نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۴، ص. ۸۵۳-۸۴۰

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 13, No. 4, Winter. 2016, p. 840-853

بررسی تأثیر همزیستی با میکوریزا، ورمی‌کمپوست و اسید هیومیک بر عملکرد اسانس و کلونیزاسیون ریشه گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill)

ایمان اکبری[۱]- احمد غلامی[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۱/۳۰

چکیده

به‌منظور بررسی اثر قارچ میکوریزا، کاربرد ورمی‌کمپوست و اسید هیومیک بر درصد کلونیزاسیون و عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی رازیانه، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه اجرا شد. ورمی‌کمپوست در سه سطح شامل: v_1 (عدم مصرف)، v_2 (چهار تن در هکتار) و v_3 (هشت تن در هکتار)، قارچ میکوریزا در دو سطح m_1 (عدم تلقیح) و m_2 (تلقیح قارچ) و اسیدهیومیک نیز در دو سطح h_1 (عدم مصرف) و h_2 (مصرف اسید هیومیک) در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که اثر اصلی هر سه عامل یعنی ورمی‌کمپوست، میکوریزا و اسید هیومیک بر عملکرد دانه، عملکرد اسانس و درصد اسانس دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید. نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس بیانگر آن بود که اثرات متقابل ورمی‌کمپوست و میکوریزا بر عملکرد دانه و درصد اسانس دانه معنی‌دار بود. به‌طوری‌که مصرف ۸ تن در هکتار و میکوریزا سبب شد تا عملکرد دانه ۴۵ درصد نسبت به شاهد افزایش یابد. همچنین نتایج نشان داد که اثرات سه جانبه تنها بر روی عملکرد اسانس و درصد اسانس رازیانه تأثیر معنی‌داری داشت. در این بررسی بیشترین مقدار آنتول از ترکیب تیماری کاربرد هشت تن در هکتار ورمی‌کمپوست همراه با اسید هیومیک و تلقیح میکوریزا به‌دست آمد. همچنین با افزایش در مقدار انتول مقادیر استراگول، فنکون و لیمونن در اسانس دانه کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: آنتول، کود آلی، کود زیستی، میکوریزای آرباسکولار

مقدمه

زیان‌های اقتصادی و زیست محیطی ناشی از استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی در کشاورزی در سطح جهانی شناخته شده و بدیهی است که باید جایگزین مناسبی برای این نوع کودها در نظر گرفته شود (۱). هدف اصلی کشاورزی پایدار که به‌وجود آمدن آن برای حیات انسانی یک ضرورت است، کاهش نهاده‌های مصرفی، افزایش چرخه داخلی عناصر غذایی خاک از طریق کاهش عملیات خاکورزی و استفاده از کودهای زیستی و آلی به‌جای کودهای شیمیایی در جهت افزایش عملکرد محصولات کشاورزی و تولید غذای بیشتر است (۲۰). کودهای زیستی حاوی مواد نگهدارنده‌ای با جمعیت متراکم یک یا چند ارگانیسم مفید خاکزی و یا به‌صورت فرآورده متابولیک این موجودات می‌باشند که به منظور بهبود حاصلخیزی خاک و عرضه مناسب عناصر غذایی مورد نیاز گیاه در یک نظام کشاورزی پایدار به‌کار می‌روند (۲۶). تأکید کشاورزی پایدار بر افزایش کیفیت و پایداری عملکرد محصولات می‌باشد. مطالعات انجام شده بر روی گیاهان دارویی مبین آن است که استفاده از نظام کشاورزی پایدار بهترین شرایط را برای تولید این گیاهان فراهم آورده و حداکثر عملکرد کمی و کیفی در چنین شرایطی حاصل می‌شود. بنابراین رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت به‌کارگیری این نظام‌ها می‌باشد. از این رو استفاده از یک نظام مبتنی بر کاربرد کودهای آلی و زیستی به منظور بهبود عملکرد دانه در جهت افزایش عملکرد کیفی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. از بین کودهای زیستی و آلی می‌توان قارچ‌های میکوریزای آرباسکولار، ورمی‌کمپوست و اسید هیومیک را نام برد که با هدف حذف یا کاهش قابل ملاحظه در مصرف نهاده‌های شیمیایی به منظور افزایش کمیت، کیفیت و پایداری عملکرد محصول مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸ و ۳۳). قارچ‌های میکوریزا یکی از ریز موجودات همزیست با ریشه گیاهان هستند که دارای کارکرد چند منظوره در بوم نظام‌های زراعی بوده و به‌طور بالقوه سبب بهبود کیفیت فیزیکی (از طریق گسترش میسلیوم‌های قارچ) شیمیایی (از طریق افزایش جذب عناصر غذایی) و

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه صنعتی شاهرود
۲- دانشیار زراعت، دانشگاه صنعتی شاهرود
(*- نویسنده مسئول: Email: ahgholami@yahoo.com)

زیستی خاک (از طریق شبکه غذایی خاک) می‌شوند. این قارچ‌ها از طریق افزایش جذب عناصر غذایی مثل فسفر و برخی عناصر کم مصرف، افزایش جذب آب، کاهش تأثیر منفی تنش‌های محیطی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا، سبب بهبود کمیت و کیفیت گیاهان میزبان می‌شوند (۳۱).

رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill) در بین گیاهان دارویی از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. به‌طوری‌که از اسانس حاصل از دانه آن در صنایع مختلف داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود. آنتول مهمترین ترکیب تشکیل‌دهنده‌ی اسانس دانه رازیانه می‌باشد (۷). در رابطه با نقش کودهای زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس رازیانه کاپور و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که همزیستی ریشه رازیانه با دو گونه از قارچ‌های میکوریزای وزیکولار آرباسکولار به‌طور معنی‌داری موجب بهبود میزان اسانس و کیفیت آن شد، به نحوی‌که میزان ماده ارزشمند آنتول در اسانس این گیاه در مقایسه با شاهد افزایش یافت ولی میزان فنکون و لیمونن آن کاهش پیدا کرد (۱۵). در پژوهش دیگری، مشخص شد که تلقیح گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) با دو گونه قارچ میکوریزا سبب افزایش بارز کمیت و کیفیت اسانس شد به نحوی که اجزاء مهمی چون ژرانیول و لینالول در ترکیب اسانس به‌طور چشمگیری افزایش اما میزان آنتول و بتا لمن موجود در اسانس در مقایسه با شاهد کاهش یافت (۱۵). در تحقیق فریتاس و همکاران (۲۰۰۴) بر روی گیاه دارویی نعناع (*Mentha longifolia* L.) روشن شد که کاربرد گونه‌های قارچ میکوریزای آرباسکولار *Glomus clarum*, *Glomus etunicatum*, *Gigaspora margarita*, *Acaulospora scrobiculata* موجب بهبود مقدار اسانس و میزان منتول نسبت به شاهد شد (۱۰). در بررسی مشابهی که بر روی دو گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens* L.) و زیره (*Cuminum cyminum* L.) انجام گرفت، ملاحظه شد که کاربرد دو گونه قارچ میکوریزای آرباسکولار *Glomus macrocapum* و *Glomus fasciculatum* به‌طور قابل توجهی کمیت و کیفیت اسانس دانه را در مقایسه با کنترل بهبود بخشید، به نحوی‌که این افزایش در شوید اختصاص به مقادیر اسانس لیمونن و کارون و در زیره (*Cuminum cyminum* L.) متعلق به مقدار اسانس تیمول داشت، در این بررسی میزان دیل آپیول در اسانس شوید و میزان پاراسیمین در اسانس زیره نسبت به شاهد کاهش یافت (۱۶). در دو مطالعه که گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) روی گیاه دارویی نعناع، خواساد و همکاران (۲۰۰۶) بر روی گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) انجام دادند، مشخص شد که کاربرد قارچ میکوریزای آرباسکولار سبب افزایش چشمگیر میزان اسانس در مقایسه با شاهد شد (۱۴ و ۱۹). نتایج تحقیقی بر روی گیاه گشنیز نشان داد که قارچ میکوریزا، سبب افزایش درصد اسانس و نهایتاً عملکرد اسانس در گیاه گشنیز گردید (۱۸). عزیزی و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی تأثیر سطوح مختلف ورمی‌کمپوست (صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی) و آبیاری بر خصوصیات مورفولوژیک و میزان اسانس بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) اظهار داشتند که افزایش مصرف ورمی‌کمپوست باعث بهبود معنی‌دار ارتفاع بوته، عملکرد گل، طول نهنج و قطر نهنج گردید (۶). درزی و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی کاربرد مقادیر ۶۰ کیلوگرم در هکتار کود زیستی فسفاته (کود فسفات زیستی مورد تأیید مؤسسه تحقیقات خاک و آب حاوی سنگ فسفات معدنی و یک گونه از باکتری‌های حل‌کننده فسفات به‌نام *Pseudomonas striata* بود که در هر گرم از آن در حدود 10^5 باکتری فعال وجود داشت) به همراه ورمی‌کمپوست (۱۰ تن در هکتار) بیشترین ارتفاع بوته، تعداد چتر در بوته، میزان اسانس دانه، عملکرد اسانس و درصد همزیستی ریشه را در گیاه رازیانه گزارش نمودند (۷). آستارایی (۲۰۰۶) در بررسی تأثیر کمپوست زباله شهری و ورمی‌کمپوست بر عملکرد و اجزای عملکرد اسفرزه (*Pimpinella anisum* L.) به این نتیجه رسید که کاربرد ۲۰ درصد ورمی کمپوست و ۸۰ درصد خاک در مقایسه با شاهد باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته، تعداد و وزن دانه و وزن هزار دانه شد (۴). بررسی درزی و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که ورمی‌کمپوست از طریق تأثیر بر اجزاء عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی انیسون موجب بهبود عملکرد دانه و همچنین درصد اسانس و عملکرد اسانس شد (۹). استفاده از ورمی کمپوست به میزان پنج و ده تن در هکتار در کشت گیاه دارویی مرزه (*Plantago psyllum* L.) سبب شد تا ارتفاع بوته و درصد برگ در این گیاه به‌طور معنی‌داری افزایش یابد (۲۳).

