

بررسی اثر کودهای زیستی بر برخی ویژگی‌های کمی و کیفی گل همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.)

مهتاب صالحی^۱، شادی جلاوند^۲، سمانه نثاری^۳

۱. استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، مجتمع آموزش عالی نهاوند، همدان، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، مجتمع آموزش عالی نهاوند، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۳

چکیده

استفاده از کودهای زیستی و تغذیه متعادل گیاه به عنوان مهم‌ترین عوامل حاصلخیزی خاک، از اولویت‌های اصلی کشاورزی پایدار است. به منظور بررسی اثر کودهای زیستی بر برخی خصوصیات کمی و کیفی گل همیشه‌بهار، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۴ تیمار شامل "ازتوباکتر"، "آزوسپیریوم"، "سودوموناس"، "تیوباسیلوس"، "ازتوباکتر + آزوسپیریوم"، "ازتوباکتر + سودوموناس"، "آزوسپیریوم + تیوباسیلوس"، "آزوسپیریوم + سودوموناس"، "ازتوباکتر + تیوباسیلوس + سودوموناس"، "ازتوباکتر + آزوسپیریوم + سودوموناس"، "ازتوباکتر + تیوباسیلوس + سودوموناس"، "ازتوباکتر + آزوسپیریوم + سودوموناس + تیوباسیلوس" و سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه بوعلی سینا - مجتمع آموزش عالی نهاوند در سال ۱۴۰۲ انجام شد. نتایج نشان داد که بالاترین میزان فنل (۱/۸۶ میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره) و فلاونوئید (۵/۵۴ میلی گرم روتین بر گرم عصاره) در تیمار ترکیبی تیوباسیلوس و ازتوباکتر به دست آمد. بیشترین قطر ساقه (۱۷/۴۸ میلی متر) در تیمار ترکیبی ازتوباکتر و سودوموناس ایجاد شد. بیشترین قطر طبق (۱۵/۱۹ میلی متر) در تیمار سودوموناس به دست آمد. بیشترین ارتفاع بوته (۲۸ سانتی متر) با کاربرد کود زیستی ازتوباکتر ایجاد شد. بیشترین تعداد شاخه فرعی، تعداد گل در بوته، وزن تر و خشک گل در تیمار ترکیبی آزوسپیریوم و سودوموناس به دست آمد. در نهایت می‌توان گفت کاربرد کودهای زیستی علاوه بر بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی گل همیشه‌بهار، راهکاری مؤثر در راستای دستیابی به اهداف کشاورزی پایدار می‌باشد.

کلیدواژگان: تلقیح باکتری، فلاونوئید، فنل، کشاورزی پایدار، گیاه دارویی

مقدمه

مانند فسفر، آهن و روی، سبب افزایش عملکرد گیاه می‌شود (Besharati *et al.*, 2007).

همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) گیاهی معطر و یکساله از خانواده کاسنی (Asteraceae) است. گل‌های این گیاه به رنگ زرد و نارنجی و حاوی اسانس، فلاونوئید، ساپونین و کاروتنوئید بوده و دارای اثرات درمانی ضدالتهاب، التیام زخم، میکروب‌کشی و ضدتشنج است (Khalid *et al.*, 2006). امروزه مواد مؤثره همیشه‌بهار در درمان بیماری‌های پوستی و التهابی کاربرد فراوانی دارد (Soltani *et al.*, 2014). از آنجاکه رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کمیت و کیفیت و سلامت ماده مؤثره می‌باشد، بنابراین به نظر می‌رسد که تغذیه سالم این گیاهان از طریق کاربرد کودهای زیستی، دارای بیشترین تطابق با اهداف تولید گیاهان دارویی باشد و منجر به بهبود عملکرد کمی و کیفی آنها شود (Kapoor *et al.*, 2004; Khaosaad *et al.*, 2006). استفاده از کود زیستی حاوی آزوسپیریلوم و ازتوباکتر، در گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) سبب افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام‌های هوایی در چین‌های اول و دوم طی دو فصل گردید (Youssef *et al.*, 2004). تیمار گیاهچه‌های گیاه دارویی پروانش با سودوموناس، باعث افزایش عملکرد زیست توده و میزان آلکالوئید گردید (Jaleel *et al.*, 2007). براساس گزارش Fallahi و همکاران (۲۰۰۹)، بیشترین وزن تر و خشک گل بابونه در تیمارهای نیتروکسین و باکتری حل‌کننده فسفات به دست آمد. نتایج حاصل از مطالعه سانچز گوین و همکاران (۲۰۰۵) در کشور کوبا که به بررسی اثر کودهای زیستی روی دو گیاه دارویی بابونه و همیشه‌بهار پرداختند، بیانگر آن بود که کاربرد این کودها در همیشه‌بهار، باعث افزایش عملکرد گل و بهبود کیفیت دارویی شد؛ در حالی که در بابونه باعث افزایش عملکرد گل شد اما بر کیفیت اثری نداشت. فاتما و همکاران (۲۰۰۶) در آزمایش گلخانه‌ای در مصر روی گیاه مرزنجوش (*Majorana hortensis* L.) نشان دادند که کودهای زیستی شامل ازتوباکتر، آزوسپیریلوم و باکتری‌های حل‌کننده فسفات روی شاخص‌های رشدی و میزان اسانس آن و نیز روی اثرات اسانس بر باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی، قارچ‌ها و مخمرها اثرات قابل توجهی دارد. براساس نتایج مطالعه Darzi و همکاران (۲۰۰۸) روی گیاه رازیانه، کود زیستی بیوفسفات، روی ارتفاع و عملکرد

