

## Evaluation of quantitative and qualitative characteristics of *Calendula officinalis* L. in different treatments of seed priming and biofertilizer

Abdollah Hassanzadeh Ghorttapeh<sup>1\*</sup> | Saeid Heydarzadeh<sup>2</sup> | Neda Ghaderi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Horticulture Crop Science Research Department, West Azerbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center (AREEO), Urmia, Iran, Email: a.g.hassanzadeh@gmail.com

<sup>2</sup> PhD Graduated in Agronomy, College of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

<sup>3</sup> MSc Graduated, College of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

Article Info	ABSTRACT
<p><b>Article type:</b> Research Full Paper</p> <p><b>Article history:</b> Received: 2021/03/28 Revised: 2021/05/22 Accepted: 2021/06/22</p> <p><b>Keywords:</b> <i>Azotobacter</i> Phosphate fertilizer Seed treatment Sustainable agriculture Yield</p>	<p><b>Background and objectives:</b> The management of soil elements using biofertilizers and seed priming is one of the sustainable agricultural pillars that can be a good strategy in providing healthy food, environmental and human health. Priming shortens the planting time until the seeds germinate and protects the living and non-living factors in the critical stage of seedling establishment. Also, this treatment causes uniformity of seedling emergence, which leads to uniform stability and improved crop yield. Also, one of the ways to achieve sustainable agricultural goals is to use microorganisms that play an important role in meeting the nutritional needs of plants. Biofertilizers contain microorganisms. When used on seeds, rootstocks, or in the soil, they stimulate the growth of the roots or the plant itself, and by increasing the availability of minerals, they increase plant growth an environmental point of view, they are acceptable.</p> <p><b>Materials and Methods:</b> This experiment was performed as a factorial in the form of a randomized complete block design with three replications on the Field of the Agricultural Research and Natural Resources Center of West Azerbaijan in the 2013 crop year. Experimental treatments included five levels of priming (control, hydropreiming, osmopriming, soaking in hot water and hormone priming) and four levels of biofertilizer (control, <i>Azotobacter</i>, <i>Phosphate</i>, <i>Azotobacter</i> + <i>Phosphate</i>) on marigold seeds. Under pre-treatment conditions, the seeds were soaked in different solutions at room temperature for eight hours before sowing and immediately after sowing on Filter paper and re-dried for 24 hours. In order to inoculate seeds into biofertilizers (<i>Azotobacter</i> and <i>Phosphate</i>), first mix the seeds thoroughly with gum arabic and bacterium <i>Azotobacter</i> and <i>Phosphate</i> and stir to increase the contact surface of gum arabic and bacterium with marigold seeds.</p> <p><b>Results:</b> The results showed that the highest plant height (44.12 cm), flower weight (16.95 g plant<sup>-1</sup>), flower yield (339.13 g m<sup>-2</sup>), petal yield (294.13 Kg ha<sup>-1</sup>), seed yield (1840.13 Kg ha<sup>-1</sup>) and essential oil yield (2.21 Kg ha<sup>-1</sup>) were related to the interaction effect of hormone priming interaction and combined application of <i>Azotobacter</i> + <i>Phosphate</i> fertilizer. The highest biological yield (5768.30 Kg ha<sup>-1</sup>) was obtained under the influence of hormone priming and <i>Azotobacter</i>. The maximum grain harvest index (35.43%) was observed in hormone priming treatment</p>

---

---

without the use of biofertilizer, which was not significantly different from the combined treatment of osmopriming and hormone priming under the application of fertile *Phosphate* fertilizer. The highest number of branches (30.15) was related to hormone treatment and in terms of biofertilizer, the highest number of branches (29.77) was observed in the combined treatment of *Azotobacter* + *Phosphate* fertilizer. Flower yield, seed yield, percentage of essential oil and marigold essential oil yield with combined application of biofertilizers (*Azotobacter* + *Phosphate* fertilizer) under the influence of hormone priming compared to other treatments, respectively 52, 40, 30 and 58% (at a significant level of probability 1 %) increased.

**Conclusion:** In general, the findings of this study show that priming of marigold seeds was superior to control treatment (without priming) due to increased yield components. Also, the use of a combination of *Azotobacter* + *Phosphate* fertilizer increased yield, grain yield components and marigold essential oil yield significantly compared to other fertilizer treatments. Therefore, according to the findings of this study, in order to increase and improve the quantitative and qualitative characteristics of marigold plant, the combined use of the *Azotobacter* with *Phosphate* fertilizer under the influence of hormone priming can be desirable in the direction of sustainable agriculture.