نتایج مطالعات نشان داده است که اسید هیومیک می‌تواند به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد برای تنظیم سطح هورمون‌ها، بهبود رشد گیاهان و افزایش تحمل به تنش مورد استفاده قرار گیرد (۲۹). در شرایط تنش خشکی محلول‌پاشی اسید هیومیک باعث افزایش نگهداری آب برگ و میزان فتوسنتز شده و متابولیسم آنتی اکسیدانی را کاهش می‌دهد (۱۱). به‌علاوه مواد هیومیکی افزوده شده به خاک باعث بروز اثرات سودمند در ساختار خاک و جمعیت میکروبی آن می‌شود. در شرایط خشکی محلول‌پاشی گندم با اسید هیومیک و تغذیه با نیتروژن باعث پر شدن دانه‌ها می‌شود (۳۴). اسید هیومیک به‌عنوان یک اسید آلی حاصل از هوموس از طریق اثرات هورمونی و بهبود جذب عناصر غذایی سبب افزایش بیوماس ریشه و اندام هوایی می‌شود (۲۴). قربانی و همکاران (۲۰۱۰) به منظور بررسی کاربرد اسید هیومیک در آب آبیاری بر عملکرد و اجزای عملکرد ذرت (*Zea mays* L.) آزمایشی شامل سطوح مختلف اسید هیومیک

(صفر، ۵۰۰، ۱۵۰۰، ۲۵۰۰، ۳۵۰۰ و ۴۵۰۰ گرم در هکتار) را به اجرا درآوردند. نتایج آنها نشان داد که اسید هیومیک بر شاخص سطح برگ، دوام سطح برگ، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، تعداد دانه در ردیف و طول بلال تأثیر معنی‌داری داشت. تیمارهای ۳۵۰۰ و ۴۵۰۰ گرم در هکتار اسید هیومیک، به دلیل شاخص و دوام سطح برگ بالاتر، عملکرد دانه بالاتری را به‌خود اختصاص دادند. آنها نتیجه‌گیری کردند که اسید هیومیک از طریق افزایش دوام بافت‌های فتوسنتزی موجب بهبود عملکرد دانه شد (۱۲) در تحقیق یلدرم (۲۰۰۷) محلول‌پاشی اسید هیومیک به مقدار صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌لیتر بر روی گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) نتایج نشان داد که اسید هیومیک باعث افزایش مقدار اسید اسکوربیک در میوه‌های گوجه‌فرنگی شد. بیشترین میزان افزایش عملکرد میوه، تعداد میوه و اسید اسکوربیک مربوط به مصرف ۲۰ میلی‌لیتر اسید هیومیک بود (۳۵). هدف از اجرای این تحقیق بررسی نحوه تأثیر متقابل کود آلی ورمی‌کمپوست و هیومیک اسید و کودزیستی میکوریزا بر خصوصیات رشد و کمیت و کیفیت اسانس در گیاه دارویی آویشن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این طرح به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود در سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ اجرا شد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است. در این آزمایش ورمی‌کمپوست در سه سطح شامل: v_1 (عدم مصرف)، v_2 (چهار تن در هکتار) و v_3 (هشت تن در هکتار)، قارچ میکوریزا (*Glomus intraradices*) در دو سطح (تلقیح و عدم تلقیح) و اسید هیومیک نیز در دو سطح (مصرف و عدم مصرف) در نظر گرفته شد. ورمی‌کمپوست در شیارهای ایجاد شده در حاشیه خطوط قرار گرفت. ورمی‌کمپوست مورد استفاده از کود گاوی تهیه شده و خصوصیات آن در جدول ۲ نشان داده شده است. هر کرت آزمایشی دارای پنج ردیف کاشت با فاصله ۵۰ سانتی‌متر و به طول پنج متر در نظر گرفته شد برای مایه تلقیح قارچ از گونه *Glomus intraradices* استفاده گردید. مایه تلقیح شامل خاک، بقایای ریشه‌ی گیاه شبدر و اندام‌های قارچی بود که از شرکت زیست فناود توران تهیه شد. استفاده از مایه تلقیح بدین صورت انجام شد که قبل از کاشت در کرت‌های مربوط به تیمار قارچی مقدار ۱۰ گرم مایه تلقیح در عمق سه سانتی‌متر در زیر بذر قرار داده شد. هر گرم از این ماده تلقیح حاوی ۲۰ عدد اسپور بود. اسید هیومیک در سه مرحله رویشی (۳۰ روز پس از سبز شدن)، زایشی (شروع گلدهی) و مرحله خمیری شدن دانه‌ها طبق مقدار توصیه شده (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در دستورالعمل نحوه استفاده از این کود محلول‌پاشی برگی شد. اسید هیومیک مورد استفاده با نام تجاری هومی استار دارای ۶۶ درصد اسید هیومیک و ۱۵ درصد فولویک اسید بود. آبیاری هر هفت روز یکبار انجام شد. در انتهای فصل و پس از رسیدگی ۵۰ درصد بوته‌ها، با حذف ردیف‌های حاشیه اقدام به نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات شد. به‌منظور تعیین مقدار اسانس در دانه، از هر کرت آزمایشی یک نمونه ۵۰ گرمی تهیه و بعد از آسیاب نمودن به مدت سه ساعت با استفاده از روش تقطیر با آب به‌وسیله دستگاه کلونجر اسانس‌گیری به‌عمل آمد. بازده اسانس، نیز پس از رطوبت زدایی آب توسط سولفات سدیم محاسبه شد (۱۵). جهت تعیین درصد دقیق ترکیبات موجود در اسانس نظیر آنتول، فنکون، لیمونن و استراگول از دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (Agilent Technologies 5975 - GC/MS) مجهز به ستون HP5-MS به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر و گاز حامل هلیوم استفاده شد. طیف‌های به‌دست آمده از طریق مقایسه با طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد شناسایی شده و سپس با استفاده از محاسبه شاخص بازداری[1] (RI) و با تزریق هیدروکربن‌های نرمال مورد تأیید قرار گرفتند. درصد هریک نیز با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام حاصل با استفاده از روش Area Normalization به‌دست آمد (۲۸). درصد ترکیبات موجود در اسانس فقط در یک نمونه مرکب حاصل از سه تکرار برای هر تیمار تعیین شد. برای تعیین درصد همزیستی میکوریزایی، ابتدا لایه سطحی خاک کنار زده شده و سپس از ریشه گیاه به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری شد. سپس ریشه‌ها پس از شستشوی کامل با آب جهت رنگبری به محلول KOH ده درصد منتقل و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس ریشه‌ها شسته شده و جهت خنثی کردن محیط قلیایی به مدت دو دقیقه در محلول HCl یک دهم مولار قرار داده شدند. سپس ریشه‌ها در محلول رنگ‌آمیزی تریپان بلو به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. بعد از رنگ‌آمیزی، نمونه‌ها در محلول ۱:۱ گلیسیرین و اسید لاکتیک نگهداری شدند. برای مشاهده و بررسی درصد آلودگی، از روش خطوط متقاطع[2] استفاده شد (۱۳). در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش و رسم شکل‌های مربوط به آنها توسط نرم افزارهای MSTAT-C و Excel صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام پذیرفت.

1- Retation index
2- Gridline Intersect Method

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی
Table 1- Some soil physical and chemical properties

عمق Depth cm	ازت N %	فسفر P (ppm)	پتاسیم K (ppm)	pH	رس Clay %	لای Silt %	شن Sand %	EC ($dS\ m^{-1}$)	کربن آلی Organic C %
0-30	0.054	13.7	147	7.4	14	42	44	11.6	0.71

جدول ۲- خصوصیات نمونه ورمی‌کمپوست مورد استفاده
Table 2- Properties of vermicompost used in this exp.

