نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۲، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۹، ص. ۵۷۳-۵۶۵

Journal of Agroecology
Vol. 2, No. 4, Winter 2010, p. 565-573

تأثیر برخی از ریزوباکتری‌های محرک رشد و کود نیتروژنی بر ویژگی‌های مورفولوژیک بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.)

سهیلا دست برهان[1*]، سعید زهتاب سلماسی[2]، صفر نصراله زاده[3] و علیرضا توسلی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۲/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۷/۰۷

چکیده

به منظور بررسی اثر ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه و کود نیتروژنی بر صفات مورفولوژیک بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.)، در سال زراعی ۸۷-۱۳۸۶، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه تبریز اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی در این تحقیق را تلقیح با ریزوباکتری‌های محرک رشد (B_0: عدم تلقیح، B_1: تلقیح با ازتوباکتر کروکوکوم، B_2: تلقیح با آزوسپیریلوم لیپوفروم و B_3: تلقیح با مخلوط دو باکتری) و کود نیتروژنی (N_0:۰، N_1:۵۰، N_2:۱۰۰ و N_3:۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار) تشکیل دادند. نتایج نشان داد که تلقیح با باکتری‌ها به طور معنی‌داری سبب بهبود ارتفاع بوته، قطر ساقه اصلی، تعداد شاخه فرعی، تعداد گل در بوته، وزن خشک گل، برگ، ساقه و وزن خشک کل تک بوته گردید. این صفات در تیمارهای تلقیح با ازتوباکتر، تلقیح با آزوسپیریلوم و تلقیح با مخلوط دو باکتری از نظر آماری مشابه بودند. اثر کود نیتروژنی بر تمامی صفات (به جز تعداد شاخه فرعی) مثبت بود، ولی بین سطوح کودی ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین و کمترین تعداد و وزن گل تک بوته به ترتیب برای تلقیح با ازتوباکتر + ۵۰$kgN.ha^{-1}$ و عدم تلقیح + عدم مصرف کود نیتروژنی ثبت گردید. در مجموع، مصرف کودهای زیستی اثر مثبت و معنی‌داری بر صفات مورفولوژیک بابونه داشته است. بعلاوه با اضافه کردن ۵۰ $kgN.ha^{-1}$ کارآیی باکتری‌ها افزایش یافته و بیشترین عملکرد گل تولید شده است.

واژه های کلیدی: ازتوباکتر کروکوکوم، آزوسپیریلوم لیپوفروم ، گیاهان دارویی

مقدمه

گیاهان دارویی بخش مهمی از تنوع زیستی موجود در بسیاری از کشورهای جهان را شامل می‌شوند (Padulosi et al., 2002). بر اساس برآوردهای انجام یافته ۲۵ تا ۵۰ درصد کلیه داروهای تجویز شده در دنیا به ترکیبات فعال بیولوژیکی حاصل از گیاهان (مستقیم یا غیرمستقیم) مربوط می‌شود. این امر حاکی از ارزش اقتصادی قابل توجه گیاهان دارویی در جوامع بشری می‌باشد (Goeschl, 2002). بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی شناخته شده توسط انسان است و در تمام فارماکوپه‌های معتبر به‌عنوان یک گیاه دارویی معرفی شده و خواص درمانی گل‌های این گیاه مورد بررسی قرار گرفته است (Omidbaigi, 2008). گل‌ها و اسانس این گیاه در درمان بیماری‌های مختلف از جمله دل درد، نفخ، نقرس، سیاتیک، بی‌خوابی، درد دندان، زخم‌های معده و دستگاه گوارش، تب، سرماخوردگی و آنفلوآنزا به وفور مورد مصرف قرار می‌گیرد (Omidbaigi, 2008). محصول یک گیاه دارویی از نظر اقتصادی وقتی مقرون به صرفه است که مقدار متابولیت‌های ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد. تأثیر عوامل محیطی بر تولید مواد مؤثره گیاهان دارویی بسیار پیچیده و مبهم می‌باشد. کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی در مراحل مختلف رشد گیاه نیز متفاوت است (Omidbaigi, 2009). اگرچه کمیت و کیفیت اسانس بابونه به طور ژنتیکی کنترل می‌شود، ولی به دلیل وجود عکس العمل متقابل گیاه به شرایط محیطی، میزان مواد مؤثره یک رقم مشخص در مناطق مختلف یکسان نخواهد بود (Salamon, 1992). با انتخاب ارقام گیاهی متناسب با شرایط محیطی می‌توان به حداکثر مقدار محصول دست یافت (Omidbaigi, 2009). رویکرد جهانی در تولیدگیاهان دارویی به سمت استقرار سیستم کشاورزی پایدار و بکارگیری روش‌های مدیریتی صحیح می‌باشد. یکی از این

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب کارشناس ارشد، استاد و استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز و عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی
(*- نویسنده مسئول: Email: dastborhan.s@gmail.com)