---

Cite this article: Hassanzadeh Ghorttapeh, A., Heydarzadeh, S., Ghaderi, N. 2022. Evaluation of quantitative and qualitative characteristics of *Calendula officinalis* L. in different treatments of seed priming and biofertilizer. *Crop Production Journal*, 14 (4), 123-140.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/EJCP.2022.18188.2348

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

---



## بررسی خصوصیات کمی و کیفی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.)

### در تیمارهای متفاوت پرایمینگ بذر و کود زیستی

عبدالله حسن زاده قورت تپه<sup>۱\*</sup> | سعید حیدرزاده<sup>۲</sup> | ندا قادری<sup>۳</sup>

- بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران، رایانامه: a.g.hassanzadeh@gmail.com
- دانش آموخته دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
- دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی-پژوهشی	<b>سابقه و هدف:</b> مدیریت عناصر خاک با استفاده از کودهای زیستی و پرایمینگ بذرها از ارکان کشاورزی پایدار محسوب می‌شود که می‌تواند راهبرد مناسبی در تأمین مواد غذایی سالم، سلامت محیط زیست و سلامت انسان‌ها باشد. پرایمینگ باعث کوتاه شدن زمان کاشت تا سبز شدن و حفاظت بذرها از عوامل زنده و غیرزنده در مرحله ی بحرانی استقرار گیاهچه می‌شود. همچنین، این تیمار یکنواختی سبز شدن را موجب می‌شود که منجر به استقرار یکنواخت و بهبود عملکرد محصول می‌شوند. همچنین، یکی از راه‌های دستیابی به اهداف کشاورزی پایدار، استفاده از میکروارگانیسم‌هایی است که نقش مهمی در تأمین نیاز غذایی گیاهان دارند. کودهای زیستی، حاوی میکروارگانیسم‌هایی هستند، که استفاده آن‌ها روی بذر، سطح ریشه و یا داخل خاک، موجب تحریک محیط رشد ریشه یا گیاه شده و با افزایش قابلیت دسترسی مواد معدنی، باعث افزایش رشد گیاه می‌شود و از دیدگاه محیط زیستی قابل پذیرش هستند.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۰۸ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۰۳/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۱	<b>مواد و روش‌ها:</b> این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی در سال زراعی ۱۳۹۲ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج سطح پرایمینگ (شاهد، هیدروپرایمینگ، اسموپرایمینگ، خیساندن در آب جوش و هورمون پرایمینگ) و چهار سطح کود زیستی (شاهد، ازتوباکتر، فسفات بارور، ازتوباکتر + فسفات بارور) روی گیاه همیشه بهار بود. در شرایط پیش تیمار، بذرهای همیشه بهار به مدت هشت ساعت در محلولهای مختلف پرایمینگ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از طی شدن دوره مورد نظر، بذرها با آب مقطر شسته و روی کاغذ صافی کاملاً خشک شدند که بعد از خشک شدن بلافاصله کشت گردید. به منظور تلقیح بذرها به کود زیستی (باکتری ازتوباکتر و فسفات بارور)، ابتدا بذرها با صمغ عربی، باکتری ازتوباکتر و فسفات بارور به طور کامل مخلوط و به هم زده شدند تا سطح تماس صمغ عربی و باکتری با بذرها افزایش یابد.
واژه‌های کلیدی: ازتوباکتر تیمار بذر فسفات بارور عملکرد کشاورزی پایدار	<b>یافته‌ها:</b> نتایج نشان داد که بیش‌ترین ارتفاع بوته (۴۴/۱۲ سانتی‌متر)، وزن گل (۱۶/۹۵ گرم در بوته)، عملکرد گل (۳۳۹/۱۳ گرم در مترمربع)، عملکرد گلبرگ (۲۹۴/۱۳ کیلوگرم در هکتار)، عملکرد دانه (۱۸۴۰/۱۳ کیلوگرم در هکتار) و عملکرد اسانس (۲/۲۱ کیلوگرم در هکتار) مربوط به تیمار اثر متقابل

هورمون پرایمینگ و کاربرد تلفیقی از توباکتر + فسفات بارور بود. بیشترین عملکرد بیولوژیک (۵۷۶۸/۳۰ کیلوگرم در هکتار)، تحت تاثیر هورمون پرایمینگ و کاربرد از توباکتر به دست آمد. حداکثر شاخص برداشت دانه (۳۵/۴۳ درصد) در تیمار هورمون پرایمینگ و بدون کاربرد کود زیستی مشاهده شد که اختلاف معنی داری با تیمار ترکیبی اسموپرایمینگ و هورمون پرایمینگ تحت کاربرد کود زیستی فسفات بارور نداشت. بیشترین تعداد شاخه در بوته (۳۰/۱۵ عدد) مربوط به تیمار هورمون پرایمینگ و از لحاظ کود زیستی نیز بیشترین تعداد شاخه در بوته (۲۹/۷۷ عدد) در تیمار ترکیبی از توباکتر + فسفات بارور به دست آمد. به طوری که عملکرد گل، عملکرد دانه، درصد اسانس و نیز عملکرد اسانس همیشه بهار با کاربرد تلفیقی کودهای زیستی (از توباکتر + فسفات بارور) تحت تاثیر هورمون پرایمینگ نسبت به سایر تیمارها، به ترتیب ۵۲، ۴۰، ۳۰ و ۵۸ درصد (در سطح احتمال ۱ درصد) افزایش داشت.