C/N (%)	N_t (٪)	P_2O_5 (%)	K_2o (%)	pH	O.M (%)	Cl^- meq l^{-1}	EC ($dS\ m^{-1}$)	O.C (٪)
7.66	2.52	0.61	3.19	6.8	65	15.5	2.1	32.7

نتایج و بحث

عملکرد دانه: براساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) اثرات اصلی ورمی‌کمپوست، تلقیح میکوریزایی و اسید هیومیک در سطح یک درصد و اثر متقابل ورمی‌کمپوست و میکوریزا در سطح ۵ درصد بر عملکرد دانه معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که عملکرد دانه در تیمار تلقیح میکوریزا (۱۱۹۹/۳۷ کیلوگرم در هکتار) نسبت به شاهد (۱۱۰۴/۵۸ کیلوگرم در هکتار) افزایش ۸/۵ درصدی داشت (جدول ۴). همچنین بین سطوح مختلف ورمی‌کمپوست از نظر تأثیر بر عملکرد دانه نیز تفاوت قابل ملاحظه‌ای وجود داشت. به‌طوری‌که عملکرد دانه با کاربرد هشت تن ورمی‌کمپوست (۱۳۱۵کیلوگرم در هکتار) نسبت به مصرف چهار تن ورمی‌کمپوست (۱۱۲۵کیلوگرم در هکتار) و شاهد (۱۰۱۶کیلوگرم در هکتار) به‌ترتیب ۱۷ و ۲۹/۵ درصد افزایش نشان داد (جدول ۴). در خصوص اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک بر عملکرد دانه، جدول مقایسه میانگین نشان داد که عملکرد دانه در تیمار محلول‌پاشی اسید هیومیک (۱۲۴۷/۶ کیلوگرم در هکتار) در مقایسه با تیمار شاهد (۱۰۵۶/۶ کیلوگرم در هکتار) به میزان ۱۸ درصد افزایش یافت (جدول ۴). مقایسه میانگین اثر متقابل ورمی‌کمپوست و میکوریزا بر روی عملکرد دانه نشان داد که تیمار تلقیح میکوریزا و مصرف هشت تن ورمی‌کمپوست (۱۳۴۹کیلوگرم در هکتار) نسبت به شاهد (۹۲۴کیلوگرم در هکتار) افزایش ۴۵ درصدی را نشان داد (شکل ۱). افزایش عملکرد دانه در تیمار تلقیح میکوریزا می‌تواند ناشی از تأثیر این قارچ‌ها باشد. قارچ‌های میکوریزا از طریق بهبود جذب عناصر غذایی خصوصاً عناصر غیر متحرک سبب افزایش رشد گیاه شده و نهایتاً عملکرد و اجزای عملکرد را افزایش می‌دهند. نتایج تحقیقات کاپور و همکاران (۲۰۰۴) بیانگر این مطلب بود که تلقیح با میکوریزا با *Glomus macrocarpum* و *Glomus fasciculatum* سبب بهبود عملکرد رازیانه نسبت به شاهد شد (۱۵). ورمی‌کمپوست از طریق تأثیر بر قدرت جذب و نگهداری رطوبت و عناصر غذایی مانند نیتروژن، فسفر و پتاس بر اجزای عملکرد رازیانه تأثیر گذاشته و موجب بهبود عملکرد دانه گردیده است. در مطالعه عزیزی و همکاران (۲۰۰۸) با موضوع بررسی تأثیر مقادیر متفاوت ورمی‌کمپوست بر شاخص‌های رشد ریحان (*Ocimum basilicum* L.) اصلاح شده مشخص شد که سطوح مختلف ورمی‌کمپوست (صفر، ۱۰، ۵ و ۱۵ درصد وزنی) تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع بوته، زود گلدهی، عملکرد گل، طول نهنج و قطر نهنج ریحان داشتند، به‌طوری‌که در تیمار ۲۵ درصد ورمی‌کمپوست بالاترین میزان بذر به‌دست آمد که نسبت به شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (۵). قربانی و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که کاربرد اسید هیومیک از طریق افزایش دوام بافت‌های فتوسنتزی موجب بهبود عملکرد دانه ذرت شد. آنها اظهار داشتند که مقادیر ۳۵۰۰ و ۴۵۰۰ گرم در هکتار اسید هیومیک، به دلیل شاخص و دوام سطح برگ بالاتر، عملکرد دانه بالاتری را به‌خود اختصاص دادند. همچنین بیشترین و کمترین عملکرد بیولوژیک ذرت نیز به‌ترتیب در تیمارهای ۴۵۰۰ گرم در هکتار و شاهد حاصل شد (۱۲). نتایج مصرف مقادیر صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک بردو رقم گندم پاییزه سایونز وسبلان نشان داد که اسیدهیومیک به‌طور معنی‌داری نسبت ریشه به برگ و همینطور کلروفیل برگ را افزایش داد (۲۴). اسید هیومیک از طریق اثرات مثبت فیزیولوژیکی از جمله اثر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی باعث افزایش عملکرد گیاهان می‌شود (۲۲).

درصد اسانس: با توجه به نتایج به‌دست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) اثر هر سه فاکتور اصلی تلقیح میکوریزا، ورمی‌کمپوست و اسید هیومیک و اثر متقابل میکوریزا و ورمی‌کمپوست و نیز اثر متقابل سه جانبه بر درصد اسانس دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین درصد اسانس دانه در تیمارهای مختلف نشان داد که تیمار تلقیح میکوریزا (۲/۶۷ درصد) نسبت به شاهد (۲/۳۵ درصد) افزایش معنی‌داری را نشان داد (جدول ۴).

جدول ۲- تجزیه واریانس کمیت و کیفیت رازیانه تحت تأثیر ورمی‌کمپوست (V)، میکوریزا (M) و اسید هیومیک (H)

Table 2- Analysis of variance of quantitative and qualitative of *Foeniculum vulgar* as affected by vermicompost, mycorrhiza and humic acid

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	درصد کلونیزاسیون Colonization %	درصد اسانس Essence %	عملکرد اسانس Essence yield	عملکرد دانه Seed yield
بلوک Blok	2	32.2	0.009	3.919	6278.26
ورمی‌کمپوست (V) Vermicompost	2	159.68**	1.48**	603.9**	274591.82**
میکوریزا (M) Mycorrhiza	1	5400.53**	0.92**	251.91**	80863.36**
میکوریزا×ورمی‌کمپوست (V×M) Vermicompost× Mycorrhiza	2	2.93	0.129**	1.47	18268.85*
اسید هیومیک (H) Humic acid	1	7.94	0.269**	306.77**	326191.15**
ورمی‌کمپوست× اسید هیومیک (V×H) Vermicompost× Humic acid	2	14.47	0.024	2.95	10389.4
میکوریزا×اسید هیومیک (M×H) Mycorrhiza × Humic acid	1	40.61	0.00	16.71	16977.62
اسید هیومیک×میکوریزا×ورمی‌کمپوست (V×M×H) Vermi. × Humic. × Mycorrhiza	2	11.41	0.071**	30.63**	12784.02
خطا Error	22	16.18	0.044	5.12	4509.62
ضریب تغییرات c.v. درصد %		11.45	3.67	7.8	5.83

*و ** به‌ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد می‌باشد

* , ** significant difference at 5 and 1 percent, respectively.

جدول ۳- اثرات ساده ورمی‌کمپوست، میکوریزا و اسید هیومیک بر کمیت و کیفیت گیاه رازیانه

Table 3- Effects of vermicompost, mycorrhiza and humic acid on quantity and quality of *Foeniculum vulgar*

تیمار Treatment	درصد کلونیزاسیون Colonization (%)	عملکرد اسانس Essence yield (kg ha^{-1})	درصد اسانس Essence (%)	عملکرد دانه Seed yield (kg ha^{-1})
عدم تلقیح میکوریزا (m_1) Control	23.89b	26.38b	2.35ab	1104.58b
تلقیح میکوریزا (m_2) Mycorrhizal inoculation	47.39a	31.67a	2.67a	1199.37a
عدم مصرف ورمی‌کمپوست (v_1) Control	30.94b	22.04c	2.15c	1016.16c
مصرف ۴ تن در هکتار (v_2) 4 ton ha^{-1} vermi.	36.97a	28.82b	2.54b	1225.12b
مصرف ۸ تن در هکتار (v_3) 8 ton ha^{-1} vermi.	37.52a	36.22a	2.83a	1315.12a
عدم محلول‌پاشی اسید هیومیک (h_1) Control	22.58	26.11b	2.42b	1056.6b
محلول‌پاشی اسید هیومیک (h_2) Humic acid	23.74	31.95a	2.6a	1247.62a

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد نمی‌باشد.