روش‌ها، استفاده از کودهای زیستی[1] است. استفاده از کودهای زیستی از مؤثرترین شیوه‌های مدیریتی برای حفظ کیفیت خاک در سطح مطلوب محسوب می‌گردد. از طرفی تلقیح گیاهان با میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی، یکی از متدهای افزایش رشد و عملکرد گیاهان می‌باشد (Farzana & Radizah, 2005). کودهای زیستی شامل مواد نگهدارنده با جمعیت متراکم یک یا چند نوع میکروارگانیسم زنده و مفید خاکزی و یا فرآورده متابولیک حاصل از آنها می‌باشد که روی بذر، سطح گیاه یا سطح خاک به کار برده شده و ریزوسفر گیاهی را اشغال کرده و یا وارد گیاه می‌شوند و به منظور تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان، کنترل بیماری‌های خاکزاد و حفظ پایداری ساختمان خاک مورد بهره برداری قرار می‌گیرند (Manaffee & Kloepper, 1994; Vessey, 2003). استفاده از ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه[2] (PGPR) به عنوان کودهای زیستی، از پتانسیل مصرف بالایی برای انواع مختلف گیاهان زراعی و دامنه وسیعی از شرایط اقلیمی و شرایط خاکی برخوردار است (Vessey, 2003). پاسخ گیاهان زراعی به تلقیح با PGPR بسیار مثبت و معنی‌دار است و این تکنیک به سبب داشتن قیمت مناسب، از جذابیت بالایی برای کشاورزان برخوردار است (Sumner, 1990). باکتری‌های جنس ازتوباکتر و آزوسپیریلوم از مهم‌ترین باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌باشند که علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن با تولید مقادیر قابل ملاحظه‌ای از هورمون‌های محرک رشد به ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکنین، رشد و نمو و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Khalid et al., 2004; Zahir et al., 2004).

با توجه به اهمیت بابونه آلمانی و کاربرد فراوان آن در صنایع مختلف داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی و با عنایت به اثرات معنی‌دار کودهای زیستی بر صفات مختلف گیاهان (از جمله گیاهان دارویی) و با در نظر گرفتن تأثیر منفی مصرف مقادیر بالای کود نیتروژنی بر سلامت انسان و محیط زیست و لزوم مصرف مقادیر کافی کود نیتروژنی در جهت افزایش محصول، بررسی اثر توأم این کودها بر شاخص‌های رشدی بابونه آلمانی ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر کودهای زیستی و مقادیر مختلف کود نیتروژنی بر برخی شاخص‌های رشدی بابونه آلمانی، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۶ تیمار و سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در سال زراعی ۸۷-۱۳۸۶ به اجرا در آمد. ارتفاع این منطقه از سطح دریا ۱۳۶۰ متر می باشد و در ۴۶ درجه و ۱۷ دقیقه طول شرقی و ۳۸ درجه و ۳ دقیقه عرض شمالی واقع شده است. در این تحقیق هر بلوک شامل ۱۶ کرت و هر کرت با ابعاد ۱/۸ × ۴ متر شامل شش ردیف کاشت بود. فاصله بلوک‌ها از هم ۱/۵ متر و فاصله کرت‌ها از هم نیم متر در نظر گرفته شد (در هنگام آبیاری امکان اختلاط آب بین کرت‌های مختلف وجود نداشت). خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک قطعه زمین مورد نظر در جدول ۱ و میانگین دما، بارندگی و رطوبت نسبی منطقه در شش ماهه اول سال ۱۳۸۷ در جدول ۲ ارائه شده است. پیش از کاشت بذور بر اساس نیاز گیاه و نتایج تجزیه خاک، ۸۰ $kg.ha^{-1}$ سولفات پتاسیم و ۴۰ $kg.ha^{-1}$ سوپر فسفات تریپل با خاک هر کرت مخلوط گردید. بذر بابونه مورد استفاده در این تحقیق از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. کشت بابونه به صورت ردیفی و پس از مخلوط کردن بذور با ماسه بادی، در ۲۸ فروردین سال ۱۳۸۷ صورت گرفت. فاصله بین ردیف‌های کاشت ۳۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف کاشت ۱۰ سانتی متر در نظر گرفته شد. بلافاصله پس از کاشت، به آبیاری کرت‌ها اقدام شد و روی بذور توسط لایه نازکی از ماسه نرم و مرطوب پوشانده شد. فاکتورهای مورد بررسی در این تحقیق را تلقیح با ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (B_0: عدم تلقیح، B_1: تلقیح با ازتوباکتر کروکوکوم، B_2: تلقیح با آزوسپیریلوم لیپوفروم و B_3: تلقیح با مخلوط دو باکتری) و مقادیر مختلف کود نیتروژنی (N_0:۰، N_1:۵۰، N_2:۱۰۰ و N_3:۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار) تشکیل دادند. مایه تلقیح مورد استفاده در این تحقیق به صورت مایع بود که از آزمایشگاه میکروبیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهران تهیه شد. این کودها در مرحله شش برگچه‌ای بابونه و پس از ایجاد تراکم مناسب (۴۰ بوته در متر مربع) در دو نوبت (به فاصله زمانی یک هفته) و در هر نوبت ۲۵ میلی لیتر کود زیستی مربوطه (با جمعیت تقریبی 10^8 $cell.ml^{-1}$) به همراه چهار لیتر آب روی ردیف‌های کاشت اضافه شد و بلافاصله آبیاری صورت گرفت. کود نیتروژنی (از منبع اوره) در سه مرحله (همزمان با کاشت، اواسط دوره رویشی و مراحل ابتدایی گلدهی بابونه) و در هر مرحله یک سوم کود نیتروژنی مورد نظر در فاصله بین ردیف‌های کاشت اعمال شد. پس از کشت بذور بابونه تا استقرار کامل گیاهچه‌ها، آبیاری به طور مداوم صورت گرفت، به طوری که در تمام طول شبانه‌روز سطح کرت‌ها از رطوبت کافی برخوردار بود. پس از اطمینان از سبز شدن و استقرار کامل گیاهچه‌ها آبیاری هر هفت روز یکبار صورت گرفت. نمونه برداری تخریبی جهت اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک، در زمان گلدهی کامل بابونه در دو نوبت انجام شد. در هر دو مرحله (که به فواصل زمانی ۱۰ روز از هم صورت گرفت) شش بوته به صورت تصادفی از چهار ردیف وسط هر واحد آزمایش انتخاب گردید (دو ردیف کناری از هر طرف و ۵۰ سانتی‌متر از ابتدا و انتهای هر کرت به عنوان حاشیه در نظر گرفته شد).

