



## اثر کودهای زیستی بر محتوی کلروفیل و میزان آنتوسیانین گیاه

### سر خارگل (*Echinaceae purpurea*)

مهسا تقی زاده<sup>۱</sup>، پژمان مرادی<sup>۲\*</sup>، عباس هانی<sup>۳</sup>

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران

۲. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه، ایران

۳. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه، ایران

Email: (taghizadeh.mahsa68@gmail.com)

#### چکیده

به منظور ارزیابی اثر کودهای بیولوژیک بر خصوصیات فیزیولوژی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinaceae purpurea*) آزمایشی در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده علوم دانشگاه تهران واقع در محمدرشهر کرج در سال زراعی ۱۳۹۴ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل کود بیولوژیک نیتروکسین، کود بارور، ترکیب توأم کودهای نیتروکسین + بارور و شاهد (بدون مصرف کود) بودند. نتایج نشان داد تیمارها اثر معنی داری روی محتوی کلروفیل کل و میزان آنتوسیانین گیاه داشتند. تیمار ترکیب کود نیتروکسین + بارور تأثیر معنی داری بر میزان کلروفیل کل و تیمار بارور بیشترین تأثیر را بر میزان آنتوسیانین داشتند. بنابراین کاربرد کودهای زیستی سبب افزایش عملکرد سرخارگل شد.

واژه‌های کلیدی: باکتری حل کننده فسفات، گیاه دارویی، کاروفیل، آنتوسیانین

#### مقدمه

از آنجا که در یک سیستم خاک-گیاه، محیط ریشه (رایزوسفر) حکم مرکز ثقل انرژی در خاک است، لذا هر تغییری در مدیریت حاصلخیزی خاک اعم از توازن یا عدم توازن کود دهی و یا استفاده از مواد آلی و غیره، پس خور زیادی در روابط خاک-گیاه داشته و متعاقباً تولیدات کشاورزی و پایداری بوم نظام را تحت تأثیر قرار می دهد (Mandel et al, 2007). سرخارگل (*Echinaceae purpurea*) یکی از گیاهان تیره (*Asteraceae*) است که بومی آمریکای شمالی است ولی امروزه در اکثر نقاط اروپا و آسیا و همچنین ایران کشت می شود. در گذشته این گیاه را برای درمان مارگزیدگی، بیماری های لثه و دهان، سرماخوردگی، سرفه و گلو درد استفاده می نمودند. در ۵۰ سال اخیر این گیاه به دلیل خواص ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد باکتریایی شهرت جهانی یافته است و ترکیبات حاصل از آن در گروه مواد تقویت کننده سیستم ایمنی بدن به شمار می روند (Gladisheva et al, 1995). باتوجه به اهمیت و نقش گیاهان دارویی در صنایع مختلف، نکته حائز



اهمیت در تولید و پرورش این گونه های ارزشمند، افزایش تولید زیست توده آنها بدون کاربرد نهاده های مضر شیمیایی اعم از کود یا سموم دفع آفات و علف های هرز می باشد. کودهای زیستی از طریق افزایش میزان جذب و دسترسی به عناصر غذایی، کنترل زیستی، تولید هورمون ها، کاهش سطح تولید اتیلن در گیاه و ایجاد مقاومت سیستمیک رشد گیاه را بهبود می دهند (Van Loon et al, 1998). در آزمایشی روی گیاه دارویی بابونه شیرازی (*Marticaria chamomilla*) نتایج بدست آمده نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل در تیمارهای نیتروکسین و باکتری حل کننده فسفات مشاهده شد (Vital et al, 2002). سانچزگوین و همکاران در سال ۲۰۰۵ در آزمایشی بررسی اثر کودهای زیستی روی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*) دریافتند که کاربرد این کودها در همیشه بهار باعث افزایش میزان آنتوسیانین شد. در این مطالعه تأثیر کودهای زیستی (نیتروکسین و بارور) بر عملکرد صفات فیزیولوژی گیاه دارویی سرخار گل بررسی شده است.