* Means with the same letter(s) have no significant difference at 5%.

مقایسه میانگین‌ها نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌داری بر روی درصد اسانس دانه بین سطوح مختلف ورمی‌کمپوست بود. به‌طوری‌که درصد اسانس دانه در کاربرد هشت تن ورمی‌کمپوست (۲/۸۳ درصد) در مقایسه با شاهد (۲/۱۵ درصد) و کاربرد چهار تن ورمی‌کمپوست (۲/۵۴ درصد) افزایش معنی‌داری نشان داد. همچنین مقایسات میانگین درصد اسانس دانه تفاوت معنی‌داری را در نتیجه محلول‌پاشی و عدم محلول‌پاشی اسید هیومیک نشان دادند به نحوی‌که میزان اسانس دانه در تیمار محلول‌پاشی اسید هیومیک (۲/۶۰ درصد) نسبت به تیمار شاهد (۲/۴۲ درصد) افزایش معنی‌داری را نشان داد (شکل ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل دو فاکتور ورمی‌کمپوست و میکوریزا نیز اختلاف معنی‌داری را نشان داد به‌طوری‌که میزان اسانس در دانه در ترکیب تیماری تلقیح میکوریزا و سطح سوم ورمی‌کمپوست (۳/۰۹ درصد) نسبت به ترکیب تیماری عدم مصرف ورمی‌کمپوست و عدم تلقیح میکوریزا (۲/۱۱ درصد) افزایش معنی‌داری را نشان داد (شکل ۲). مقایسه میانگین میزان اسانس دانه تحت تأثیر اثر متقابل سه جانبه نیز اختلاف معنی‌داری را نشان داد به نحوی‌که میزان اسانس دانه در ترکیب تیماری تلقیح مایکوریزا و محلول‌پاشی اسید هیومیک و مصرف هشت تن در هکتار ورمی‌کمپوست (۳/۰۹ درصد) برتری معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد (۱/۹۹درصد) نشان داد (شکل ۳). افزایش مقادیر ورمی‌کمپوست از طریق فراهمی جذب بیشتر فسفر و نیتروژن که در اجزاء متشکله اسانس گیاه رازیانه است باعث افزایش میزان اسانس شد. نتایج تحقیق درزی و همکاران (۲۰۰۸) مؤید آن است که کاربرد ورمی‌کمپوست (صفر و ۵ و ۱۰ تن در هکتار) در سطوح مختلف باعث افزایش درصد اسانس در رازیانه شد (۷). همچنین نتایج تحقیقات دیگر نیز حاکی از افزایش میزان اسانس و بهبود کیفیت اسانس ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در اثر کاربرد ورمی‌کمپوست (صفر، ۱۰، ۵ و ۱۵ درصد وزنی) بوده است (۵). در پژوهشی که با استفاده از مقادیر مختلف ورمی‌کمپوست بر روی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L. *cv. Vikas Sudha*) صورت گرفت، انوار و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی خود از شش ترکیب کودی شامل کود آلی (کود حیوانی همراه با ورمی‌کمپوست) و کود شیمیایی (NPK) استفاده کردند. آنها نشان دادند که مصرف ۵ تن ورمی‌کمپوست همراه با کود شیمیایی NPK (۵۰.۲۵.۲۵) برتری محسوسی از نظر میزان اسانس نسبت به شاهد داشت. آنها اظهار داشتند که افزودن ورمی‌کمپوست به خاک نه تنها فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را افزایش می‌دهد، بلکه با بهبود شرایط فیزیکی و فرآیندهای حیاتی خاک ضمن ایجاد یک بستر مناسب برای رشد ریشه، موجبات افزایش دسترسی به عناصر معدنی و در نهایت بهبود میزان اسانس را نیز فراهم آورده است (۲). در این بررسی مصرف ماده تلقیح میکوریزایی سبب بهبود میزان اسانس در دانه شد. در این ارتباط می‌توان اظهار داشت که اسانس‌ها ترکیب‌هایی ترپنوئیدی هستند و واحدهای سازنده آنها (ایزوپرنوئیدها) مانند ایزوپنتنیل پیروفسفات[1] و دی متیل‌آلیل پیروفسفات[2] نیاز مبرم به (ATP و NADPH) دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های اخیر ضروری می‌باشد، از این رو همزیستی میکوریزایی از طریق جذب کارآمد فسفر و تا حدودی نیتروژن توسط ریشه رازیانه، موجب افزایش اسانس این گیاه دارویی می‌شود (۲۱). در همین خصوص در مطالعه دیگری که روی گیاه دارویی نعناع انجام گرفت، گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که تلقیح گیاه نعناع با قارچ میکوریزا به‌طور قابل ملاحظه‌ای میزان اسانس را افزایش داد (۱۴). آن‌ها دریافتند که همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه گیاه نعناع از طریق افزایش جذب آب و عناصر پر مصرف در بهبود میزان اسانس مؤثر بوده است. در همین رابطه در تحقیق انجام شده بر روی گیاه دارویی گشنیز مشاهده شد که همزیستی میکوریزایی سبب افزایش چشمگیر میزان اسانس در دانه می‌شود (۱۷). اسید هیومیک به‌عنوان اسید آلی حاصل از هوموس و سایر منابع طبیعی می‌تواند از طریق اثرات هورمونی، بهبود جذب عناصر غذایی و کلات‌کنندگی عناصر و جلوگیری از آبشویی عناصر و در اختیار گذاشتن این عناصر برای گیاه سبب افزایش میزان اسانس دانه شود. مقادیر بسیار کم از اسیدهای آلی به دلیل وجود ترکیبات هورمونی اثرات مفیدی در افزایش تولید و کیفیت محصولات کشاورزی دارند (۲۷).

عملکرد اسانس: باتوجه به نتایج جدول تجزیه واریانس اثر هر سه فاکتور میکوریزا، ورمی‌کمپوست و اسید هیومیک و نیز اثر متقابل سه جانبه آنها بر میزان عملکرد اسانس دانه در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بین تلقیح میکوریزایی (۳۱/۶۷ کیلوگرم در هکتار) و عدم تلقیح (۲۶/۳۸ کیلوگرم در هکتار) تفاوت معنی‌داری وجود داشت به نحوی که عملکرد اسانس در تلقیح میکوریزایی حدود ۲۰ درصد بیشتر از عدم تلقیح بود (جدول ۴). مقایسات میانگین نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف ورمی‌کمپوست بر روی عملکرد اسانس دانه بود، به‌طوری‌که عملکرد اسانس در کاربرد ۸ تن در هکتار ورمی‌کمپوست (۳۶/۲۲ کیلوگرم در هکتار) در مقایسه با سطح شاهد (۲۲/۰۴ کیلوگرم در هکتار) و کاربرد چهار تن در هکتار (۲۸/۸۲ کیلوگرم در هکتار) به‌ترتیب افزایش ۶۴ و ۲۵ درصد را نشان داد (جدول ۴). مقایسات میانگین تفاوت قابل ملاحظه‌ای را بین سطح محلول‌پاشی و عدم محلول‌پاشی بر روی عملکرد اسانس دانه نشان

1- IPP
2- DMAPP

داد به نحوی‌که عملکرد اسانس دانه در تیمار محلول‌پاشی اسید هیومیک (۳۱/۹۵ کیلوگرم در هکتار) نسبت به عدم محلول‌پاشی (۲۶/۱۱ کیلوگرم در هکتار) ۲۲ درصد بیشتر بود (جدول ۴).