**نتیجه گیری:** به طور کلی، یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که پرایمینگ بذرهای همیشه بهار به دلیل افزایش اجزای عملکرد نسبت به تیمار شاهد (بدون پرایمینگ) برتری داشت. همچنین، کاربرد تیمار ترکیبی از توباکتر + فسفات بارور عملکرد، اجزای عملکرد دانه و نیز عملکرد اسانس همیشه بهار را به طور معنی داری نسبت به سایر تیمارهای کودی افزایش داد. لذا با توجه به یافته‌های این تحقیق، برای افزایش و بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاه همیشه بهار، کاربرد توأم از توباکتر همراه با فسفات بارور تحت تاثیر هورمون پرایمینگ می‌تواند در راستای کشاورزی پایدار مطلوب باشد.

استناد: حسن‌زاده قورت تپه، ع.، حیدرزاده، س.، قادری، ن. (۱۴۰۰). بررسی خصوصیات کمی و کیفی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) در تیمارهای متفاوت پرایمینگ بذر و کود زیستی تولید گیاهان زراعی،

۱۴ (۴)، ۱۴۰-۱۲۳.

DOI: 10.22069/EJCP.2022.18188.2348

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.



## مقدمه

در قرن حاضر تحقیقات گسترده‌ای روی گیاهان دارویی انجام پذیرفته و داروهایی با ماده موثره طبیعی، افق‌های جدیدی را برای جامعه پزشکان و داروسازان پژوهش‌گر گشوده است. می‌توان گفت بیش‌تر از یک سوم داروهای مورد استفاده بشر را داروهایی با منشاء گیاهی تشکیل می‌دهند و این میزان رو به افزایش است (۱۰). از میان گیاهان دارویی مهم می‌توان به گیاه همیشه بهار اشاره کرد که از اهمیت زیادی در ایران و جهان برخوردار است. این گیاه یک‌ساله تا چندساله، متعلق به تیره کاسنی<sup>۱</sup> بوده و موطن اصلی این گیاه در حوزه دریای مدیترانه، خاورمیانه و اروپای مرکزی است (۹). هدف از کشت این گیاه، تولید دارو از مواد موثره موجود در گل‌ها و مخصوصاً در گلبرگ‌ها می‌باشد. گل این گیاه علاوه بر مصارف خوراکی (طعم‌دهنده و رنگ‌دهنده غذاهای مختلف) دارای مواد موثره و ترکیباتی است که در صنعت (تهیه رنگ‌های نقاشی و نایلون) و داروسازی (تهیه انواع کرم‌ها و لوسیون‌ها) کاربرد دارد (۱۷).

تنش‌های محیطی از جمله خشکی و شوری، عملکرد محصولات گیاهی را در دنیا کاهش می‌دهند. این عوامل در ایران مقدار محصول تولیدی را بیش‌تر از سایر عوامل محیطی تحت تاثیر قرار می‌دهند. یکی از راه‌های بهبود جوانه‌زنی و استقرار سریع‌تر و مناسب‌تر گیاهچه‌ها در شرایط کمبود رطوبت و همچنین دمای پایین، استفاده از پرایمینگ بذر است (۳۱). پرایمینگ روشی است که در آن اجازه داده می‌شود بذرها مقداری آب جذب کنند به‌طوری که مراحل اولیه جوانه‌زنی انجام شود، اما ریشه‌چه خارج نشود. به عبارت دیگر، بذرها تا مرحله‌ی دوم جذب آب پیش می‌روند، اما وارد مرحله‌ی سوم نمی‌شوند. پس از پرایمینگ، بذرها خشک و

همانند بذره‌های تیمار نشده (شاهد) ذخیره و کشت می‌شوند (۲۹). پیش تیمار باعث کوتاه شدن زمان کاشت تا سبز شدن و حفاظت بذرها از عوامل زنده و غیرزنده در مرحله‌ی بحرانی استقرار گیاهچه می‌شود. همچنین، پرایمینگ یکنواختی سبز شدن را موجب می‌شود که منجر به استقرار یکنواخت و بهبود عملکرد محصول می‌شوند (۵). در پرایمینگ مقدار محدودی آب در اختیار گیاه قرار می‌گیرد تا فقط مراحل مقدماتی جوانه‌زنی قبل از خروج ساقه‌چه و ریشه‌چه انجام گیرد و بذرها برای جوانه‌زنی در مراحل بعدی آماده شود (۲).

