resources contamination, reduction in food quality production, decreasing soil fertility and biological imbalance in the soil that they impose irreparable damage to ecosystems. Sustainable agriculture which is based on the use of bio-fertilizers with the aim of eliminating or considerably reducing the use of chemical inputs is the optimal solution to overcome these problems. Abo-Baker and Gehan (2011) in their study on the effect of bio-fertilizers in combination with different rates of chemical fertilizers on growth characters, yield component and chemical constituents of roselle demonstrated that the inoculation with the mixture of bio-fertilizers combined with 50 or 100% chemical fertilizers improved, in most cases, growth characters and increased sepal yield or at least did not differ significantly from the control (full recommended dose of NPK alone). These researchers stated that applying 50% of the recommended dose of NPK plus the mixture of bio-fertilizer can save half of the quantity of chemical fertilizers, decrease the production cost and obtain high quality product. The present study was designed to investigate the effect of bio-fertilizers in combination with different doses of chemical fertilizers on the element concentrations, biochemical properties and yield of roselle to find the appropriate integration of them.

Material and Methods

This experiment was conducted based on a randomized complete block design with three replications, at the Research Station, University of Zabol, during growing season of 2011-2012 and 2012-2013. Experimental treatments were plant nutrition with NPK (220, 130 and 75 $kg.h^{-1}$ of urea, triple super phosphate and potassium sulphate, respectively), bio-phosphate, bio-phosphate + 25% NPK, bio-phosphate + 50% NPK, bio-phosphate + 100% NPK, nitroxin, nitroxin + 25%NPK, nitroxin + 50%NPK, nitroxin + 100%NPK, nitroxin + bio-phosphate, nitroxin + biophosphate + 25% NPK, nitroxin + biophosphate + 50% NPK, nitroxin + biophosphate + 100% NPK and control (non-use of any fertilizer). Plant traits such as leaf nitrogen and protein, sepal nitrogen and protein, leaf and sepal phosphorus, sepal anthocyanin and vitamin C content, sepal acidity and sepal dry weight of roselle were measured. For statistical analysis, combined analysis of variance, Duncan's multiple range test (DMRT), simple correlation analysis and principal component analysis were performed using SAS version 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Results and Discussion

The results of combined analysis of variance of two years showed that the effects of different treatments of chemical fertilizers, bio-fertilizers and their combinations were significant ($P \leq 0.01$) for all studied traits. The

1, 2 and 3- MSc student of Agroecology, Professor, Department of Agronomy and Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Iran, respectively.
(*- Corresponding author Email: ro_mohammadpour@yahoo.com)
DOI:10.22067/jag.v9i3.40529

highest values of all studied traits belong to the nitroxin + biophosphate + 100% NPK treatment that its difference with nitroxin + biophosphate + 50% NPK treatment was not significant, except for leaf nitrogen and protein. Dry weight of sepals had positive, strong and very significant correlation to the percentage of nitrogen, phosphorous and protein of leaves and sepals. Principal component analysis was extracted two components that justified 83.71 and 7.50% of the total variation. According to weight of the included characteristics, these two components were named to the "yield" and "quality". Based on the diagram of principal component analysis, treatment "Nitroxin + biophosphate + 50% NPK" was achieved maximum yield and quality of roselle.

Conclusion

The use of 50% of the recommended dose of fertilizers with nitroxin and bio-phosphate bio-fertilizers improved plant growth and enhanced the quality and quantity of roselle sepals. This improvement may be due to the direct results of fertilizers or indirect effects through microbial contamination or activities. Therefore, with respect to the production of medicinal plants in the low-input cropping systems and to achieve sustainable agriculture and environmental protection, combinations of chemical and bio-fertilizers are recommended.

Keywords: Bio-phosphate, Medicinal plants, Nitroxin, NPK, Physiological traits