جدول ٤- درصد ترکیبات موجود در اسانس گیاه رازیانه تحت تیمارهای مختلف کودی

Table 4- Essence compounds percent in different fertilizer treatments

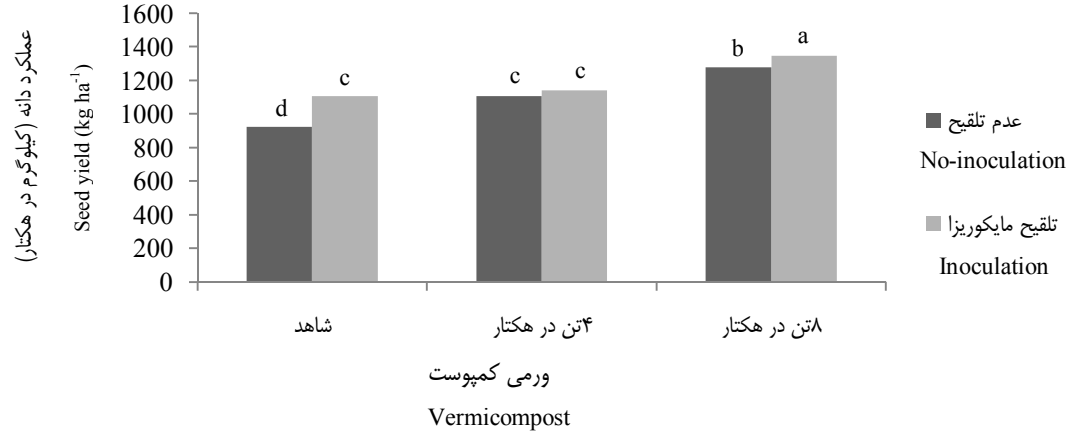
تیمار Treatment	میزان‌لیمونن اسانس Limonene (%)	میزان‌فنکون اسانس Fenkon (%)	میزان‌استراگول اسانس Stragol (%)	میزان‌آنتول اسانس Anethole (%)	درصد اسانس Essence %
$v_1m_1h_1$	5.52	12.21	6.54	64.24	1.99
$v_1m_1h_2$	4.82	11.12	6.02	65.66	2.22
$v_1m_2h_1$	4.6	10.08	4.52	69.78	2.18
$v_1m_2h_2$	4.43	10.02	4.58	70.22	2.22
$v_2m_1h_1$	5.12	11.21	5.08	67.20	2.30
$v_2m_2h_2$	5.2	11.05	4.59	69.68	2.42
$v_2m_1h_1$	3.02	9.68	3.65	70.20	2.48
v_2m1h_2	3.08	9.65	3.88	73.32	2.97
v_3m1h_1	4.95	11.08	4.78	69.72	2.51
v_3m1h_2	3.55	11.45	3.83	70.22	2.66
v_3m2h_1	3.05	9.08	3.51	74.20	3.08
$v_3m_2h_2$	3.01	8.23	3.22	75.89	3.09

*۱- ورمی‌کمپوست در ۳ سطح v_1 (صفر تن در هکتار) v_2 (۴تن در هکتار) و v_3 (۸ تن در هکتار)، میکوریزا در ۲ سطح m_1 (عدم تلقیح میکوریزا) و m_2 (تلقیح میکوریزا) و اسید هیومیک نیز در ۲ سطح h_1 (محلول‌پاشی اسید هیومیک) و h_2 (عدم محلول‌پاشی).

vermicompost: v_1 (control), v_2 (4 ton ha^{-1}), v_3 (8 ton ha^{-1}); m_1 (control), m_2 (mycorrhizal fungi); h_1 (control), h_2 (humic acid)

*- هریک از میانگین‌های جدول از میانگین ۳ تکرار حاصل آمده‌اند.

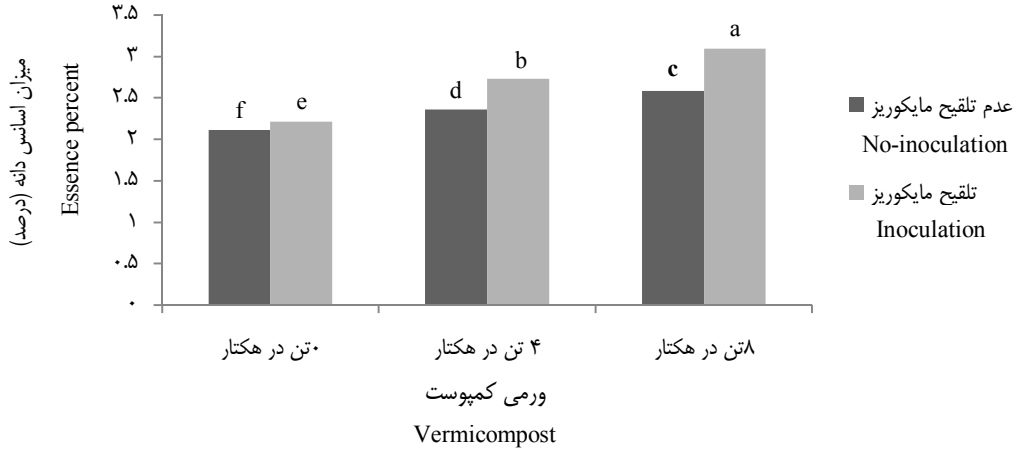
*Each means derived from results of 3 replication



شکل ۱- اثر متقابل ورمی‌کمپوست در میکوریزا بر عملکرد دانه

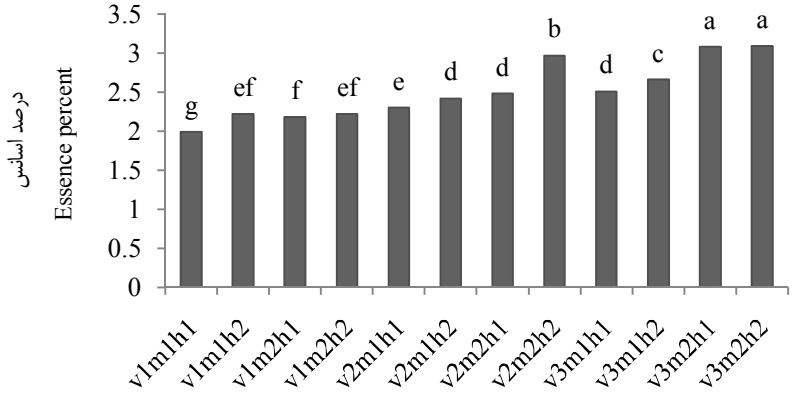
Figure 1- Effects of vermicompost with mycorrhiza interaction on seed yield

همچنین مقایسات میانگین اثر سه جانبه عوامل مورد بررسی در آزمایش، تفاوت معنی‌داری را بر روی عملکرد اسانس دانه نشان داد. به نحوی‌که عملکرد اسانس دانه در تیمار کودی شامل کاربرد ۸ تن ورمی‌کمپوست در هکتار و تلقیح میکوریزا و محلول‌پاشی اسید هیومیک (۴۰/۰۷ کیلوگرم در هکتار) حدود ۳۶ درصد بیشتر از تیمار کودی کاربرد ۸ تن ورمی‌کمپوست و عدم تلقیح میکوریزا و عدم محلول‌پاشی (۲۹/۲۹ کیلوگرم در هکتار) بود (شکل ۴). نتایج صالحی و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که کاربرد ورمی‌کمپوست باعث افزایش معنی‌دار عملکرد گل، درصد اسانس و عملکرد اسانس گیاه دارویی بابونه شد (۲۵). در بررسی که توکلی دینانی (۲۰۰۹) بر روی گیاه شوید انجام داد، کاربرد کودهای زیستی باعث افزایش چشمگیر درصد اسانس، عملکرد بذر و به دنبال آن عملکرد اسانس شد. همچنین بین عملکرد دانه و عملکرد اسانس همبستگی مثبت مشاهده شد که می‌توان آن را در رابطه با اثر مستقیم وزن دانه در بوته با عملکرد نهایی اسانس گیاه دانست (۳۲).



شکل ۲- اثر متقابل ورمی‌کمپوست در میکوریزا بر میزان اسانس دانه

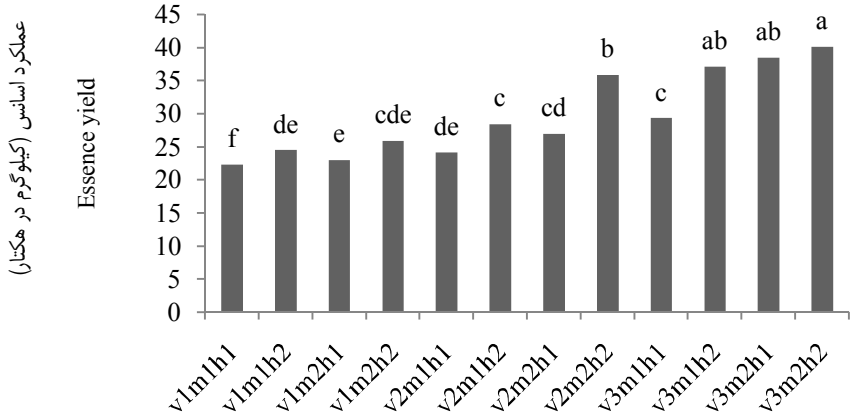
Figure 2- Effects of vermicompost with mycorrhiza interaction on seed essence percent



شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف کودی بر میزان اسانس گیاه دارویی رازیانه (V، M و H به‌ترتیب ورمی‌کمپوست v_1 (عدم مصرف)، v_2 (٤ تن در هکتار) و v_3 (۸ تن در هکتار)، میکوریزا m_1 (عدم تلقیح) و m_2 (تلقیح قارچ) و اسید هیومیک) h_1 (عدم مصرف) و h_2 (مصرف اسید هیومیک)