مطالعات انجام شده بر روی گیاهان دارویی (با توجه به اثرات سوء داروهای شیمیایی و سنتزی) در اکوسیستم‌های طبیعی و زراعی گویای آن است که استفاده از نظام‌های کشاورزی پایدار بهترین شرایط را برای تولید این گیاهان فراهم می‌آورد. بنابراین، رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت استقرار این سیستم و به‌کارگیری روش‌های مدیریتی آنها می‌باشد (۳۲). علاوه بر این، به‌کارگیری این روش‌ها کیفیت آنها را تضمین کرده و احتمال اثرات منفی روی کیفیت دارویی و عملکرد آنها را نیز کاهش می‌دهد. یکی از ارکان اصلی در کشاورزی پایدار استفاده از کودهای زیستی با هدف حذف یا کاهش قابل ملاحظه در مصرف نهاده‌های شیمیایی در اکوسیستم‌های زراعی است (۲۳). کودهای زیستی در مقایسه با مواد شیمیایی مزیت‌های قابل توجهی دارند، از آن جمله این که در چرخه غذایی، تولید مواد سمی و میکروبی نمی‌نمایند، قابلیت تکثیر خودبه‌خودی دارند، باعث اصلاح خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک می‌شوند و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه و از دیدگاه زیست محیطی قابل پذیرش هستند (۱۶). از این‌رو، به منظور بهبود عملکرد دانه و افزایش عملکرد کیفی گیاهان دارویی، استقرار یک سیستم کشاورزی

## 1. Asteraceae

طول جغرافیایی ۴۵ درجه و ۱۰ دقیقه و ۵۳ ثانیه شرقی با ارتفاع ۱۳۳۸ متر از سطح دریا در ۲۷ کیلومتری شمال غرب شهرستان ارومیه واقع شده است. تیمارهای این آزمایش شامل شاهد، هیدروپرایمینگ، اسموپرایمینگ (خیساندن در محلول پلی اتیلن گلیکول با پتانسیل اسمزی ۱/۵- مگا پاسکال)، خیساندن در آب جوش به مدت یک دقیقه و محلول دو درصد هورمون اکسین (ایندول استیک اسید) بودند. بذرها قبل از کاشت به مدت هشت ساعت در محلول‌های مختلف مربوطه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس غوطه‌ور شدند و به مدت بیست و چهار ساعت پس از قرار گرفتن روی کاغذ صافی و خشک شدن مجدد، بلافاصله کشت گردید. عامل دوم شامل چهار نوع کود زیستی (شاهد، ازتوباکتر، فسفات بارور، ازتوباکتر+ فسفات بارور) روی بذرها، گیاه همیشه بهار به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور تلقیح بذرها به باکتری ازتوباکتر و فسفات بارور، ابتدا بذرها را با صمغ عربی، باکتری ازتوباکتر و فسفات بارور به طور کامل مخلوط کرده و به هم زده تا سطح تماس صمغ عربی و باکتری‌ها با بذر همیشه بهار افزایش یابد. تلقیح بذرها با باکتری محرک رشد ازتوباکتر و فسفات بارور (ساخت شرکت فناوری زیستی مهر آسیا با جمعیت ۱۰۸ عدد باکتری زنده و فعال در هر گرم کود زیستی) در شرایط سایه انجام شد. این کودها از بخش تحقیقات خاک و آب مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی تهیه شدند. کاشت به صورت جوی و پشته با فاصله ردیف ۴۰ سانتی متر و فاصله بین بوته ۱۰ سانتی متر با عمق کاشت دو تا سه سانتی متر انجام گرفت. نتایج آزمون خاک نشان داد که، بافت خاک مزرعه لومی رسی بود که pH آن برابر ۷/۹ و هدایت الکتریکی آن برابر ۱/۳ دسی زیمنس بر متر بود. آبیاری در طول

پایدار و به‌کارگیری کودهای زیستی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است.

کود زیستی، ماده‌ای حاوی ریزجانداران است و هنگامی که بر روی بذر، سطح ریشه و یا در خاک استفاده شود موجب تحریک محیط رشد ریشه یا خود گیاه می‌شود و از طریق افزایش قابلیت دسترسی مواد معدنی، باعث افزایش رشد گیاه می‌شود (۱۹). برخی از اثرات باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن عبارت از افزایش رشد گیاه، تثبیت زیستی نیتروژن، توان تولید سیدروفور، تولید اتیلن در گیاه، تغییر مورفولوژی ریشه، جذب عناصر غذایی و بهبود جوانه‌زنی بذرها می‌باشد (۳۵). کودهای فسفات زیستی بارور حاوی باکتری‌هایی از جنس باسیلوس و سودوموناس می‌باشد که با استفاده از دو سازوکار ترشح اسیدهای آلی و آنزیم فسفاتاز، فسفر نامحلول خاک را به شکل قابل جذب برای گیاه در می‌آورند (۳۴). باکتری‌های حل‌کننده فسفات موجود در کود زیستی فسفات بارور در خاک اطراف ریشه گیاه مستقر شده و از ترشحات قسمت ریزوسفر ریشه گیاه تغذیه می‌کنند و در قبال آن، مقدار فسفاتی که گیاه به طور طبیعی به آن نیاز دارد را در اختیار گیاه قرار می‌دهند (۳۴).