1 - Biofertilizers
2- Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1- Physical and chemical characteristics of soil in experimental field

عمق Depth (cm)	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC ($ds.m^{-1}$)	درصد مواد خنثی شونده T.N.V (%)	درصد مواد آلی % OC	درصد ازت کل Total N (%)	عناصر قابل جذب ($mg.kg^{-1}$) Available content ($mg.kg^{-1}$)						بافت خاک (درصد) Soil structure %			
						فسفر P	پتاسیم K	مس Cu	منگنز Mn	روی Zn	آهن Fe	رس Clay	سیلت Silt	شن Sand
0-30	7.4	1.07	2	0.76	0.08	8	304	1.9	10	0.7	3.6	8	18	74

جدول ۲- میانگین دما، رطوبت نسبی و بارندگی در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷

Table 2- Average values of temperature, relative humidity and rainfall during 2007-2008

ماه Month	دما Temperature (ºC)		رطوبت نسبی Relative humidity (%)		بارندگی Rainfall (mm)
	حداقل Min	حداکثر Max	حداقل Min	حداکثر Max	
20 MAR - 19 APR (فروردین)	5.0	19.5	28.0	70.0	0.08
20 APR - 20 MAY (اردیبهشت)	6.3	22.0	21.4	68.7	0.20
21 MAY – 20 JUN (خرداد)	10.8	27.6	19.9	66.5	0.00
21 JUN – 21 JUL (تیر)	15.3	30.8	23.3	65.9	0.54
22 JUL - 21 AUG (مرداد)	17.5	34.0	20.0	46.0	0.09
22 AUG – 21 SEP (شهریور)	12.8	30.3	21.9	72.8	0.40

در نهایت پس از اندازه‌گیری ارتفاع بوته (توسط خط‌کش)، قطر ساقه (توسط کولیس)، قطر کاپیتول (توسط کولیس) و شمارش تعداد ساقه‌های اصلی، تعداد شاخه‌های فرعی و تعداد کاپیتول در بوته، هر بوته به سه جزء شامل برگ، ساقه و کاپیتول تقسیم شدند. جهت تعیین وزن خشک، اندام‌های مختلف در آون ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند و سپس توزین گردیدند. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC صورت گرفت. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال مربوطه (یک درصد یا پنج درصد) استفاده گردید. از نرم افزار EXCEL جهت رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج و بحث

اثر ریزوباکتری‌های محرک رشد بر خصوصیات رشدی بابونه

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش (جدول ۳ و ۴) در نتیجه تلقیح با باکتری‌ها میانگین ارتفاع بوته ۸/۶–۳ درصد، قطر ساقه ۱۰/۶–۶/۵ درصد، تعداد شاخه فرعی ۱۴–۵ درصد، تعداد گل در بوته ۲۰–۱۳/۵ درصد، وزن گل ۲۶/۳–۲۰/۲ درصد، وزن ساقه ۲۹/۱–۲۴/۴ درصد، وزن برگ ۲۴/۷–۱۹/۲ درصد و وزن خشک کل تک بوته ۲۶/۸–۲۴/۲ درصد افزایش در مقایسه با تیمار شاهد (عدم تلقیح) نشان دادند. در هیچ یک از صفات مذکور بین تیمارهای تلقیح با ازتوباکتر کروکوکوم (B_1)، آزوسپیریلوم لیپوفروم (B_2) و مخلوط دو باکتری (B_3) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴). اثر تلقیح با باکتری‌ها روی تعداد ساقه اصلی و قطر کاپیتول معنی‌دار نبود (جدول ۳). با توجه به نتایج به دست آمده، اثرات مثبت ازتوباکتر و آزوسپیریلوم را می‌توان به تثبیت زیستی نیتروژن، تولید و ترشح هورمون‌های محرک رشد گیاه و سایر مکانیسم‌های مؤثر در فعالیت این باکتری‌ها نسبت داد. جیبرلین‌ها سبب افزایش رشد طولی سلول‌ها شده و اکسین‌ها تقسیم سلولی را افزایش می‌دهند (Vessey, 2003) و بدین ترتیب این باکتری‌ها می‌توانند در افزایش ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد برگ، وزن خشک بخش‌های مختلف گیاه و در نتیجه تولید بیشتر محصول مؤثر باشند. از طرفی تولید هورمون‌های محرک رشد توسط این باکتری‌ها سبب توسعه سیستم ریشه‌ای گشته و حجم خاکی که توسط ریشه اشغال می‌شود را افزایش می‌دهند، این امر موجب افزایش جذب آب و مواد غذایی از خاک می‌شود (Bhattarai & Hess, 1993; Kader et al., 2002) که در نهایت بهبود شاخص‌های رشدی بابونه را به دنبال دارد. فلاحی و همکاران (Fallahi et al., 2009) در بررسی اثر کودهای زیستی بر صفات مورفولوژیک بابونه آلمانی (تعداد شاخه اصلی، تعداد گل آذین در بوته، قطر گل، عملکرد گل تر و خشک) به نتایج مشابهی دست یافتند. نتایج تحقیق یوسف و همکاران (Youssef et al., 2004) حاکی از