کیفیت خاک نه تنها به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن وابسته است، بلکه ارتباط بسیار نزدیکی با خصوصیات زیستی آن دارد (Ebhin Masto *et al.*, 2006). تعداد زیادی از گونه‌های باکتریایی و قارچی خاک، دارای روابط کارکردی با گیاهان بوده و اثرات مفیدی بر رشد آنها دارند (Vessey, 2003). در حال حاضر کودهای زیستی به عنوان گزینه جایگزین برای کودهای شیمیایی، به منظور افزایش حاصلخیزی خاک در تولید محصولات در کشاورزی پایدار مطرح شده‌اند (Wu *et al.*, 2005). کودهای زیستی درحقیقت شامل انواع مختلف ریزموجودات آزادی بوده (Chen, 2006; Vessey, 2003) که توانایی تبدیل عناصر غذایی اصلی را از فرم غیرقابل دسترس به فرم قابل دسترس، طی فرایندهای زیستی داشته (Rajendran and Devaraj, 2004; Vessey, 2003) و منجر به توسعه سیستم ریشه‌ای و جوانه‌زنی بهتر بذرها می‌گردند (Chen, 2006). امروزه کودهای زیستی به دلیل حمایت از سیستم‌های کشاورزی پایدار، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (Rahmani Samani *et al.*, 2019). این کودها می‌توانند با افزایش حاصلخیزی خاک و تسهیل تحرک عناصر غذایی در خاک، کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی را تحت تأثیر قرار دهند (Bücking and Kafle, 2015). آزوسپیریلوم و ازتوباکتر در محیط ریشه گیاه، توانایی ساخت و ترشح مواد زیستی فعال مانند ویتامین‌های B، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتنیک، بیوتین، اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و غیره را دارند که در افزایش رشد ریشه، نقش مؤثری دارند (Kader, 2002). سودوموناس از باکتری‌های حل‌کننده فسفات بوده و از طریق سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌هایی که اتیلن را تنظیم می‌کنند، سبب تحریک رشد گیاه می‌گردد (Jaleel *et al.*, 2007; Tilak *et al.*, 2005). اثر هم‌افزایی باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریلوم بر گیاه، از طریق افزایش جذب عناصر غذایی، تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه نظیر اکسین و اثر بر مورفولوژی ریشه در شرایط تنش شوری به اثبات رسیده است (Rai and Gaur, 2001).

باکتری تیوباسیلوس از طریق اکسیداسیون گوگرد و افزایش قابلیت دسترسی آن و جذب بیشتر عناصر غذایی

+ ازتوباکتر"، "ازتوباکتر + آزوسپیریلوم + تیوباسیلوس"، "ازتوباکتر + آزوسپیریلوم + سودوموناس"، "ازتوباکتر + آزوسپیریلوم + سودوموناس + تیوباسیلوس"، "ازتوباکتر + آزوسپیریلوم + سودوموناس + تیوباسیلوس" و سه تکرار در گلخانه دانشگاه بوعلی سینا - مجتمع آموزش عالی نهاوند در سال ۱۴۰۲ انجام شد. بذر همیشه بهار از مؤسسه پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. کودهای زیستی با جمعیت تقریبی 10^8 باکتری در هر گرم مایه تلقیح، از مؤسسه خاک و آب کرج تهیه و با کمک صمغ عربی و با توجه به نوع تیمار مورد نظر با بذرها مخلوط شدند. به منظور عدم کاهش جمعیت باکتری‌ها، بلافاصله کشت بذرها در اول اردیبهشت ۱۴۰۲ انجام شد. میانگین بیشترین دمای گلخانه ۳۵ درجه و کمترین دما ۲۰ درجه بود. میزان روشنایی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. گلدان‌ها با خاک زراعی پر شد. برای اطلاع از وضعیت فیزیکیوشیمیایی خاک، اقدام به نمونه برداری از خاک مذکور گردید. نتایج آزمون خاک در جدول ۱ آمده است. وزن خاک گلدان‌ها ۳ کیلوگرم و ابعاد گلدان‌ها ۳۰ (قطر دهانه) \times ۲۲ (ارتفاع) سانتی‌متر بود. پس از آماده‌سازی گلدان‌ها، در هر گلدان، ۱۰ عدد بذر کاشته شد. بعد از استقرار کامل بوته‌ها، تعداد گیاهان به ۵ عدد بوته در هر گلدان تنک گردید. برداشت گل‌ها از اوایل مردادماه شروع شد و تا آبان ماه ادامه داشت. پس از برداشت صفاتی مانند ارتفاع گیاه، قطر ساقه، قطر طبق گل، تعداد شاخه‌های جانبی، تعداد گل در بوته و وزن تر و خشک گل اندازه‌گیری شد. سپس گل‌ها در سایه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو هفته خشک و برای اندازه‌گیری محتوای فنل و فلاونوئید به آزمایشگاه ارسال شدند. به منظور عصاره‌گیری از گیاه، از روش ازکان و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد؛ به این صورت که مقدار ۱۵ گرم از گل‌های پودر شده، در یک بالن درب‌دار ریخته شد و ۱۵۰ میلی‌لیتر متانول به آن اضافه گردید. عصاره‌گیری به مدت ۲ ساعت با استفاده از دستگاه اولتراسونیک انجام شد (۱۵ دقیقه عصاره‌گیری، ۱۵ دقیقه استراحت به دستگاه، در مجموع این فرایند ۴ ساعت به طول انجامید). با استفاده از قیف بوخنر و کاغذ صافی، عصاره صاف گردید. عصاره صاف شده با دستگاه تبخیرکننده دوار در دمای زیر ۴۰ درجه، تغلیظ و دوباره توزین شد، وزن عصاره محاسبه گردید و تا زمان مصرف، در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد (Ozkan et al., 2007). جهت بررسی محتوای فنل کل، از روش خلیقی سیگارودی و