لذا، با توجه به اثرات مثبت پرایمینگ بذر و استفاده از کودهای زیستی بر رشد و نمو گیاه و نبود مطالعه کافی روی گیاه همیشه بهار، این تحقیق به منظور بررسی اثر پرایمینگ بذرها و کود زیستی روی برخی صفات کمی و کیفی گیاه دارویی همیشه بهار انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش طی سال زراعی ۱۳۹۲ در ۳۰ کیلومتری شمال ارومیه در مزرعه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی واقع در روستای عسگر آباد کوه اجرا شد. این محل در عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۴۴ دقیقه و ۱۸ ثانیه شمالی و

فصل رشد هر ده روز یک بار انجام گرفت. در طول مدت فصل رشد عملیات وجین علف‌های هرز صورت گرفت. ارتفاع بوته و طول شاخه، تعداد شاخه، وزن گل در بوته، عملکرد گل، عملکرد گلبرگ، وزن هزاردانه، قطر طبق، عملکرد دانه و شاخص برداشت از جمله صفات مورد بررسی بودند. بوته‌های جمع‌آوری شده، در شرایط مناسب به صورت طبیعی و به دور از نور خورشید به مدت ده روز خشک شدند. بعد از خرد کردن بوته‌ها، ۲۰ گرم از نمونه‌ها با استفاده از روش تقطیر با آب و به وسیله دستگاه کلونجر اقدام به استخراج اسانس گردید. مدت زمان استخراج اسانس برای تمامی نمونه‌ها به طور یکسان ۳ ساعت بود و پس از رطوبت‌زدایی آب آن توسط سولفات سدیم، درصد اسانس تعیین شد (۱۲). عملکرد اسانس با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

رابطه ۱:

$$100 / (\text{عملکرد دانه} \times \text{میزان اسانس در } 100 \text{ گرم بذر خشک}) = \text{عملکرد اسانس}$$

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ تجزیه واریانس شدند و میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه و نمودارها توسط نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ ترسیم شدند.

### نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل بین تیمارهای پرایمینگ و کود زیستی روی تمامی صفات مورد ارزیابی (به جز تعداد شاخه در بوته) در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). **ارتفاع بوته:** با توجه به نتایج حاصل از پژوهش، پاسخ گیاه به تیمارهای مختلف پرایمینگ بسته به مصرف کود زیستی از نظر ارتفاع بوته متفاوت بود. هر چند، در هر سه تیمار ترکیبی و جداگانه ازتوباکتر و فسفات بارور نسبت به تیمار بدون کود زیستی

(شاهد)، ارتفاع بوته افزایش معنی‌داری پیدا کرده است. با این حال، ارتفاع بوته تحت هورمون پرایمینگ در تیمار ترکیبی کود زیستی و بدون مصرف کود زیستی (شاهد)، تحت هیدروپرایمینگ در شرایط مصرف فسفات بارور و تحت اسموپرایمینگ در شرایط مصرف ازتوباکتر بیش‌تر بود. همچنین، تیمارهای مختلف پرایمینگ در هر یک از تیمارهای ترکیبی و جداگانه ازتوباکتر و فسفات بارور نسبت به تیمار بدون کاربرد کود زیستی (شاهد) تاثیر موثری بر ارتفاع بوته نشان دادند (جدول ۲). با این حال، کاربرد تیمار ترکیبی ازتوباکتر + فسفات بارور و تیمار جداگانه ازتوباکتر نسبت به شاهد تحت تاثیر تیمارهای مختلف پرایمینگ نقش موثری در افزایش ارتفاع بوته نشان داد (جدول ۲). در مورد افزایش ارتفاع می‌توان بیان کرد که پیش تیمار کردن بذر، با افزایش تعداد میان‌گره و یا افزایش فاصله بین گره‌ها سبب افزایش ارتفاع همیشه بهار تحت تاثیر کودهای زیستی می‌شود (۱۵، ۲۴). کادر و همکاران (۲۰۰۲) در گندم گزارش کردند که کاربرد کودهای زیستی، از طریق توسعه بهتر سیستم ریشه‌ای، تولید محرک‌های رشدی گیاه و بهبود وضعیت آبی گیاه منجر به افزایش ارتفاع گیاه می‌شوند.

**وزن گل در بوته:** طبق نتایج حاصل، وزن گل در بوته در تیمار هورمون پرایمینگ، هیدروپرایمینگ و اسموپرایمینگ نسبت به سایر تیمارهای پرایمینگ به ترتیب تحت تیمار ترکیبی کود زیستی (ازتوباکتر + فسفات بارور)، فسفات بارور و ازتوباکتر دارای اختلاف معنی‌داری بود. همچنین، هورمون پرایمینگ در شرایط بدون مصرف کود زیستی (شاهد)، نسبت به سایر تیمارهای کودی بیش‌ترین تاثیر بر وزن گل در بوته نشان داد. وزن گل در بوته تحت تیمارهای مختلف پرایمینگ نسبت به شاهد در هر یک از تیمار ترکیبی و جداگانه کود زیستی (ازتوباکتر و فسفات بارور) افزایشی بود (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس و اریانس تیمارهای مختلف پرایمینگ و کود زیستی بر صفات کمی و کیفی گیاه دارویی همیشه بهار.