آن است که مصرف کود زیستی (حاوی آزوسپیریلوم و ازتوباکتر) در گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)، سبب افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه گردیده است. در بررسی اثر ترکیبی از کودهای زیستی بر ارتفاع گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) نتایج مشابهی به دست آمده است (Shaalan et al., 2005; Khorramdel et al., 2008). نتایج بررسی شالان و همکاران (Shaalan et al., 2005) نشان داد که مصرف کودهای زیستی نظیر ازتوباکتر، آزوسپیریلوم و سودوموناس به افزایش تعداد شاخه جانبی و تعداد کپسول در گیاه دارویی سیاهدانه منجر می‌شود. کوچکی و همکاران (Koocheki et al., 2008) گزارش کردند که در نتیجه کاربرد کودهای زیستی، قطر ساقه و وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) افزایش یافت، ولی ارتفاع بوته تحت تأثیر کودهای زیستی قرار نگرفت. نتایج تحقیق راتی و همکاران (Ratti et al., 2001) حاکی از آن است که ترکیب نوعی قارچ اندومیکوریزا با ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه از جمله باسیلوس و آزوسپیریلوم، به افزایش بیوماس و میزان فسفر در گیاه دارویی علف لیمو (*Cymbopogon martini* L.) منجر می‌گردد.

اثرکود نیتروژن بر خصوصیات رشدی بابونه

با افزایش میزان مصرف کود نیتروژنی تمامی صفات مورد بررسی (به جز تعداد شاخه فرعی) افزایش نشان دادند. این افزایش بین سطوح کودی ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار از نظر آماری معنی‌دار نبود. در تمامی صفات، کم‌ترین مقدار به تیمار شاهد (عدم مصرف کود نیتروژنی) تعلق داشت (جدول ۵). شرکت نیتروژن در ساختار ماکرومولکول‌هایی نظیر پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و اسیدهای نوکلئیک را می‌توان از جمله عوامل مؤثر در افزایش وزن تر و خشک بوته در نتیجه مصرف کودهای نیتروژنی محسوب کرد (Niakan et al., 2004). با توجه به اینکه نیتروژن از یک سو نقشی اساسی در ساختمان کلروفیل داشته و از سوی دیگر مهم‌ترین عنصر در سنتز پروتئین‌ها می‌باشد و افزایش آن در شرایط مطلوب تا حد مشخصی موجب افزایش میزان پروتئین می‌گردد، لذا با افزایش میزان پروتئین درگیاه، سطح برگ، تعداد شاخه فرعی، ارتفاع و قطر ساقه بیشتر می‌شود و در نتیجه میزان مواد فتوسنتزی افزایش می‌یابد (Rahmani et al., 2008). در بررسی اثر سطوح مختلف کود نیتروژنی بر صفات مورفولوژیک بابونه آلمانی گزارش شده است که اثر کود نیتروژنی بر ارتفاع گیاه، تعداد شاخه گل دهنده، تعداد ساقه اصلی و وزن خشک گل در بوته معنی‌دار نمی‌باشد، ولی با افزایش میزان مصرف کود نیتروژنی، تعداد گل در بوته افزایش نشان داده است (Zeinali et al., 2008). افزایش تعداد ساقه اصلی در گیاه بابونه در نتیجه افزایش میزان مصرف کود نیتروژنی توسط لتچامو و ومل (Letchamo & Vomel, 1989) نیز گزارش شده است. یک بررسی دیگر هم اثر مثبت و معنی‌دارکود نیتروژنی بر تعداد گل در گیاه دارویی بابونه را تأیید می‌نماید (Mirshekari et al., 2007). در مطالعه صورت گرفته توسط جوری و همکاران (Johri et al., 1992) بهترین مقدار کود نیتروژن جهت حصول عملکرد مطلوب در بابونه، ۶۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار عنوان شده است. افزایش قطر طبق در گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) در نتیجه افزایش میزان مصرف کود نیتروژنی توسط رحمانی و همکاران (Rahmani et al., 2008) گزارش شده است. در بررسی اثر سطوح مختلف کود نیتروژنی (صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار) بر عملکرد گیاه دارویی گل محمدی (*Rosa damascene* Mill.)، مصرف مقادیر بالای کود نیتروژنی به کاهش معنی‌دار قطر و تعداد گل برداشت شده از بوته‌ها منجرگردید که این موضوع اهمیت دقت در مصرف کودها را بیش از پیش آشکار می سازد (Daneshkhah et al., 2007).