مواد و روشها:

این پژوهش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل: کود های بیولوژیک نیتروکسین (N)، بارور (B)، ترکیب کود نیتروکسین+بارور (NB) و شاهد (بدون مصرف کود) بود. پس از اجرای عملیات خاکورزی و پیاده کردن نقشه طرح، نشاهای ۹۰ روزه سرخار گل که در گلخانه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تولید شده بودند در ۲۱ اردیبهشت ماه به صورت دستی در زمین اصلی کاشته شدند. فاصله نشاءها روی خطوط کشت ۳۰ سانتیمتر در نظر گرفته شد. آرایش کشت به صورت ضربدری بوده و بلافاصله پس از کشت آبیاری صورت گرفت در طول دوره رشد عملیات داشت شامل آبیاری، وجین علفهای هرز و تنک بر حسب نیاز گیاه و مزرعه انجام شد. تیمارهای کودی در یک مرحله با توجه به میزان توصیه شده برای مصرف کود نیتروکسین برای هر واحد آزمایشی استفاده شد. در مرحله نشاء کاری ته ریشه ها به کودهای بیولوژیک زده و کشت شدند. در زمان گلدهی که از اواخر خرداد شروع شد، برداشت گلها به صورت دستی در زمان مناسب انجام گرفت و تا پایان مرحله گلدهی (شهریور ماه) به طور مرتب انجام شد. در مرحله ی ۷۰ در صد گلدهی از هر واحد آزمایشی تعداد پنج بوته به عنوان نمونه انتخاب شد و محتوای کلروفیل و آنتوسیانین اندازه گیری شد.

#### ۱) اندازه گیری میزان کلروفیل

جهت اندازه گیری محتوای کلروفیل مقدار نیم گرم از ماده تر گیاهی را در هاون چینی ریخته، سپس با استفاده از نیتروژن مایع آن را خرد کرده و به خوبی له نماید سپس ۲۰ میلی لیتر استن ۸۰٪ به نمونه اضافه، سپس در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰



دقیقه قرار دهید عصاره جدا شده فوقانی حاصل از سانتریفیوژ را به بالن شیشه‌ای منتقل کنید مقداری از نمونه داخل بالن را در کووت اسپکتروفتومتر ریخته و سپس به طور جداگانه در طول موج های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a ، و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b توسط اسپکتروفتومتر مقدار جذب را قرائت نمایید در نهایت با استفاده از فرمول‌های موجود میزان کلروفیل a ، b بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه و سپس کلروفیل کل به دست می آید (ارنون، ۱۹۶۷).

$$\text{Chlorophyll } a = (19.3 * A_{663} - 0.86 * A_{645}) V/100W$$

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

V=حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)

A=جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

W=وزن تر نمونه بر حسب گر

میزان کلروفیل کل از مجموع کلروفیل a و b بدست می آید.

۲) اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین

همچنین جهت اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین بدین ترتیب که ابتدا ۰/۵ گرم گلبرگ تازه گل توزین گردید و به قطعات کوچک تبدیل و سپس در هاون کاملاً خرد وله گردید. جهت استخراج آنتوسیانین به هر نمونه حجم معینی از محلول حاوی مخلوط (متانول  $99^{CC} + 1^{CC}$  اسید کلریدریک ۱٪) اضافه نموده سپس نمونه در داخل فالکون ریخته شده و ۲۴ ساعت در یخچال در دمای  $4^{\circ}C$  قرار گرفت. نهایتاً میزان آنتوسیانین پس از رقیق سازی مناسب آن با دستگاه اسپکتر و فتومتر و در طول موج های ۵۳۰ و ۶۷۵ نانومتر قرائت گردید.

$$\text{آنتوسیانین} = A_{530nm} - 0/25(A_{657nm})$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

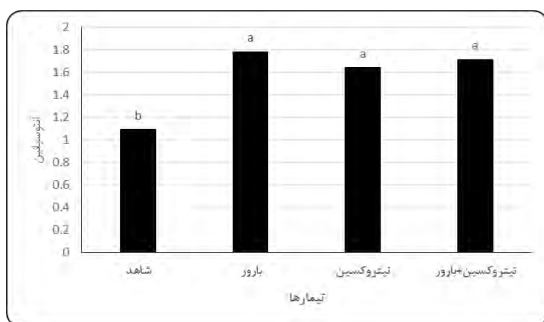
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارها در سطح ۱ درصد بر محتوی کلروفیل تاثیر داشته اند (جدول ۱) و مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بهترین تأثیر را بر کلروفیل تیمار توام نیتروکسین و بارور داشته اند و کمترین تأثیر را بارور و شاهد داشته اند (شکل ۱). از طرف دیگر ، کاربرد کود بارور نسبت به سایر تیمارها به طور معنی داری سبب افزایش میزان آنتوسیانین سرخارگل شد (شکل ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات فیزیولوژیکی سرخارگل تحت تأثیر تیمارهای مختلف کودهای بیولوژیک