Table 1- Analysis of variance of different priming and biofertilizer treatments on quantitative and qualitative traits of Marigold medicinal plant.											
منابع تغییر	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height	وزن گل در بوته Flower weight per plant	تعداد شاخه Number of branches	عملکرد گل Flower yield	عملکرد گلبرگ Petal yield	عملکرد دانه Seed yield	عملکرد بیولوژیک Biological yield	شاخص برداشت Harvest index	میزان اسانس essential oil	عملکرد اسانس essential oil yield
تکرار Replication	2	54.2	51.9	54.8	20789	21044	1988.06	405132.2	25.2	0.001	0.001
پرایمینگ Priming	4	50.1**	78.2**	82.91**	31315**	31361**	422321.6**	3237129.4**	50.7**	0.091**	0.22**
کود زیستی Biofertilizer	3	32.5**	29.9**	50.21**	11989.3**	11909.5**	94271.3**	1526133.8**	22.4**	0.098**	1.07**
کود × پرایمینگ P × B	12	1.4**	1.52**	1.30 <sup>ns</sup>	611.1**	625.7**	3885.5**	21828.5**	2.5**	0.098**	0.14**
اشتباه آزمایشی Error	38	0.1	0.1	0.6	44	43.8	99	274.8	0.08	0.0000	0.005
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		2.9	2.57	2.97	2.57	3.11	6.4	3.3	9.3	1.17	3.23

ns, \* and \*\* indicate non-significance and significance at 5% and 1% probability levels, respectively. \* and \*\* indicate non-significance and significance at 5% and 1% probability levels, respectively.



جدول ۲- مقایسه میانگین اثر پرایمیگ بذری بر صفات کمی و کیفی گیاه دارویی همیشه بهار تحت تاثیر کودهای زیستی.