اثر ترکیبی PGPR و کود نیتروژنی بر عملکرد بابونه

دو صفت مهم و تعیین کننده در عملکرد بابونه یعنی تعداد گل و وزن خشک گل علاوه بر اثرات اصلی، تحت تأثیر اثر ترکیبی تلقیح با ریزوباکتری‌ها و کود نیتروژنی قرار گرفتند (جدول ۳). در هر دو صفت بیشترین میزان به ترکیب تیماری B_1N_1 (تلقیح با ازتوباکتر + مصرف ۵۰ $kgN.ha^{-1}$) و کمترین مقدار به ترکیب تیماری B_0N_0 (عدم تلقیح + عدم مصرف کود نیتروژنی) تعلق داشت (شکل ۱ و ۲). بیشترین اختلاف بین تیمار B_0 (عدم تلقیح) و سایر سطوح تلقیح با ریزوباکتری‌ها در نتیجه مصرف ۵۰ $kgN.ha^{-1}$ به دست آمد. در نتیجه تلقیح با باکتری‌ها و مصرف ۵۰ $kgN.ha^{-1}$، تعداد گل در بوته در مقایسه با تیمار B_0N_1 (عدم تلقیح + مصرف ۵۰ $kgN.ha^{-1}$) ۸۹/۹–۵۹/۴ درصد افزایش نشان داد. این افزایش در مورد صفت وزن گل تک بوته ۱۰۱/۲–۵۷/۲ درصد بود. در صورتی که در نتیجه مصرف مقادیر بالاتر کود نیتروژنی (۱۰۰ یا ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار)، اختلاف بین تیمار B_0 (عدم تلقیح) و سایر تیمارهای تلقیح با باکتری به اندازه مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار نبود و حتی در مواردی سبب کاهش تعداد گل و وزن گل خشک تک بوته شده است. به عبارت بهتر مصرف مقادیر بالای کود نیتروژنی، کارایی باکتری‌ها را کاهش داده است. طی مطالعه‌ای دی‌فریتاس و ژرمیدا (De Freitas & Germida, 1990) پیشنهاد کردند که مصرف PGPR ها در خاک‌هایی با حاصلخیزی کمتر، رشد گیاهان را بیشتر تحریک می‌کنند. هرگونه تغییر در عناصر معدنی خاک می‌تواند تعداد باکتری در ریزوسفر را تحت تأثیر قرار دهد (Marschner et al., 1999). مقایسه اثر تلقیح با باکتری‌ها در سطوح مختلف کود نیتروژنی

نشان داده است که اثرات بسیار چشمگیر تلقیح با باکتری‌ها روی رشد و عملکرد گیاهان مختلف، از سطوح پایین به متوسط کودهای نیتروژنی حاصل می‌شود (Okon, 1985). همچنین گزارش شده، تحریک رشد گیاه توسط آزوسپیریلوم تنها در شرایط محدودیت نیتروژن وجود دارد (Fallik & Okon, 1996; Dobbelaere et al., 2001). با این وجود در دیگر موارد افزایش در تحریک رشد گیاه، پس از افزودن کودها مشاهده شده است (Okon & Labandera-Gonzalez, 1994). استفاده از کودهای معدنی در خاک بر تعداد ازتوباکتر مؤثر است به طوری که افزودن کودهای نیتروژنی به خاک رشد ازتوباکتر را محدود می‌کند، اما افزودن کودهای فسفاته سبب تسریع رشد باکتری‌ها می‌شود (Haller & Stolp, 1985; Astaraii & Koocheeki, 1996). در تحقیقی که روی گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.) انجام گرفت، مشاهده شد که بیشترین تعداد شاخه در بوته، وزن تر و خشک گیاه زمانی حاصل می‌شود که ترکیبی از باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم، آزوسپیریلوم لیپوفروم و باسیلوس مگاتریوم همراه با نصف مقدار توصیه شده کودهای NPK مورد استفاده قرار گیرد (Mahfouz & Sharaf-Eldin, 2007). بر اساس گزارش عبدالعزیز و همکاران (Abdelaziz et al., 2007)، با کاربرد توأم کمپوست، ازتوباکتر کروکوکوم (تثبیت کننده نیتروژن) و باسیلوس مگاتریوم (باکتری حل کننده فسفات)، ارتفاع گیاه، تعداد شاخه، بیوماس تک بوته و تعداد گل در گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) در مقایسه با گیاهانی که فقط با کودهای معدنی پر مصرف (NPK) تیمار شده بودند، به طور معنی‌داری افزایش نشان می‌دهد. در بررسی دیگری کندیل و همکاران (Kandeel et al., 2002) نیز دریافتند که تلقیح با مخلوط ازتوباکتر و آزوسپیریلوم همراه با نصف یا کل میزان کود نیتروژنی غیر آلی، وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum bacilicum* L.) را افزایش می‌دهد.

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تلقیح با باکتری و کود نیتروژن بر صفات مورفولوژیک بابونه آلمانی

Table 3- Analysis of variance (mean square) of effect of inoculation with bacteria and nitrogen fertilizer on morphological traits in german chamomile