زیستی رازیانه، اثرات معنی‌داری داشت، همچنین اثرات متقابل بین میکوریزا و بیوفسفات بر روی وزن هزاردانه معنی‌دار بود. افزایش ارتفاع گیاهان در اثر کاربرد باکتری-های ازتوباکتر و آزوسپیریلوم در مقایسه با شاهد گزارش شده است (Dobbelaere et al., 2003). اثر هم‌افزایی ازتوباکتر و آزوسپیریلوم، سبب تحریک رشد گیاه به خصوص تولید فیتوهورمون‌ها و افزایش تولید مواد فتوسنتزی بیشتر در گیاه می‌شود. این مواد شرایط مناسبی را برای طویل شدن ساقه فراهم می‌کنند. باکتری‌های محرک رشد با کاهش سطح اتیلن در گیاه، باعث افزایش ارتفاع گیاه می‌شوند (Heydari et al., 2016). به کارگیری کود فسفات زیستی حاوی باکتری‌های باسیلوس و سودوموناس در گیاهان دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) و همیشه بهار (*Calendula persica*) باعث افزایش عملکرد (Darzi et al., 2008) و در گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) موجب افزایش زیست‌توده تر و خشک گیاه گردید (Tahami Zarandi, 2010). کاربرد توأم تیوباسیلوس و برادی‌ریزوبیوم به دلیل اثرات هم‌افزایی، باعث افزایش عملکرد بیولوژیک و تثبیت نیتروژن در سویا شده است (Ghorbani Nasrabadi et al., 2002). با کاربرد باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفات، افزایش وزن تر و خشک گیاه رزماری گزارش گردید (Abdelaziz et al., 2007). کاربرد کودهای زیستی در رزماری، باعث افزایش قطر ساقه گردید. این امر می‌تواند ناشی از ترشح ترکیبات تحریک‌کننده رشد و هورمون‌های رشدی باشد که در خاک تولید شده و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Leithy et al., 2006). با توجه به نقش و اهمیت کودهای زیستی در تحقق اهداف کشاورزی پایدار و افزایش تولید، پژوهش حاضر، با هدف بررسی اثر کودهای زیستی بر برخی خصوصیات کمی و کیفی گل همیشه بهار به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر کودهای زیستی بر برخی خصوصیات کمی و کیفی گل همیشه بهار، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۴ تیمار ("ازتوباکتر"، "آزوسپیریلوم"، "سودوموناس"، "تیوباسیلوس"، "ازتوباکتر + آزوسپیریلوم"، "ازتوباکتر + سودوموناس"، "آزوسپیریلوم + تیوباسیلوس"، "آزوسپیریلوم + سودوموناس"، "تیوباسیلوس + سودوموناس"، "تیوباسیلوس + سودوموناس"، "تیوباسیلوس + سودوموناس + آزوسپیریلوم")

بدین ترتیب که ابتدا، غلظت‌های مختلف از روتین (استاندارد)، عصاره و آب مقطر (شاهد) در سه تکرار تهیه شد و به آنها به ترتیب، سدیم نیتريت، آلومینیوم کلرید و سود اضافه شد. سپس جذب محلول صورتی‌رنگ در برابر شاهد، توسط اسپکتروفتومتر UV در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در نهایت، محتوای فلاونوئید کل، برحسب مقدار معادل روتین (میلی گرم در عصاره) محاسبه شد. تجزیه واریانس داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون آماری دانکن انجام گرفت.

همکاران (۲۰۱۲) استفاده شد. غلظت‌های مختلف از اسید گالیک (استاندارد)، عصاره گیاه و آب مقطر (شاهد) در سه تکرار تهیه شد و به آنها به ترتیب، آب مقطر، معرف فولین - سیوکالتو و سدیم کربنات اضافه گردید. بعد از ۹۰ دقیقه، جذب نمونه‌ها در برابر شاهد، توسط اسپکتروفتومتر UV در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. در پایان، محتوای فنل کل، برحسب مقدار معادل اسید گالیک (میلی گرم) در عصاره محاسبه شد. به منظور بررسی محتوای فلاونوئید کل، از روش خلیقی سیگارودی و همکاران (۲۰۱۲) استفاده شد.

جدول ۱ - خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در کاشت گل همیشه‌بهار

رس (%)	سیلت (%)	شن (%)	بافت خاک	هدایت الکتریکی (ds.m)	اسیدیته گل اشباع	کربنات کلسیم معادل (%)	نیتروژن قابل جذب (%)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	کربن آلی (%)
۱۲	۲۵	۶۳	لوم شنی	۱/۷	۷/۷	۲۸	۰/۰۳۵	۵	۷۰	۰/۳۵