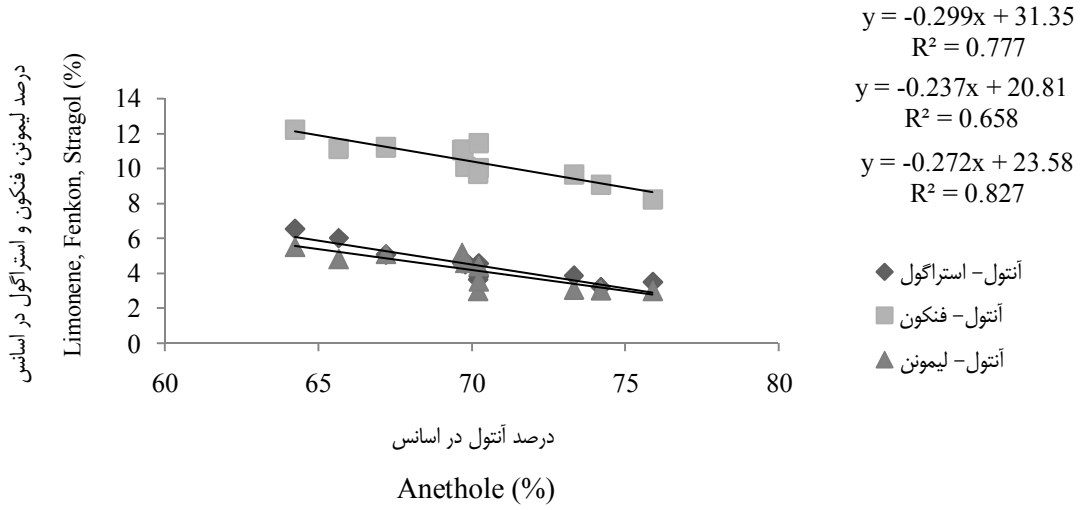
Figure 3- Effects of fertilizer treatments on essence percent. V, M. H; vermicompost: v_1 (control), v_2 (4 ton ha^{-1}), v_3 (8 ton ha^{-1}); m_1 (control), m_2 (mycorrhizal fungi); h_1 (control), h_2 (humic acid)

درصد کلونیزاسیون ریشه: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) بیانگر آن است که اثرات اصلی دو فاکتور تلقیح میکوریزا و ورمی‌کمپوست در سطح احتمال یک درصد بر کلونیزاسیون ریشه معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین نتایج نشان داد که بین تلقیح میکوریزا و عدم تلقیح، از نظر تأثیر بر روی کلونیزاسیون ریشه تفاوت قابل ملاحظه‌ای دیده می‌شود به‌طوری‌که درصد همزیستی ریشه در تیمار تلقیح مایکوریزا (۴۷/۳۹ درصد) نسبت به شاهد (۲۳/۸۹ درصد) افزایش معنی‌داری را نشان داد (جدول ۴). افزودن ورمی‌کمپوست به خاک به‌عنوان کود آلی با بهبود شرایط فیزیکی خاک محیط مناسبی را برای گسترش و فعالیت ریز موجودات و فرآیندهای زیستی خاک فراهم می‌کند (۲). می‌توان استنباط کرد که با تلقیح میکوریزایی، جمعیت این قارچ به‌طور قابل توجهی در مقایسه با شاهد افزایش یافته و به همین دلیل سبب بهبود درصد همزیستی ریشه در رازیانه شده است. در همین رابطه کاپور و همکاران (۲۰۰۴) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. آنها مشاهده نمودند که درصد همزیستی ریشه رازیانه در تلقیح با دو گونه قارچ میکوریزا *Glomus macrocarpum* و *Glomus fasciculatum* به طرز چشمگیری بیشتر از تیمار عدم تلقیح بود (۱۵). همچنین مقایسات میانگین اثر تیمارها بر روی درصد کلونیزاسیون نشان داد که بین مصرف چهار و هشت تن ورمی‌کمپوست در هکتار از نظر تأثیر بر درصد کلونیزاسیون تفاوت آماری وجود نداشت. هرچند که بین کاربرد چهار و هشت تن ورمی‌کمپوست با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت.



شکل ٤- تأثیر تیمار مختلف کودی بر عملکرد اسانس (V، M و H به‌ترتیب ورمی‌کمپوست v_1 (عدم مصرف)، v_2 (٤ تن در هکتار) و v_3 (٨ تن در هکتار)، میکوریزا m_1 (عدم تلقیح) و m_2 (تلقیح قارچ و اسید هیومیک) h_1 (عدم مصرف) و h_2 (مصرف اسید هیومیک)

Figure 4- Effects of fertilizer treatments on essence yield. (V, M, H; vermicompost: v_1 (control), v_2 (4 ton ha^{-1}), v_3 (8 ton ha^{-1}); m_1 (control), m_2 (mycorrhizal fungi); h_1 (control), h_2 (humic acid)



شکل ٥- رابطه بین آنتول و دیگر ترکیبات (فنکون، استراگول و لیمونن) موجود در اسانس دانه گیاه رازیانه

Figure 5- Correlation between Anethole and other compounds in seed essence

به‌طوری‌که درصد همزیستی ریشه در کاربرد هشت تن ورمی‌کمپوست معادل ۳۷/۵۲ درصد و درصد همزیستی در سطح چهار تن ورمی‌کمپوست معادل ۳۶/۹۷ درصد بود که نسبت به شاهد به‌ترتیب ۶/۶ و ۶ درصد افزایش نشان دادند (جدول ۴).

درصد آنتول: نتایج حاصل از کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی اسانس رازیانه نشان داد که در کلیه تیمارها میزان آنتول موجود در اسانس نسبت به بقیه ترکیبات سهم بیشتری را به خود اختصاص داد (جدول ۵). در این بررسی، درصد آنتول در اسانس در نتیجه اعمال تیمارهای مختلف در مقایسه با شاهد افزایش قابل ملاحظه‌ای یافت. به‌طوری‌که کمترین میزان آنتول در تیمار شاهد (۶۴/۲۴ درصد) و بیشترین میزان آنتول در تیمار کاربرد هشت تن ورمی‌کمپوست، تلقیح میکوریزا و محلول‌پاشی اسید هیومیک (۷۵/۸۹ درصد) به‌دست آمد (جدول ۵). درزی و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که کاربرد کود زیستی فسفات زیستی حاوی سنگ فسفات معدنی و یک گونه از باکتری‌های حل‌کننده فسفات به‌نام *Pseudomonas striata* به همراه مقادیر ورمی کمپوست (پنج و ۱۰ تن در هکتار) باعث افزایش کیفیت اسانس و افزایش آنتول گیاه دارویی رازیانه می‌شود. دلیل آن مهیا شدن شرایط مطلوب غذایی توسط کودهای زیستی بیان

شده است (۴). مقدار آنتول بیشتر در اسانس رازیانه، نشان‌دهنده کیفیت مطلوب اسانس این گیاه دارویی است و به نظر می‌رسد که همزیستی میکوریزایی از طریق تأثیر بر جذب عناصر غذایی و بهره‌گیری مطلوب از عوامل رشدی توسط گیاه رازیانه، موجب افزایش میزان آنتول در اسانس شده است. در همین زمینه کاپور و همکاران (۲۰۰۴) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند (۱۵). آنها نشان دادند که همزیستی ریشه گیاه دارویی رازیانه با دو گونه از قارچ‌های میکوریزا *Glomus macrocarpum* و *Glomus fasciculatum* موجب بهبود میزان آنتول در اسانس شد. نتایج پژوهش دیگری (۳) که در آن به ارزیابی اثر قارچ‌های میکوریزا بر روی کیفیت اسانس گیاه دارویی گشنیز پرداخته شده بود، نشان داد که تلقیح میکوریزایی سبب بهبود کیفیت اسانس گردید به نحوی که مقادیر اجزاء مهمی چون ژرانیول و لینالول در ترکیب اسانس نسبت به شاهد به‌طور چشمگیری افزایش یافت. از آنجا که در پژوهش مذکور غلظت فسفر در گیاه افزایش یافته بود. این محققان بهبود کیفیت اسانس را به بهبود جذب فسفر ارتباط دادند (۳). ورمی‌کمپوست غنی از عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف بوده و در بهبود فرآیندهای حیاتی خاک نقش مؤثری ایفا می‌کند. بنابراین مصرف آن می‌تواند موجب افزایش بیوماس گیاهی و تسریع در گلدهی شود. انوار و همکاران (۲۰۰۵) در پژوهش خود بر روی ریحان نشان دادند که در صورت مصرف ورمی‌کمپوست، کیفیت اسانس نسبت به کنترل برتری محسوسی داشت، به‌طوری‌که مقادیر لینالول و متیل کاویکول موجود در اسانس بیشتر بود (۲). نتیجه به‌دست آمده از مقایسه اسانس بین تیمارهای مختلف کود زیستی و شاهد مؤید این است که کاربرد تیمارهای مطلوب کود زیستی، می‌تواند عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف را در مراحل مختلف رشد در اختیار گیاه رازیانه قرار داده و منجر به افزایش کیفیت اسانس یعنی میزان آنتول شود.