منابع تغییر Sources of variance	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height	قطر ساقه Stem diameter	تعداد ساقه اصلی Number of main stem	تعداد شاخه فرعی Number of lateral branches	قطر کاپیتول Capitul diameter	تعداد گل در بوته Flowers per plant	وزن گل تک بوته Dry weight of flowers	وزن ساقه تک بوته Dry weight of stem	وزن برگ تک بوته Dry weight of leaf	وزن خشک تک بوته Total dry weight per plant
تکرار Replication	2	32.89 *	0.35 *	0.00 ns	4.42 *	0.00 ns	31.49 ns	0.01 ns	0.12 *	0.05 **	0.16 *
باکتری Bacteria	3	25.76 *	0.40 **	0.15 ns	5.51 **	0.03 ns	107.43 **	0.03 **	0.11 *	0.03 *	0.16 *
نیتروژن Nitrogen	3	86.47 **	0.95 **	0.66 **	2.70 ns	0.15 *	539.90 **	0.11 **	0.55 **	0.28 **	0.92 **
B×N	9	7.98 ns	0.09 ns	0.14 ns	1.41 ns	0.05 ns	124.41 **	0.02 **	0.04 ns	0.01 ns	0.06 ns
اشتباه آزمایش Error	30	7.72	0.09	0.07	1.19	0.05	25.42	0.01	0.04	0.01	0.04
ضریب تغییرات % CV	----	6.51	6.73	16.12	9.44	3.14	13.17	7.36	11.70	10.13	9.87

ns: غیر معنی دار * معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد ** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

ns: not significant * : significant at $p\leq0.05$ ** : significant at $p\leq0.01$

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر تلقیح با باکتری بر صفات مورفولوژیک بابونه آلمانی

Table 4- Effect of inoculation with bacteria on morphplogical traits of german chamomile

تلقیح با باکتری Inoculation with bacteria	ارتفاع بوته Plant height (cm)	قطر ساقه Stem diameter (mm)	تعدادشاخه فرعی Number of lateral branches	تعداد گل در بوته Flowers per plant	وزن گل تک بوته Dry weight of flowers (g)	وزن ساقه تک بوته Dry weight of stem(g)	وزن برگ تک بوته Dry weight of leaf (g)	وزن خشک تک بوته Total dry weight per plant (g)
عدم تلقیح no-inoculation	41.04 b*	4.09 b	10.74 b	34.03 b	0.74 b	2.20 b	0.79 b	3.74 b
Azotobacter chroocuccum	42.27 ab	4.36 ab	11.28 ab	39.54 ab	0.93 a	2.84 a	0.96 a	4.74 a
Azospirillum lipoferum	42.89 ab	4.39 ab	11.97 ab	40.95 a	0.93 a	2.74 a	0.99 a	4.67 a
مخلوط دو باکتری Mixture of two bacteria	44.56 a	4.53 a	12.24 a	38.61 ab	0.89 a	2.80 a	0.95 a	4.64 a

*حروف غیر مشابه در هر ستون نشانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن می باشد.

*Values followed by different letters in each column were significantly different at p≤0.05 using Duncan's multiple range test.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر کود نیتروژن بر صفات مورفولوژیک بابونه آلمانی

Table 5- Mean comparison of nitrogen fertilizer on morphplogical traits of german chamomile

کود نیتروژنی Nitrogen fertilizer ($kgN.ha^{-1}$)	ارتفاع بوته Plant height (cm)	قطر ساقه Stem diameter (mm)	تعداد ساقه اصلی Number of main stem	قطر کاپیتول Capitul diameter (mm)	تعداد گل در بوته Flowers per plant	وزن گل تک بوته Dry weight of flowers (g)	وزن ساقه تک بوته Dry weight of stem (g)	وزن برگ تک بوته Dry weight of leaf (g)	وزن خشک تک بوته Total dry weight per plant (g)
0	39.05 b*	3.98 b	1.81 b	6.92 b	28.39 b	0.64 b	1.77 b	0.56 c	2.98 c
50	42.47 a	4.27 ab	2.94 a	7.00 ab	40.76 a	0.89 a	2.67 a	0.93 b	4.50 b
100	43.95 a	4.53 a	3.16 a	7.08 ab	40.65 a	0.92 a	2.85 a	1.04 ab	4.82 ab
150	45.28 a	4.60 a	3.57 a	7.19 a	43.32 a	1.06 a	3.39 a	1.23 a	5.68 a

*حروف غیر مشابه در هر ستون نشانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن می باشد.

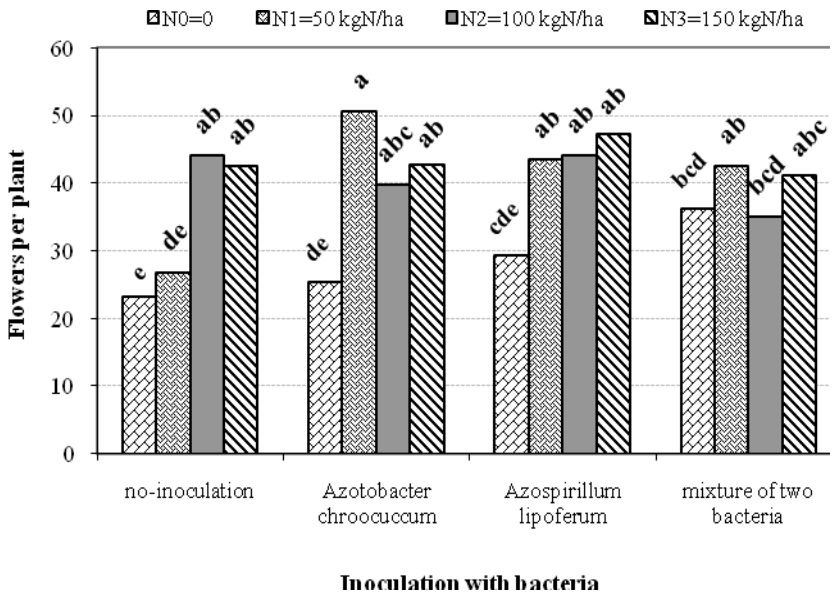
*Values followed by different letters in each column are significantly different at p≤0.05 using Duncan's multiple range test.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده با مصرف ۵۰ $kgN.ha^{-1}$ و تلقیح با باکتری‌ها تمامی شاخص‌های رشدی بابونه بهبود یافته و در نهایت حداکثر عملکرد گل تولید شده است، این درحالی است که افزایش میزان مصرف کود نیتروژنی در مواردی باعث کاهش اثرات مثبت ریزوباکتری‌های محرک رشد مورد بررسی شده است. از طرفی مشاهده شد در صورت عدم تلقیح با باکتری‌ها، برای داشتن عملکرد بالا باید حداقل ۱۰۰ $kgN.ha^{-1}$ مصرف شود که ضمن افزایش هزینه تولید، آلودگی زیست محیطی را نیز در پی خواهد داشت.