در گیاه همیشه‌بهار نسبت به ازتوباکتر داشت. سودوموناس به دلیل توانایی در تولید طیف وسیعی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، ترکیبات کلات‌کننده آهن و جذب آن، تولید اسیدهای آلی از قبیل اسید سوکسینیک و لاکتیک و در نهایت کنترل زیستی عوامل بیماری‌زای گیاهی، نقش مؤثری بر رشد رویشی و زایشی گیاه دارد (Belimov *et al.*, 2002). کاربرد ترکیبی کودهای زیستی در عروسک پشت پرده باعث ایجاد حداکثر قطر ساقه، ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی و وزن تر و خشک اندام هوایی گردید (Parchianlou *et al.*, 2019). براساس نتایج مطالعه Hormozinejad و همکاران (۲۰۱۸) بیشترین وزن تر و خشک گل و بیشترین قطر طبق در گل همیشه‌بهار، با کاربرد باکتری‌های محرک رشد به دست آمد. نتایج بررسی اثر کودهای زیستی بر گیاه دارویی بادرشبو نشان داد که بیشترین تعداد شاخه‌های فرعی، با کاربرد ترکیبی این کودها به دست آمد که علت آن، بهبود جذب عناصر غذایی به ویژه نیتروژن است (Rahimzadeh *et al.*, 2011).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان فنل (۱/۸۶ میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره) و فلاونوئید (۵/۵۴ میلی گرم روتین بر گرم عصاره) در تیمار ترکیبی تیوباسیلوس و ازتوباکتر به دست آمد (شکل‌های ۱ و ۲). گزارش شده است که استفاده از کودهای زیستی، همبستگی مثبت با محتوای ترکیبات فنلی در گیاهان دارد (Ghaderimokri *et al.*, 2022). کوددهی با کودهای حاوی

نتایج و بحث

اثر تیمارهای کود زیستی بر صفات وزن تر و خشک گل، تعداد گل در بوته، تعداد شاخه فرعی، قطر طبق و قطر ساقه، و میزان فنل و فلاونوئید، بسیار معنی‌دار و بر صفت ارتفاع بوته، معنی‌دار بود (جدول ۲).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین وزن تر (۰/۹۸ گرم) و خشک گل (۰/۲۴ گرم)، تعداد گل در بوته (۲۲/۶۶) و تعداد شاخه فرعی (۱۰/۶۶)، در تیمار آروسپیریوم و سودوموناس ایجاد گردید (جدول ۳). بالاترین ارتفاع بوته (۲۸ سانتی‌متر) با کاربرد کود زیستی ازتوباکتر تولید شد. بیشترین قطر طبق (۱۵/۱۹ میلی‌متر) در تیمار سودوموناس ایجاد گردید. بیشترین قطر ساقه (۱۷/۴۸ میلی‌متر) در تیمار ترکیبی ازتوباکتر و سودوموناس به دست آمد.

کودهای زیستی باعث افزایش دسترسی به عناصری مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم در خاک می‌شوند (Li *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2022). دسترسی به این مواد مغذی خاک، باعث رشد گیاه و بهبود تولید محصول می‌شود (Zhaoxiang *et al.*, 2020; O'Callaghan *et al.*, 2022). Sahib Hasan و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی اثر قارچ میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد گیاه بر روی گل همیشه‌بهار گزارش کردند که با کاربرد ترکیبی میکوریزا، ازتوباکتر و سودوموناس بیشترین قطر طبق ایجاد شد. همچنین سودوموناس نقش مهم‌تری در افزایش تعداد گل

تحقیقات نشان داده است که کودهای زیستی در بیوسنتز مسیر استات شیکیمات نقش دارند که منجر به تولید بالاتر فنل و فلاونوئیدها می‌شوند و تجمع آنزیم‌هایی مانند پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز را افزایش می‌دهند که در متابولیسم فنل و فلاونوئیدها دخیل هستند (Babu *et al.*, 2015).

باکتری مشتق شده از گونه‌های مختلف، باعث افزایش غلظت این ترکیبات به‌ویژه فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک گردید (Khalid *et al.*, 2017). این موضوع در مطالعات دیگر نیز تأیید شده است. نتایج مطالعه بررسی اثر کودهای زیستی بر گاوزبان نشان داد که بالاترین میزان فنل در گل گاوزبان با کاربرد تیمار بیوسولفور (حاوی باکتری تیوباسیلوس) به دست آمد (Amiri *et al.*, 2017). در مطالعه‌ای گزارش شده است که کاربرد کودهای آلی و زیستی، باعث افزایش میزان فنل و فلاونوئید در کلم بروکلی شد (Naguib *et al.*, 2012).