کود زیستی Biofertilizer	ارتفاع بوته (سانتی متر) Plant height (cm)	وزن گل در بوته (گرم) Flower weight per plant (g)	صمغدر گل (گرم در متر مربع) Flower yield (g m <sup>-2</sup> )	صمغدر گلبرگ (گرم در متر مربع) Petals yield (g m <sup>-2</sup> )	صمغدر دانه (کیلوگرم در هکتار) Seed yield (kg ha <sup>-1</sup> )	صمغدر بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار) Biological yield (kg ha <sup>-1</sup> )	شاخص برداشت (درصد) Harvest index (%)	درصد اسانس Essential oil (%)	صمغدر اسانس (کیلوگرم در هکتار) Essential oil yield (kg ha <sup>-1</sup> )	
Control	Contrl شاهد	7.97±1.25 <sup>c</sup>	159.53±10.25 <sup>c</sup>	115.46±12.22 <sup>c</sup>	1112.2±25.00 <sup>d</sup>	3829.90±120.00 <sup>c</sup>	29.00±2.5 <sup>c</sup>	0.084±0.008 <sup>c</sup>	0.93±0.36 <sup>d</sup>	
	Hydropriming هیدروپرایمیگ	36.86±2.33 <sup>d</sup>	194.33±13.20 <sup>d</sup>	149.33±10.50 <sup>d</sup>	1301.60±24.00 <sup>b</sup>	4645.20±160.22 <sup>a</sup>	27.99±2.0 <sup>d</sup>	0.091±0.010 <sup>bc</sup>	1.18±0.28 <sup>b</sup>	
	Osmo-priming اسموزپرایمیگ	36.09±1.79 <sup>c</sup>	181.86±12.40 <sup>c</sup>	136.86±15.00 <sup>c</sup>	1194.60±23.00 <sup>c</sup>	4041.50±135.00 <sup>d</sup>	4414.00±128.90 <sup>c</sup>	29.52±2.0 <sup>c</sup>	1.02±0.46 <sup>c</sup>	
	Soaking in water خیساندن در آب جوش	37.59±2.11 <sup>b</sup>	10.59±1.5 <sup>b</sup>	166.86±12.20 <sup>b</sup>	1336.40±26.00 <sup>b</sup>	4414.00±128.90 <sup>c</sup>	4414.00±128.90 <sup>c</sup>	30.24±3.0 <sup>b</sup>	0.089±0.012 <sup>cd</sup>	1.19±0.33 <sup>b</sup>
Azotobacter	Hormo-priming هورمون پرایمیگ	39.05±5.01 <sup>a</sup>	11.98±0.75 <sup>a</sup>	239.73±16.09 <sup>a</sup>	1611.70±27.00 <sup>a</sup>	4545.50±140.56 <sup>b</sup>	35.43±1.5 <sup>a</sup>	0.098±0.006 <sup>a</sup>	1.58±0.22 <sup>a</sup>	
	Contrl شاهد	41.60±2.24 <sup>b</sup>	14.60±0.75 <sup>bc</sup>	292.06±9.30 <sup>bc</sup>	1602.22±36.20 <sup>c</sup>	5199.40±132.50 <sup>b</sup>	30.79±1.5 <sup>c</sup>	0.094±0.010 <sup>d</sup>	1.51±0.19 <sup>c</sup>	
	Hydropriming هیدروپرایمیگ	40.98±1.20 <sup>c</sup>	13.98±0.80 <sup>d</sup>	279.66±11.15 <sup>c</sup>	234.66±11.00 <sup>c</sup>	1533.50±25.22 <sup>c</sup>	4874.00±140.60 <sup>d</sup>	31.43±1.6 <sup>bc</sup>	0.110±0.020 <sup>b</sup>	1.69±0.65 <sup>b</sup>
	Osmo-priming اسموزپرایمیگ	42.84±2.33 <sup>a</sup>	15.51±0.75 <sup>a</sup>	310.26±15.10 <sup>a</sup>	265.26±13.00 <sup>a</sup>	1705.27±35.00 <sup>a</sup>	5161.30±128.00 <sup>b</sup>	33.02±1.5 <sup>a</sup>	0.097±0.003 <sup>c</sup>	1.65±0.07 <sup>c</sup>
Phosphate fertilizer	Soaking in water خیساندن در آب جوش	39.86±2.00 <sup>d</sup>	12.81±1.01 <sup>c</sup>	256.33±15.22 <sup>d</sup>	211.33±13.33 <sup>d</sup>	1594.87±27.50 <sup>d</sup>	31.81±2.0 <sup>ab</sup>	0.099±0.011 <sup>c</sup>	1.58±0.38 <sup>d</sup>	
	Hormo-priming هورمون پرایمیگ	42.14±4.08 <sup>ab</sup>	15.14±1.03 <sup>ab</sup>	302.86±17.05 <sup>ab</sup>	259.03±14.00 <sup>ab</sup>	1661.94±25.70 <sup>b</sup>	28.79±2.0 <sup>d</sup>	0.116±0.007 <sup>a</sup>	1.93±0.35 <sup>a</sup>	
	Contrl شاهد	41.76±1.25 <sup>b</sup>	14.65±1.09 <sup>b</sup>	293.13±12.12 <sup>b</sup>	249.80±15.30 <sup>b</sup>	1603.41±21.50 <sup>b</sup>	5514.30±128.90 <sup>c</sup>	29.06±2.0 <sup>c</sup>	0.100±0.013 <sup>b</sup>	1.60±0.41 <sup>b</sup>
	Hydropriming هیدروپرایمیگ	42.99±1.78 <sup>a</sup>	15.66±0.70 <sup>a</sup>	313.20±13.23 <sup>a</sup>	268.20±12.00 <sup>a</sup>	1752.20±33.22 <sup>a</sup>	5642.60±135.90 <sup>b</sup>	31.03±1.5 <sup>b</sup>	0.110±0.001 <sup>a</sup>	1.93±0.04 <sup>a</sup>
Azotobacter + phosphate fertilizer	Osmo-priming اسموزپرایمیگ	35.86±1.92 <sup>c</sup>	8.86±0.25 <sup>c</sup>	177.20±16.18 <sup>c</sup>	132.20±8.00 <sup>c</sup>	1498.30±23.25 <sup>c</sup>	35.17±0.5 <sup>a</sup>	0.086±0.014 <sup>c</sup>	1.29±0.29 <sup>c</sup>	
	Soaking in water خیساندن در آب جوش	36.96±2.66 <sup>d</sup>	9.66±0.76 <sup>d</sup>	199.26±15.10 <sup>d</sup>	154.26±10.00 <sup>d</sup>	1542.90±25.60 <sup>c</sup>	31.88±1.5 <sup>b</sup>	0.100±0.019 <sup>b</sup>	1.54±0.64 <sup>c</sup>	
	Hormo-priming هورمون پرایمیگ	38.30±3.53 <sup>c</sup>	11.30±0.95 <sup>c</sup>	226.06±15.10 <sup>c</sup>	181.40±10.00 <sup>c</sup>	1512.20±26.20 <sup>d</sup>	4287.20±135.00 <sup>d</sup>	35.24±1.9 <sup>a</sup>	0.089±0.005 <sup>c</sup>	1.35±0.26 <sup>d</sup>
	Contrl شاهد	41.27±2.89 <sup>c</sup>	14.27±0.80 <sup>c</sup>	285.46±13.15 <sup>cd</sup>	240.46±16.30 <sup>cd</sup>	1653.50±27.22 <sup>c</sup>	4729.30±135.90 <sup>c</sup>	31.34±0.8 <sup>d</sup>	0.100±0.007 <sup>c</sup>	1.65±0.17 <sup>c</sup>
Azotobacter + phosphate fertilizer	Hydropriming هیدروپرایمیگ	41.10±1.99 <sup>d</sup>	14.10±1.20 <sup>d</sup>	282.13±12.50 <sup>d</sup>	137.13±14.00 <sup>d</sup>	1623.30±24.50 <sup>d</sup>	32.97±2.0 <sup>b</sup>	0.098±0.007 <sup>d</sup>	1.59±0.32 <sup>d</sup>	
	Osmo-priming اسموزپرایمیگ	42.77±3.02 <sup>b</sup>	15.77±0.40 <sup>b</sup>	315.53±17.30 <sup>bc</sup>	270.53±9.00 <sup>b</sup>	1766.40±20.40 <sup>b</sup>	33.41±2.3 <sup>b</sup>	0.110±0.011 <sup>b</sup>	1.94±0.38 <sup>b</sup>	
	Soaking in water خیساندن در آب جوش	41.71±1.58 <sup>c</sup>	14.70±0.90 <sup>c</sup>	294.00±14.15 <sup>cd</sup>	249.00±18.00 <sup>c</sup>	1636.70±34.50 <sup>d</sup>	5101.00±128.00 <sup>c</sup>	32.06±1.8 <sup>c</sup>	0.099±0.017 <sup>d</sup>	1.62±0.04 <sup>c</sup>
	Hormo-priming هورمون پرایمیگ	44.12±2.10 <sup>a</sup>	16.95±1.15 <sup>a</sup>	339.13±15.12 <sup>a</sup>	294.13±12.00 <sup>a</sup>	1840.13±28.00 <sup>a</sup>	5506.50±130.00 <sup>b</sup>	34.94±1.6 <sup>a</sup>	0.120±0.005 <sup>a</sup>	2.21±0.44 <sup>a</sup>