سپاسگزاری

از داوران محترم که پیشنهادهای ارزنده‌ی ایشان سهم بسزایی در بهبود کیفیت این مقاله داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

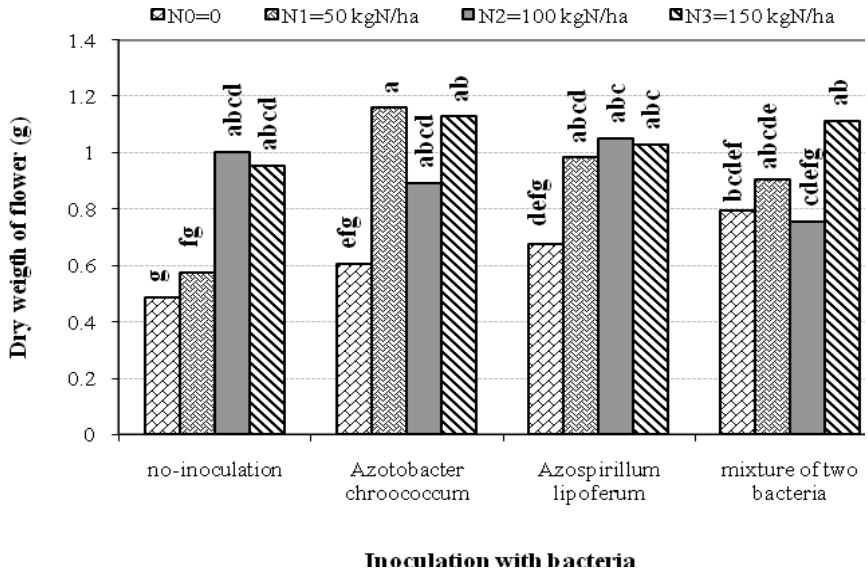


شکل ۱- اثر ترکیبی تلقیح با باکتری و کود نیتروژن بر تعداد گل در بوته بابونه آلمانی

Fig. 1- Combined effects of inoculation with bacteria and nitrogen fertilizers on number of flowers per plant in german chamomile

حروف غیر مشابه نشانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد بر اساس آزمون دانکن می باشد.

Values followed by different letters were significantly different (p ≤0.01), using Duncan's multiple range test.



شکل ۲- اثر ترکیبی تلقیح با باکتری و کود نیتروژن بر وزن گل تک بوته بابونه آلمانی

Fig. 2- Combined effects of inoculation with bacteria and nitrogen fertilizers on dry weight of flower in german chamomile

حروف غیر مشابه نشانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد بر اساس آزمون دانکن می باشد.

Values followed by different letters were significantly different (p ≤0.01), using Duncan's multiple range test.

منابع

1- Abdelaziz, M., Pokluda, R., and Abdelwahab, M. 2007. Influence of compost, microorganism and NPK fertilizer upon growth, chemical composition and essential oil production of *Rosmarinus officinali*s L. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 35: 86-90.

2- Astaraii, A.R., and Koocheki, A. 1996. Biofertilizers in (Sustainable) Agriculture. (Eds.), Jahade Daneshgahie Mashhad Publications, 168 p. (In Persian)