جدول ۲ - تجزیه واریانس صفات کمی و کیفی گل همیشه‌بهار

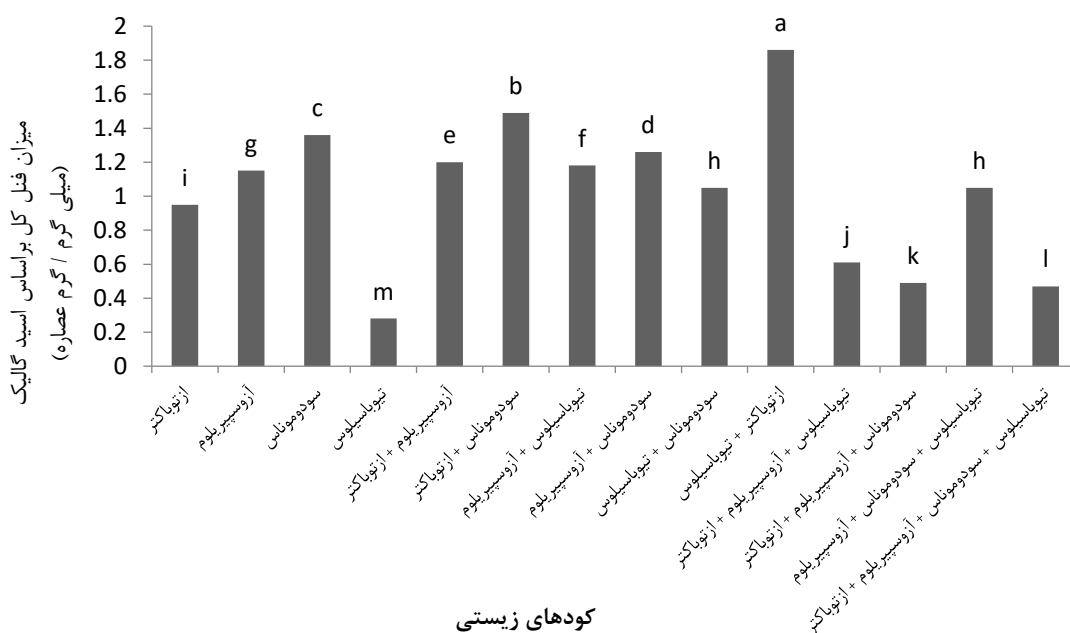
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر گل	وزن خشک گل	تعداد گل در بوته	تعداد شاخه فرعی	ارتفاع بوته	قطر طبق	قطر ساقه	میزان فنل کل	میزان فلاونوئید کل
تیمار	۱۳	۰/۰۵**	۰/۰۰۳**	۱۲۴/۱۴**	۲۶/۵۵**	۳۵/۴۱*	۲۹/۴۵**	۴۶/۵۹**	۵۷/۰۸**	۴۵۷/۲۵**
خطا	۲۸	۰/۰۰۷	۰/۰۰۰۴	۰/۸۸	۱/۹۷	۱۴/۷۳	۵/۰۶	۳/۱۹	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات (%)		۱۲/۵۴	۱۲/۵۴	۱۲/۸۸	۲۲/۸۰	۱۸/۰۹	۲۰/۶۵	۱۷/۴۷	۰/۲۷	۰/۱۳

* و ** به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است

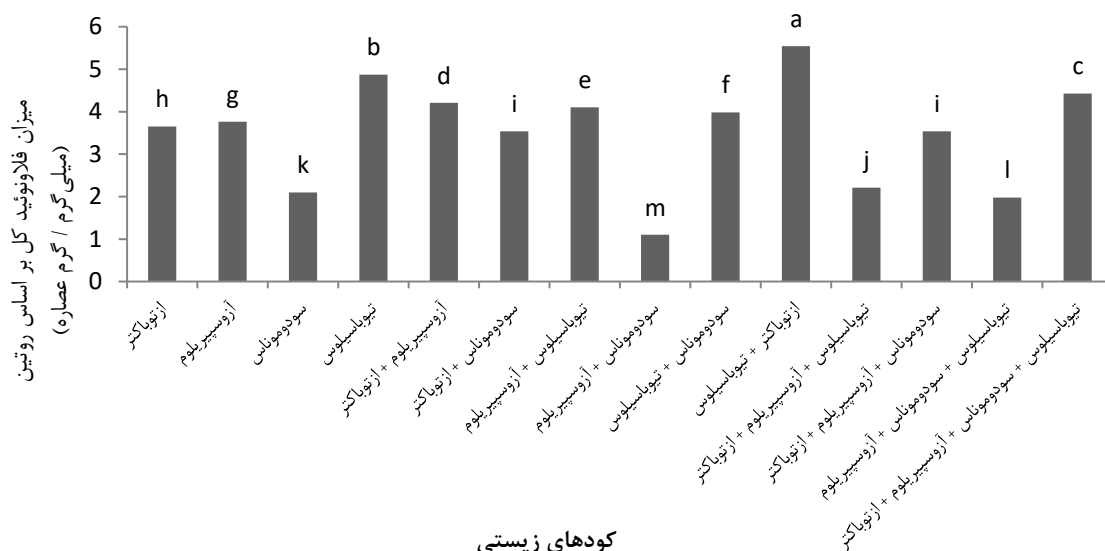
جدول ۳ - مقایسه میانگین اثر کودهای زیستی بر ویژگی‌های کمی و کیفی گل همیشه‌بهار