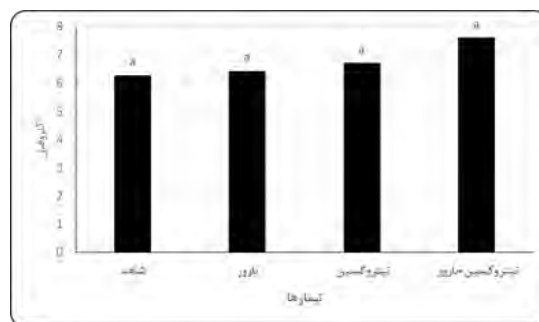
م‌ظن‌گین‌م‌ربعات			
م‌ی‌ز‌ان‌ت‌س‌ئ‌ان‌ی‌ان	م‌ی‌ز‌ان‌ک‌ل‌و‌ف‌ی‌ل	درجه آزادی	م‌ل‌ب‌ع‌ت‌ی‌غ‌ی‌ر
		3	تکرار
0/88**	42/3 <sup>Ns</sup>	8	ت‌ی‌م‌ار
0/43	42/43	44	خ‌ط‌ای‌ آ‌ز‌م‌ی‌ش
4/4	3/41	44/4	ض‌ر‌ی‌ پ‌غ‌ی‌رات

محتوی کلروفیل: تأثیر معنی دار تیمارهای زیستی بر محتوای کلروفیل را اینگونه میتوان بیان کرد که مقدار کربن تثبیت شده در اثر همزیستی میکروریزایی بسیار بیشتر از قارچ است از این رو قارچ‌های میکروریزا سبب افزایش سرعت فتوسنتز در گیاه هم زیست خود می شوند (Smith and et al.1998).

میزان آنتوسیانین: افزایش میزان آنتوسیانین توسط کود بارور را این گونه میتوان توجیه کرد که با افزایش باکتری‌های حل کننده ی فسفر در صد رنگدانه های موجود در گلبرها افزایش میابد (Leithy et al 2006).



شکل ۲- تأثیر تیمارهای مختلف بر آنتوسیانین



شکل ۱- تأثیر تیمارهای مختلف بر کلروفیل

نتیجه گیری کلی:

بر اساس نتایج تیمار نیتروکسین + بارور (NB) به عنوان تیمار برتر برای افزایش محتوی کلروفیل و تیمار بارور برای افزایش میزان آنتوسیانین در این آزمایش معرفی می شوند. سرخارگل تحت تأثیر این توصیه کودی ، بیشترین محتوی کلروفیل کل و بالاترین میزان آنتوسیانین را تولید کرد. قابلیت استفاده تمام پیکر رویشی سرخارگل برای استخراج عصاره ومواد مؤثره دارویی از یک سو و عدم کاربرد کود شیمیایی در این تیمار که زمینه ساز پایداری خاک و سلامتی بوم نظام



**2<sup>nd</sup> International conference on sustainable development, strategies and challenges**  
**With a focus on Agriculture, Natural Resources, Environment and Tourism**  
**23-25 Feb 2016, Tabriz , Iran**

زراعی در درازمدت میباشد از سوی دیگر انتخاب این شیوه تغذیه ای به عنوان تیمار برتر را موجه می‌نماید.

- 1-Mandal, A., A.K. Patra, D. Singh, A. Swarup and R. Ebhin Masto. 2007. Effect of long- term application of manure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages. *Bioresource Technology*. 98: 3585–3592.
- 2- Gladisheva ON. Experimental studies on production and processing technology, and establishment of raw material uses and seed plantation of *E. Purpurea* under samara region, *Russian Acad. Agr. Sci.* 1995, p: 214–3.
- 3-Van Loon, L.C. Bakker, P., and Pieterse, C.M.J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 36; 453-483.
- 4- Sanches Govin E, Rodrigues Gonzales H and Carballo Guerra C. Influencia de los abonos organicos y biofertilizantes en la calidad de las especies medicinales *calendula officinalis* L. y *Matricaria recutita* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 2005; 10(1):1.
- 5- Smith, S.E. and D.J. Read. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, San Diego, CA.