درصد استراگول فنکون و لیمونن: درصد استراگول در کلیه تیمارهای کودی در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت (جدول ۵). در بین تیمارهای کودی، ترکیب تیماری کاربرد ۸ تن ورمی‌کمپوست در هکتار همراه با تلقیح میکوریزا و محلول‌پاشی اسید هیومیک دارای کمترین مقدار استراگول در اسانس (معادل ۳/۲۲ درصد) و تیمار شاهد دارای بیشترین میزان استراگول (معادل ۶/۵۴ درصد) در اسانس بودند (جدول ۵). اسانس‌ها ترکیبات ترپنوئیدی هستند و واحدهای سازنده آنها یعنی ایزوترپنوئیدها نیاز مبرم به ATP و NADPH دارند. با توجه به این که عناصری مانند نیتروژن برای تشکیل ترکیبات اخیر لازم است، در نتیجه می‌توان گفت که تیمارهای کودی مورد آزمایش با بهبود میزان این ترکیبات نسبت به شاهد باعث بهبود میزان آنتول اسانس شدند (۷)، از سوی دیگر افزایش در میزان این ترکیب باعث کاهش در ترکیبات دیگر از قبیل استراگول شد. در بین تیمارهای کودی تیمار شاهد بیشترین درصد (۱۲/۲۱) و تیمار کاربرد ۸ تن ورمی‌کمپوست و تلقیح میکوریزا و محلول‌پاشی اسید هیومیک کمترین میزان فنکون (۸/۲۳ درصد) را داشتند (جدول ۵). به نظر می‌رسد که همزیستی میکوریزایی از طریق بهبود میزان آنتول رازیانه، سبب کاهش میزان فنکون در اسانس آن می‌شود (شکل ۵). نتیجه این پژوهش با تحقیقات کاپور و همکاران (۲۰۰۴) مطابقت دارد (۱۵). نتایج شریفی عاشورآبادی و همکاران (۲۰۰۲) و کاپور و همکاران (۲۰۰۴) مبین آن است که مصرف کودهای زیستی و آلی موجب تقلیل فنکون در اسانس رازیانه می‌گردد (۱۵ و ۳۰). در بین تیمارهای کودی، تیمار شاهد بیشترین میزان لیمونن در اسانس (۵/۵۲ درصد) و ترکیب تیماری سطح سوم ورمی‌کمپوست همراه با تلقیح میکوریزا و محلول‌پاشی اسید هیومیک کمترین میزان (۳/۰۱ درصد) لیمونن را داشتند (جدول ۵). همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود با افزایش میزان آنتول در اسانس، درصد لیمونن کاهش می‌یابد (شکل ۵). درزی و همکاران (۲۰۰۸) با مطالعه اثر کودهای زیستی بر ترکیبات اسانس رازیانه گزارش کردند که کاربرد میکوریزا، ورمی‌کمپوست و تلفیق آنها با افزایش در میزان آنتول باعث کاهش میزان لیمونن در اسانس این گیاه می‌شود (۷). تیمارهای کودی به‌کار رفته در این بررسی با بهبود شرایط فیزیکی و فرآیندهای حیاتی خاک، ضمن ایجاد یک بستر مناسب برای رشد ریشه، فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه رازیانه را افزایش داده و در نهایت سبب افزایش در میزان آنتول در اسانس شدند، که این افزایش در میزان آنتول همزمان سبب کاهش در میزان لیمونن شد.

نتیجه‌گیری

انجام این تحقیق به خوبی تأثیر قابل ملاحظه مصرف ورمی‌کمپوست، تلقیح با قارچ میکوریزا و کاربرد محلول‌پاشی اسید هیومیک را بر کمیت و کیفیت گیاه رازیانه نشان داد. به‌طوری‌که عملکرد دانه، درصد و عملکرد اسانس، میزان آنتول در اسانس و درصد کلونیزاسیون در گیاه رازیانه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر این عوامل قرار گرفت. این عوامل بدون ایجاد صدمات زیست محیطی و با حفظ پایداری محیط و فراهم‌آوری عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، سبب افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی می‌شوند. در چند دهه‌ی اخیر مصرف نهاده‌های شیمیایی در اراضی کشاورزی موجب معضلات زیست محیطی عدیده‌ای از جمله آلودگی منابع آب، افت کیفیت محصولات کشاورزی، کاهش میزان حاصلخیزی خاک‌ها، مسمومیت انسان، دام و آبزیان، از بین رفتن حشرات مفید و میکروفلور خاک گردیده است. کشاورزی پایدار برپایه مصرف کودهای زیستی با هدف حذف یا تقلیل چشمگیر در مصرف نهاده‌های شیمیایی، یک راه حل مطلوب جهت غلبه بر این مشکلات به‌شمار می‌آید.

References

1. Abbott, L. K., and Murphy, D. V. 2007. Soil Biology Fertility: A key to sustainable land use in agriculture. Springer. pp 268.
2. Anwar, M., Patra, D. D., Chand, S., Alpesh, K., Naqvi, A. A., and Khanuja, S. P. S. 2005. Effect of organic manures and inorganic fertilizer on growth, herb and oil yield, nutrient accumulation, and oil quality of French basil. Communications in Soil Science and Plant Analysis 36: 1737-1746.
3. Arancon, N. Q., Edwards, C. A., Bierman. P., Welch, C., and Metzer, J. D. 2004.Influence of vermicomposts on field strawberries: effect on growth and yields. Bioresearch Tech. 93: 145-153.
4. Astaraei, A. 2006. Effects of Municipal solid waste compost and vermicompost on yield and yield components of *Pimpinella anisum* L. Scientific and Research Journal of Iranian Medicinal and Aromatic Plants 22 (3): 180-187. (in Persian with English abstract).
5. Azizi, M., Lakzian, A., and Baghani, M. 2004. Study the effects of various amounts of vermicompost on growth characters and essence yield of *Ocimum basilicum* L. Proceeding of 2nd congress of medicinal plants. Shahed University. (in Persian with English abstract).
6. Azizi, M., Rezvani, F., Hasan zadeh, M., Lakzian, A., and Nemati, H. 2008. Effects of various vermicompost and irrigation levels on morphological and essence yield of *Matricaria recutita* L. Iranian Medicinal and Aromatic Plant Research 24 (1):82-93. (in Persian with English abstract).
7. Darzi, M. T., Ghalavand, A., and Rajali, F. 2008. Study the effects of mycorrhiza, vermicompost and biophosphate on flowering, biological yield and colonization of *Foeniculum vulgar* MiLL. Journal of Iraniann Crop Science 10 (1): 88-109. (in Persian with English abstract).
8. Darzi, M. T., Ghalavand, A., Rajali, F., and Sefidkan, F. 2006. Study the effects of biofertilizers on yield and yield components of *Foeniculum vulgar* MiLL. Scientific and Research Journal of Iranian Medicinal and Aromatic Plants 22 (4): 276-292. (in Persian with English abstract).
9. Darzi, M. T., Rajali, F., and Haj seid javadi, M. H. 2009. The effects of biofertilizers on quantity and quality of *Pimpinella anisum* L. National Conference on the development of iranian medicinal plants. Tehran, Iran. (in Persian with English abstract).
10. Freitas, M. S. M., Martins, M. A., and VieiraI, J. C. 2004. Yield and quality of essential oils of *Mentha arvensis* in response to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 9: 887-894.
11. Fujiu, C., Dao, Y., and Quing Sheng, W. 1995. Physiological effects of humic acid on drought resistance of wheat (in Chinese). Yingyong Shengtai Xuebao 6: 363-367.
12. Ghorbani, S., Khazaeei, H. R., Kafi, M., and Banayan aval, M. 2010. Effects of humic acid on yield and yield components of maize. Journal of Agroecology 2 (1): 111-118. (in Persian with English abstract).
13. Giovannetti, M., and Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist 84: 489-500.
14. Gupta, M. L., Prasad, A., Ram, M., and Kumar, S. 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasiculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. Bioresource Technology 81: 77-79.
15. Kapoor, R., Giri, B., and Mukerji, K. G. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgar* on mycorrhizal inoculation supplemented with P fertilizer. Bioresource Technology 93: 307-311.
16. Kapoor, R., Giri, B., and Mukerji, K. G. 2002. *Glomus macrocarpum*: a potential bioinoculant to improve essential oil quality and concentration in dill (*Anethum graveolens* L.) and carum (*Trachyspermum ammi*). World Journal of Microbiology and Biotechnology 18 (5): 459-463.
17. Kapoor, R., Giri. B., and Mukerji, K. G. 2002. Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum*) to enhance the concentration and quality of essential oil. Journal of the Science of Food and Agriculture 82 (4): 339-342.
18. Kapoor, R., Giri, B., and Mukerji, G. 2001. Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum* L) to enhance the concentration and quality of essential oil. Journal of the Science of Food and Agriculture 82: 339-342.
19. Khaosaad, T., Vierheilig, H., Nell, M., Zitterl-Eglseer, K., and Novak, J. 2006. Arbuscular mycorrhiza alters the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., *Lamiaceae*). Mycorrhiza 16: 443-446.
20. Koocheki, A., Jahan, M., and Nassiri Mahallati, M. 2008. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and free-living nitrogen-fixing bacteria on growth characteristic of corn (*Zea mays* L.) under organic and conventional cropping systems. 2nd conference of the international society of organic agriculture research (ISOFAR). Modena. Italia.
21. Loomis, W. D., and Corteau, R. 1972. Essential oil biosynthesis. Recently Advance Phytochem. 6: 147-185.
22. Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., and Vianello, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry 34: 1527-1536.
23. Rezvani Moghaddam, P., Bakhshaei, S., Ghaffori, A., and Khorramdel, S. 2009. Effects of biofertilizers and vermicompost on quantitative traits of *Plantago psyllum* L. National Conference on the development of iranian