ردیف	تیمار	وزن تر گل (g)	وزن خشک گل (g)	تعداد گل در بوته	تعداد شاخه فرعی	ارتفاع بوته (cm)	قطر طبق (mm)	قطر ساقه (mm)
۱	ازتوباکتر	۰/۵۸def	۰/۱۴def	۱۴/۰۰b	۸/۰۰b	۲۸/۰۰a	۸/۸۳cd	۱۳/۰۶b
۲	آزوسپیریوم	۰/۷۴bcd	۰/۱۸bcd	۳/۳۳de	۱/۶۶d	۱۳/۶۶c	۸/۱۵cd	۷/۳۷c
۳	سودوموناس	۰/۷۷bc	۰/۱۹bc	۲/۰۰def	۲/۳۳d	۲۳/۰۰ab	۱۵/۱۹a	۵/۲۷c
۴	تیوباسیلوس	۰/۶۲cde	۰/۱۵cde	۸/۳۳c	۷/۳۳bc	۲۰/۰۰bc	۷/۷۳d	۸/۲۳c
۵	ازتوباکتر + آزوسپیریوم	۰/۷۲bcd	۰/۱۸bcd	۱/۶۶ef	۲/۶۶d	۱۹/۰۰bc	۱۳/۰۹ab	۷/۸۷c
۶	ازتوباکتر + سودوموناس	۰/۴۴f	۰/۱۱f	۳/۶۶d	۲/۳۳d	۲۳/۰۰ab	۱۲/۹۵ab	۱۷/۴۸a
۷	آزوسپیریوم + تیوباسیلوس	۰/۸۲b	۰/۲۰b	۱/۳۳f	۱/۰۰d	۱۹/۰۰bc	۶/۶۰d	۸/۰۵c
۸	آزوسپیریوم + سودوموناس	۰/۹۸a	۰/۲۴a	۲۲/۶۶a	۱۰/۶۶a	۲۰/۰۰bc	۱۴/۱۳ab	۱۲/۸۳b
۹	تیوباسیلوس + سودوموناس	۰/۶۲cde	۰/۱۵cde	۳/۶۶d	۲/۰۰d	۲۰/۶۶abc	۱۴/۹۷ab	۱۵/۶۸ab
۱۰	تیوباسیلوس + ازتوباکتر	۰/۶۰de	۰/۱۵de	۳/۳۳de	۲/۶۶d	۲۲/۶۶ab	۱۲/۰۵abc	۱۴/۲۶b
۱۱	ازتوباکتر + آزوسپیریوم + تیوباسیلوس	۰/۶۵cde	۰/۱۶cde	۹/۶۶c	۵/۳۳c	۲۲/۶۶ab	۱۰/۸۶bcd	۱۲/۵۸b
۱۳	ازتوباکتر + آزوسپیریوم + سودوموناس	۰/۵۳ef	۰/۱۳ef	۱۳/۰۰b	۶/۶۶bc	۲۳/۳۳ab	۱۳/۲۸ab	۶/۳۱c
۱۲	آزوسپیریوم + سودوموناس + تیوباسیلوس	۰/۶۴cde	۰/۱۶cde	۱۳/۳۳b	۵/۶۶bc	۲۴/۳۳ab	۷/۹۵cd	۷/۴۴c
۱۴	ازتوباکتر + آزوسپیریوم + سودوموناس + تیوباسیلوس	۰/۵۸def	۰/۱۴def	۲/۰۰def	۱/۶۶d	۱۷/۶۶bc	۶/۷۷d	۶/۶۵c

در هر ردیف، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت آماری معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند



شکل ۱ - اثر کودهای زیستی بر میزان فنل کل گل همیشه‌بهار



شکل ۲- اثر کودهای زیستی بر میزان فلاونوئید کل گل همیشه بهار

کاربرد کود زیستی ازتوباکتر و بیشترین قطر طبق در تیمار سودوموناس به دست آمد. کودهای زیستی ضمن بهبود خصوصیات مورفولوژیکی و عملکرد گل همیشه بهار، سلامت محصول و محیط زیست را تضمین می کنند و خسارات ناشی از نهاده های شیمیایی را کاهش می دهند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا به جهت حمایت مالی از این پژوهش (گرت شماره ۴۰۲۱) قدردانی می شود

نتیجه گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که اثر هم افزایی کودهای زیستی بر اکثر صفات مورد بررسی، مثبت بود. به طوری که بیشترین تعداد شاخه فرعی، تعداد گل در بوته، وزن تر و خشک گل در تیمار ترکیبی کودهای زیستی آزوسپیریلام + سودوموناس به دست آمد. همچنین، بالاترین میزان فنل و فلاونوئید کل در تیمار ترکیبی تیوباسیلوس + ازتوباکتر و بیشترین قطر ساقه در تیمار ترکیبی ازتوباکتر + سودوموناس ایجاد شد. اگرچه، بیشترین ارتفاع بوته، با

منابع

- Abdelaziz, M., Pokluda, R., & Abdelwahab, M. (2007). Influence of compost, microorganisms and NPK fertilizer upon growth, chemical composition and essential oil production of *Rosmarinus officinalis* L. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 35(1), 86-90.
- Amiri, M.B., Rezvani Moghaddam, P., & Jahan, M. (2017). The effects of soil amendments and bio-fertilizers inoculation on morphological characteristics and yield of *Echium amoenum*. *Journal of Horticultural Science*, 31(1), 25-39. (In Persian)
- Babu Anupama, N., Jogaiah, S., Ito, S., Nagaraju Amruthesh, K., & Phan Tran, L.S. (2015). Improvement of growth, fruit weight and early blight disease protection of tomato plants by rhizosphere bacteria is correlated with their beneficial traits and induced biosynthesis of antioxidant peroxidase and polyphenol oxidase. *Plant Science*, 231, 62-73.
- Belimov, A.A., Safronova, V.I., & Mimura, T. (2002). Response of spring rape (*Brassica napus* var. *oleifera* L.) to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria containing l-aminocyclopropane-l-carboxylate deaminase depends on nutrient status of the plant. *Canadian Journal of Microbiology*, 48(3), 189-199.
- Besharati, H., Atashnama, K., & Hatami, S. (2007). Biosuper as a phosphate fertilizer in a calcareous soil with low available phosphorus. *African Journal of Biotechnology*, 6(11), 1325-1329.