3- Bhattarai, T., and Hess, D. 1993. Yield responses of Nepalese spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to inoculation with *Azospirillum* spp. of Nepalese origin. Plant and Soil 151: 67-76.
4- Daneshkhah, M., Kafi, M., Nikbakht, A., and Mirjalili, M.H. 2007. Effects of different levels of nitrogen and potassium fertilizers on flower yield and essential oil content of *Rosa damascene* Mill. from Barzok of Kashan. Iranian Journal of Horticultural Science Technology 8(2): 83-90. (In Persian with English Summary)
5- De Freitas, J.R., and Germida, J.J. 1990. Plant growth promoting rhizobacteria for winter wheat. Canadian Journal of Microbiology 36: 264-272.
6– Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Vanderleyden, J., Dutto, P., Labandera-Gonzalez, C., Caballero-Mellado, J., Aguirre, J.F., Kapulnik, Y., Brener, S., Burdman, S., Kadouri, D., Sarig, S., and Okon, Y. 2001. Response of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. Australian Journal of Plant Physiology 28: 871-879.
7- Fallahi, J., Koocheki, A., and Rezvani-Moghaddam, P. 2009. Effects of biofertilizers on quantitative and qualitative yield of chamomile (*Matricaria recutita*) as a medicinal plant. Iranian Journal of Agricultural Research 7(1): 127-135. (In Persian with English Summary)
8– Fallik, E., and Okon, Y. 1996. The response of maize (*Zea mays*) to *Azospirillum* inoculation in various types of soils in the field. World Journal of Microbiology and Biotechnology 12: 511-515.
9- Farzana, Y., and Radizah, O. 2005. Influence of rhizobacterial inoculation on growth of the sweetpotato cultivar. OnLine Journal of Biological Science 1(3): 176-179
10- Goeschl, T. 2002. Stakes in the evolutionary race: the economic value of plants for medicinal application. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants 9: 373-388.
11- Haller, T., and Stolp, H. 1985. Quantitative estimation of root exudation of maize plants. Plant and Soil 86: 207-216.
12- Johri, A.K., Srivastava, L.J., Singh, J.M., and Rana, R.C. 1992. Effect of time planting on German chamomile (*Matricaria recutita* L.). Indian Journal of Agronomy 32: 302-304.
13- Kader, M.A., Main, M.H., and Hoque, M.S. 2002. Effects of *Azotobacter* inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. OnLine Journal of Biological Science 2: 259-261.
14– Kandeel, A.M., Naglaa, S.A.T., and Sadek, A.A. 2002. Effect of biofertilizers on the growth, volatile oil yield and chemical composition of *Ocimum bacilicum* L. plant. Annals of Agricultural Science 47: 351-371.
15- Khalid, A., Arshad, M., and Zahir, A.Z. 2004. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. Journal of Applied Microbiology 96: 473-480.
16- Khorramdel, S., Koocheki, A.R., Nassiri-Mahallati, M., and Ghorbani, R. 2008. Application effects of biofertilizers on the growth indices of black cumin (*Nigella sativa* L.). Iranian Journal of Agricultural Research 6(2): 285-294. (In Persian with English Summary)
17- Koocheki, A., Tabrizi, L., and Ghorbani, R. 2008. Effect of biofertilizers on agronomic and quality criteria of Hyssop (*Hyssopus officinalis*). Iranian Journal of Agricultural Research 6(1): 127-137. (In Persian with English Summary)
18- Letchamo, W., and Vomel, A. 1989. The relationship between ploidy levels and certain morphological characteristics of *chamomilla recutita*. Planta Medica 55: 527-528.
19– 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). Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences 21: 361-366.
20- Manaffee, W.F., and Kloepper, J.W. 1994. Applications of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture. Pankburst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R., and Grace, P.R., (eds.) In: Soil biota management in sustainable farming systems. pp: 23-31, CSiRO, Pub East Melbourne, Australia.
21- Marschner, P., Gerendas, J., and Sattelmacher, B. 1999. Effect of N concentration and N source on root colonization by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 RLI. Plant and Soil 215: 135-141.
22- Mirshekari, B., Darbandi, S., and Ejlali, L. 2007. Effect of irrigation intervals, nitrogen rate and nitrogen splitting on essence of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Crop Science 9(2):142-156. (In Persian with English Summary)
23- Niakan, M., Khavarynejad, R.A., and Rezaee, M.B. 2004. Effect of different rates of N/P/K fertilizer on leaf fresh weight, dry weight, leaf area and oil content in *Mentha piperita* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 20(2): 131-148. (In Persian with English Summary)
24- Okon, Y. 1985. *Azospirillum* as a potential inoculant for agriculture. Trends in Biotechnology 3: 223-228.
25– Okon, Y., and Labandera-Gonzalez, C.A. 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. Soil Biology and Biochemistry 26: 1591-1601.
26- Omidbaigi, R. 2008. Production and processing of medicinal plants. Volume 3, 5th edition, Beh Nashr (Astane Ghodse Razavi Publications), 397 p. (In Persian)
27- Omidbaigi, R. 2009. Production and processing of medicinal plants. Volume 1, 5th edition, Beh Nashr (Astane Ghodse Razavi Publications), 347 pp. (In Persian)
28- Padulosi, S., Leaman, D., and Quek, P. 2002. Challenges and opportunities in enhancing and conservation and use

of medicinal and aromatic plants. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants 9: 243-267.
29- Rahmani, N., Valadabadi, A.R., Daneshian, J., and Bigdeli, M. 2008. The effects of water deficit stress and nitrogen on oil yield of *Calendula officinalis* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 24(1): 101-108. (In Persian with English Summary)
30– Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N., and Gautams, S.P. 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martini* var. motia by *Rhizobacteria*, AMF and *Azospirillum* inoculation. Microbiology Research 156: 145-149.
31- Salamon, I. 1992. Chamomile a medicinal plant. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants 10: 1-4.
32- 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.
33- Sumner, M.E. 1990. Crop responses to *Azospirillum* inoculation. In: Stewart, B.A. (ed.), Advances in Soil Sciences 12: 53-123.
34- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil 255: 571-586.
35- Youssef, A.A., Edris, A.E., and Gomaa, A.M. 2004. A comparative study between some plant growth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of *Salvia officinalis* L. Plant Annals of Agricultural Science 9: 299-311.
36- Zahir, A.Z., Arshad, M., and Frankenberger, W.F. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy 81: 97-168.
37- Zeinali, H., Bagheri-Kholanjani, M., Golparvar, M.R., Jafarpour, M., and Shirani-Rad, A.H. 2008. Effect of different planting time and nitrogen fertilizer rates on flower yield and its components in German chamomile (*Matricaria recutita*). Iranian Journal of Crop Science 10(3): 220-230. (In Persian with English Summary)