medicinal plants. Tehran, Iran. (in Persian with English abstract).
24. Sabzevari, M. 2009. Effects of humic acid on root and shoot growth of wheat. (var. Sabalan and Sauonz). Journal of Water and Soil 23 (2):87-94. (in Persian with English abstract).
25. Salehi, A., Ghalavand, A., Sefidkan, F., and Asgharzadeh, A. 2010. Effects of organic and biofertilizers on flower and essence yield of Matricaria *recutita* L. 11th iranaian congress of agronomy and crop breeding. Tehran. Iran. (in Persian with English abstract).
26. Salehrastin, N. 2001. Biofertilizers and their roles on sustainable agriculture. Proceeding of The need for industrial production biofertilizers on iran congress. Research, Education and agricultural extension press. (in Persian with English abstract).
27. Samavat, S., and Malakooti, M. 2006. Important use of organic acid (humic and fulvic) for increase quantity and quality agriculture productions. Water and Soil Researchers Technical 463: 1-13.
28. Sefidkan, F. 2001. Evaluation of quantity and quality of *Foeniculum vulgar* MiLL. Essence at different growing stage. Iranian Medicinal and aromatic plant research 7: 85-104. (in Persian with English abstract).
29. Serenella, N., Pizzeghelloa, D., Muscolob, A., and Vianello, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology & Biochemistry 34: 1527-1536.
30. Sharifi Ashorabadi, A., Amin, Gh. R., Mirza, M., and Rezvani, M. 2002. Effects of crop nutritional system (chemical, organic and integrated) on quality of *Foeniculum vulgar* MiLL. Research and Constructive 57 and 56: 78-87. (in Persian with English abstract).
31. Sharma, A. K. 2002. Biofertilizers for sustainable agriculture. Agro-bios. India.
32. Tavakolli Dinani, A. 2009. Evaluation of soil phosphate biofertilizers on quantity and quality of two varieties of *Anethum graveolens* L. MSc. Thesis. Islamic azad university of Rodehen. Tehran. (in Persian with English abstract).
33. Turkmen, O., Dursun, A., Turan, M., and Eric, C. 2004. Calcium and humic acid affect seed germination, growth, and nutrient content of tomato. Acta Agriculture Scandinavia. Soil and plant science 54: 168-174.
34. Yang, W. Z., and Shao, M. A. 2000. Soil Water of the Loess Plateau. Science Press, Beijing, China.
35. Yildirim, E. 2007. Foliar and soil fertilization of humic acid effect productivity and quality of tomato. Acta Agriculture Scandinavica, B. soil and plant sci. 57 (2): 182-186.

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 13, No. 4, Winter. 2016, p. 840-853

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۴، ص. ۸۵۳-۸۴۰

Evaluation of Mycorrhizal Fungi, Vermicompost and Humic Acid on Essence Yield and Root Colonization of Fennel

I. Akbari[1]- A. Gholami[2*]
Received: 22-12-2014
Accepted: 19-04-2015

Introduction

The main objective of sustainable agriculture is to decrease the off-farm inputs such as chemical fertilizers, increased farm nutrient cycle through reduced tillage and the use of biological and organic fertilizers. Studies on medicinal plants indicates that the use of sustainable farming systems provide the best conditions for the production of these plants. Mycorrhizal fungi, vermicompost and humic acid are samples of biological and organic fertilizer that can be used, to eliminate or substantially reduce the use of chemical inputs in order to increase the quantity, quality and stability of the products. Mycorrhizal fungi are one of the most important rhizosphere microorganisms which have symbiotic relation with root of most crops. Mycorrhizal symbiosis improves the soil physical (through expansion of hyphae of fungus), chemical (through increased absorption of nutrients) and biological (the soil food web) quality. These fungus increased nutrient uptake, such as phosphorus and some micronutrients, water uptake, reducing the negative effects of environmental stress and increase resistance to pathogens and improve the quality of their host plants. Fennel (Foeniculum vulgare Mill) is one of the most important medicinal plants, as the essential oil from the seeds used in a variety of industries, pharmaceutical, food and cosmetic use. Anethole is important component of the essential oil of fennel seed.

Materials and Methods

This experiment was conducted as a factorial based on randomized complete block design in order to evaluate the effects of vermicompost application, humic acid and mycorrhizal fungi on quantitative and qualitative aspects of fennel yield at experimental farm of Shahrood University during growing season of 1391-92. This experiment includes 12 treatments and 3 applications. Vermicompost levels include: v1 (no application) v2 (4 ton ha^{-1}) v3 (8 ton ha^{-1}). Mycorrhizal fungi include: m1 (no inoculation) and m2 (inoculation) and humic acid include: h1(no application) and h2 (application). Each plot had 5 rows with row spacing of 50 cm and row length of 5 m was considered. Ten grams mycorrhizal fungi were added to the soil under each seed. Humic acid was sprayed in 3 stages (vegetative, reproductive and seed filling stage) according to the recommended dose (200 mg per liter). Sampling and measuring of traits were done at the end of the season and after removal of border rows. A 50 gram sample of each plot milled and then essence collected with Clevenger for three hours using water distillation. Percent of fungal colonization obtained with Gridline Intersect Method. Finally, for analysis of data and drawing shapes, MSTAT-C software and Microsoft Excel were used. Comparison of the least significant difference test (LSD) was conducted at the 5% level.

Results and Discussion

Results of this study showed the main effects of experimental factors on seed yield, essence percent and yield were significant. Comparison of mean results showed the highest seed yield (1119.37 kg ha^{-1}) obtained from mycorrhizal colonization. With increasing vermicompost applying, seed yield also increased. So, the greatest and lowest seed yield obtained from 8 ton ha^{-1} vermicompost and control plots (1315 and 1016 kg ha^{-1}), respectively. With humic acid foliar application, seed yield increased about 18 percent. In this experiment essence percent significantly increased due to mycorrhizal colonization. Essence percent of fennel seeds showed, the highest value of essence percent (2.83%) obtained from 8 $ton.ha^{-1}$ vermicompost and the lowest essence was obtained from control plots (2.15%). Seed essence percent significantly increased due to humic acid foliar application compared with control plots (2.6% and 2.4% respectively). Essence yield significantly increased due to mycorrhizal inoculation (31.67 kg ha^{-1}). Vermicompost application increased essence yield about 64 and 25 percent compared with control plots. Compared to control, humic acid increased essence yield by 22 percent. Mycorrhizal inoculation significantly increased root colonization compared with control plots (47.39 and 23.89 %, respectively). Application of vermicompost increased root colonization by about 6% compared to control

1 and 2- Post graduate and Associate Professor, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran
(*- Corresponding Author Email: ahgholami@yahoo.com)

plots. Combined effects of vermicompost and mycorrhiza on seed yield and essence percent were significant. Combination effects of vermicompost and mycorrhiza showed, seed yield increased about 45 percent. Moreover, combination of mycorrhiza and 8 ton.ha^{-1} vermicompost resulted in the highest seed essence yield (3.09 kg ha^{-1}) that significantly was higher than control polts (2.11 kg ha^{-1}) .The threeway interactions of factors on seed yield and essence percent was also significant. The highest essence percent of seed obtained from combination of 8 ton.ha^{-1} with humic acid and mycorrhizal inoculation (3.09 %) which significantly was higher than control plots (1.99%). In this treatment essence yield was 36% higher than control plots. In general, the highest amounts of anethole obtained from 8 ton ha^{-1} with humic acid and mycorrhizal inoculation. On the other hand, with increase in anethole the amounts of stragol, fenkon and limonene per seed essence decreased.

Conclusions

Results of this study showed that vermicompost and humic acid application and also mycorrhizal colonization, improved the quantitative and qualitative yield of fennel. So, the seed yield, essence yield and root colonization significantly affected by these factors. These factors without causing environmental damage, provide nutrients for medicinal plants, therefore improved the yield and quality.

Keywords: Anethole, Biofertilizer, Essence, Fennel, Organic manure