- Bücking, H., & Kafle, A. (2015). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in the nitrogen uptake of plants: current knowledge and research gaps. *Agronomy*, 5, 587-612.
- Chen, J. (2006). The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizer for crop growth and soil fertility. International Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use, October 16-20, Thailand, 1-11.
- Darzi, M.T., Ghalavand, A., Sefidkon, F., & Rejali, F. (2008). The effects of mycorrhiza, vermicompost and phosphatic biofertilizer application on quantity and quality of essential oil in Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 24(4), 396-413. (In Persian)
- Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., & Okon, Y. (2003). Plant growth-promoting effect of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22(2), 107-149.
- Ebhin Mastro, R., Chhonkar, P.K., Singh, D., & Patra, A.K. (2006). Changes in soil biological and biochemical characteristics in a long-term field trial on a sub-tropical inceptisol. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(7), 1577-1582.
- Fallahi, J., Koocheki, A., & Rezvani Moghaddam, P. (2009). Effects of biofertilizers on quantitative and qualitative yield of chamomile (*Matricaria recutita*) as a medicinal plant. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 7(1), 127-135. (In Persian)
- Fatma, E.M., El-Zamik, I., Tomader, T., El-Hadidy, H.I., Abd El-Fattah, L., & Seham Salem, H. (2006). Efficiency of biofertilizers, organic and inorganic amendments application on growth and essential oil of marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous. Department of Agricultural Microbiology, Faculty of Agriculture, Zagazig University and Department of Soil Fertility and Microbiology, Desert Research Center, Cairo, Egypt.
- Ghaderimokri, L., Rezaei-Chiyaneh, E., Ghiyasi, M., Gheshlaghi, M., Battaglia, M.L., & Siddique, K.H.M. (2022). Application of humic acid and biofertilizers changes oil and phenolic compounds of fennel and fenugreek in intercropping systems. *Scientific Reports*, 12, 1-14.
- Ghorbani Nasrabadi, R., Saleh Rastin, N., & Alikhani, H. (2002). Effects of sulfur application with *Thiobacillus* and *Bradyrhizobium* inoculants on nitrogen fixation and growth indices of soybeans. *Journal of Water and Soil Science*, 16(2), 170-178. (In Persian)
- Heydarian, Z., Yu, M., Gruber, M., Glick, B.R., Zhou, R., & Hegedus, D.D. (2016). Inoculation of soil with plant growth promoting bacteria producing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase or expression of the corresponding acdS Gene in transgenic plants increases salinity tolerance in *Camelina sativa*. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1966.
- Hormozinejad, E., Zolfaghari, M., Mahmoodi Sourestani, M., & Enayati Zamir, N. (2018). Effects of plant growth promoting rhizobacteria and chemical fertilizer on growth, yield, flowering, physiological properties, and total phenolic content of *Calendula officinalis* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 34(4), 684-696. (In Persian)
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R., & Panneerselvam, R. (2007). *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60, 7-11.
- Kader, M.A., Mian, M.H., & Hoque, M.S. (2002). Effects of Azotobacter inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. *Journal of Biological Sciences*, 2(4), 259-261.
- Kapoor, R., Giri, B., & Mukerji, K.G. (2004). Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technology*, 93, 307-311.
- Khalid, K.A., Yassen, A.A., & Zaghloul, S.M. (2006). Effect of soil solarization and cattle manure on the growth, essential oil and chemical composition of *Calendula officinalis* L. plants. *Journal of Applied Sciences Research*, 2(3), 142-152.
- Khalid, M., Hassani, D., Bilal, M., Asad, F., & Huang, D. (2017). Influence of bio-fertilizer containing beneficial fungi and rhizospheric bacteria on health promoting compounds and antioxidant activity of *Spinacia oleracea* L. *Botanical Studies*, 58(35), 1-9.
- Khalighi-Sigaroodi, F., Ahvazi, M., Yazdani, D., & Kashefi, M. (2012). Cytotoxicity and antioxidant activity of five plant species of Solanaceae family from Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 3(43), 41-53.
- Khaosaad, T., Vierheilig, H., Nell, M., Zitterl-Eglseer, K., & Novak, J. (2006). Arbuscular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum sp.*, Lamiaceae). *Mycorrhiza*, 16, 443-446.
- Leithy, S., El-Meseiry, T.A., & Abdallah, E.F. (2006). Effect of biofertilizer, cell stabilizer and irrigation regime on rosemary herbage oil yield and quality. *Journal of Applied Sciences Research*, 2(10), 773-779.
- Li, Y., Li, Q., Guan, G., & Chen, S. (2020). Phosphate solubilizing bacteria stimulate wheat rhizosphere and endosphere biological nitrogen fixation by improving phosphorus content. *PeerJ*, 8, e9062.
- Naguib, A.M., El-Baz, F.K., Salama, Z.A., Hanaa, H.A., Ali, H.F., & Gaafar, A.A. (2012). Enhancement of phenolics, flavonoids and glucosinolates of Broccoli (*Brassica oleracea*, var. *Italica*) as antioxidants in response to organic and bio-organic fertilizers. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11, 135-142.

- O'Callaghan, M., Ballard, R.A., & Wright, D. (2022). Soil microbial inoculants for sustainable agriculture: Limitations and opportunities. *Soil Use and Management*, 38(3), 1340-1369.
- Ozkan, G., Sagdic, O., Ekici, L., Ozturk, I., & Ozcan, M.M. (2007). Phenolic compounds of *Origanum sipyleum* L. extract, and its antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Food Lipids*, 14(2), 157-169.
- Parchianlou, S., Kheiri, A., & Arghavani, M. (2019). Biofertilizers effects on quality and quantity characteristics of winter cherry (*Physalis alkekengi* L.) medicinal plant. *Plant Process and Function*, 8(29), 273-286. (In Persian)
- Rahimzadeh, S., Sohrabi, Y., Heydari, Gh., & Pirzad, A. (2011). The effect of biofertilizer application on some morphological traits and performance of *Dracocephalum moldavica* L. medicinal plant. *Journal of Horticultural Science*, 25(3), 335-343. (In Persian)
- Rahmani Samani, M., Ghasemi Pirbalouti, A., Moattar, F., Golparvar, A.R. (2019). L-Phenylalanine and bio-fertilizers interaction effects on growth, yield and chemical compositions and content of essential oil from the sage (*Salvia officinalis* L.) leaves. *Industrial Crops & Products*, 137, 1-8.
- Rai, S.N., & Gaur, A.C. (1988). Characterization of *Azotobacter* spp. and effect of *Azotobacter* and *Azospirillum* as inoculant on the yield and N-uptake of wheat crop. *Plant and Soil*, 109(1), 131-134.
- Rajendran, K., & Devaraj, P. (2004). Biomass and nutrient distribution and their return of *Casuarina equisetifolia* inoculated with biofertilizers in farm land. *Biomass and Bioenergy*, 26(3), 235-249.
- Sahib Hasan, M., Selahvarzi, Y., Nabati, J., & Aziz, M. (2020). Effect of mycorrhiza fungi and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant capacity and some morphophysiological traits of medicinal marigold (*Calendula officinalis* Linn.) under drought stress. *Environmental Stresses In Crop Sciences*, 13(2), 425-440. (In Persian)
- Sánchez Govin, E., Rodrigues Gonzáles, H., Carballo Guerra, C., & Milanés Figueredo, M. (2005). Influence of organic manures and biofertilizers in the quality of *Calendula officinalis* L. and *Matricaria recutita* L. medicinal species. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 10(1), 1-5.
- Soltani, Y., Saffari, V.R., & Maghsoudi Moud, A.A. (2014). Response of growth, flowering and some biochemical constituents of *Calendula officinalis* L. to foliar application of salicylic acid, ascorbic acid and thiamine. *Ethno-Pharmaceutical Products*, 1(1), 37-44.
- Tahami Zarandi, S.M.K. (2010). Evaluation of the effect of organic, biological and chemical fertilizers on yield, yield components and essential oil of basil medicinal plant (*Ocimum basilicum* L.). MSc thesis, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian)
- Tilak, K.V.B.R., Ranganayaki, N., Pal, K.K., De, R., Saxena, A.K., Shekhar Nautiyal, C., Mittal, S., Tripathi, A.K., & Johri, B.N. (2005). Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current Science*, 89(1), 136-150.
- Vessey, J.K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, 571-586.
- Wang, Y., Yan, X., Su, M., Li, J., Man, T., Wang, S., Li, C., Gao, S., Zhang, R., Zhang, M., Wang, P., Jia, X., & Ren, L. (2022). Isolation of potassium solubilizing bacteria in soil and preparation of liquid bacteria fertilizer from food wastewater. *Biochemical Engineering Journal*, 181, 108378.
- Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C., & Wong, M.H. (2005). Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma*, 125(1-2), 155-166.
- Youssef, A.A., Edris, A.E., & 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. plants. *Annals of Agricultural Sciences*, 49(1), 299-311.

The effect of biological fertilizers on some quantitative and qualitative characteristics of calendula (*Calendula officinalis* L.)

Mahtab Salehi¹, Shadi Jalalvand², Samaneh Nesari²

1. Assistant professor, Department of Horticultural Sciences and Engineering, Nahavand Higher Education Complex, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

2 BSc. student, Department of Horticultural Sciences and Engineering, Nahavand Higher Education Complex, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Received: 17-03-2024

Accepted: 22-04-2024

Abstract

The use of biological fertilizers and balanced plant nutrition as the most important soil fertility factors are among the main priorities of sustainable agriculture. In order to investigate the effect of biological fertilizers on some quantitative and qualitative characteristics of *Calendula officinalis* L., an experiment was done in the form of a completely randomized design with 14 treatments including (Azotobacter, Azospirillum, Pseudomonas, Thiobacillus, Azotobacter + Azospirillum, Azotobacter + Pseudomonas, Azospirillum + Thiobacillus, Azospirillum + Pseudomonas, Azotobacter + Azospirillum + Thiobacillus, Azotobacter + Pseudomonas + Thiobacillus, Azotobacter + Azospirillum + Pseudomonas, Azotobacter + Azospirillum + Pseudomonas + Thiobacillus, Pseudomonas, Thiobacillus, Thiobacillus + Azotobacter) and three replicates in the greenhouse of Nahavand Higher Education Complex in 1402. The results showed that the highest amount of phenol (1.86 mg GAE/gr) and flavonoid (5.54 mg routine/gr) was obtained in the combined treatment of Thiobacillus and Azotobacter. The highest stem diameter (17.48 mm) was produced in the combined treatment of Azotobacter and Pseudomonas. The highest diameter (15.19 mm) was created in Pseudomonas treatment. The highest height of the plant (28 cm) was produced with the use of Azotobacter biological fertilizer. The highest number of sub-branches, number of flowers per plant, fresh and dry weight of flowers were created in Azospirillum and Pseudomonas treatments. Finally, it can be said that the use of biological fertilizers, in addition to improving the quantitative and qualitative characteristics of *Calendula officinalis* L., is also an effective solution for achieving the goals of sustainable agriculture

Keywords: Bacterial inoculation, flavonoid, medicinal plant, phenol, sustainable agriculture

Citation: Salehi, M., Jalalvand, SH., & Nesari, S. (2023). The effect of biological fertilizers on some quantitative and qualitative characteristics of calendula (*Calendula officinalis* L.). *Plant Production and Genetics*, 4(2), 255-264. <https://doi.org/10.22034/PLANT.2024.140968.1087>.

Copyrights:

Copyrights rights for this article is retained by the author (s), with publication rights granted to Plant Production and Genetics. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



*Corresponding Author Email: mahtab.salehi@basu.ac.ir