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) می باشد.

Different letters indicate a significant difference in the probability level of 5% with LSD test.

شاخه در بوته همیشه بهار تحت تاثیر هورمون پرایمینگ نسبت به تیمار شاهد به طور قابل توجهی بیش تر بود. همچنین، تیمار اسموپرایمینگ و هیدروپرایمینگ اختلاف معنی داری در تعداد شاخه در بوته نشان ندادند (جدول ۳). مقایسه میانگین تیمارهای کود زیستی نشان داد که بیش ترین تعداد شاخه در بوته همیشه بهار (۲۹/۷۷ عدد) از تیمار ترکیبی ازتوباکتر + فسفات بارور به دست آمد، به طوری که کاربرد جداگانه کودهای زیستی تاثیر یکسانی بر تعداد شاخه در بوته همیشه بهار داشتند، اما کم ترین تعداد آن (۲۵/۲۹ عدد) در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۴). بنابراین، می توان اظهار داشت با توجه به تأثیر خوبی که کودهای زیستی بر فراهمی عناصر غذایی در خاک و جذب در گیاه دارند. همچنین، بهبود رشد و استقرار گیاه در اوایل دوره رشد تحت تاثیر پیش تیمارها، موجب افزایش تعداد شاخه در بوته شده است. نتایج استفاده از کودهای زیستی با گزارش سایر محققان در خصوص افزایش تعداد شاخه در بوته در گیاه دارویی رازیانه مطابق بود (۱۳).

افزایش وزن گل در اثر اعمال پیش تیمارها می تواند به دلیل استفاده بهتر از شرایط محیطی باشد. تحت این شرایط بهره برداری بهینه نبات از یک سو و در عین حال استفاده طولانی مدت از نهاده های محیطی توسط گیاه حاصل از بذرها پرایم شده منجر به افزایش بیوماس در اندام های مختلف گیاه می شود. گزارش کردند که در اثر تیمارهای اسموپرایمینگ وزن اکثر اندام های گیاهی افزایش می یابد (۱۶). استفاده از باکتری های تثبیت کننده نیتروژن (ازتوباکتر و آزوسپریلوم) سبب افزایش معنی داری در تعداد گل و شاخه در گیاه دارویی رزماری می شود (۳). این نتایج می تواند ناشی از ایجاد تعادل در جذب عناصر غذایی (عرضه مداوم و پایدار عناصر معدنی به ویژه نیتروژن) در محیط ریشه و اثرات مفید این باکتری ها روی آنزیم های حیاتی، هورمون ها و اثرات تحریک کننده آنها روی رشد گیاه باشد. در گیاه اسفرزه نیز به دنبال کاربرد فسفر و کودهای زیستی، از نظر تعداد گل در بوته، بین تیمارهای کودی در مقایسه با شاهد تفاوت معنی داری مشاهده شد (۲۰).  
تعداد شاخه در بوته: نتایج حاصل نشان داد که تعداد

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر پرایمینگ بذر روی تعداد شاخه در گیاه دارویی همیشه بهار.

Table 3 - Comparison of the average effect of seed priming on the number of branches in the medicinal plant marigold

پرایمینگ	تعداد شاخه در بوته
شاهد	23.87±1.78 <sup>c</sup>
هیدروپرایمینگ	28.5 ±2.01 <sup>b</sup>
اسموپرایمینگ	29.27 ±1.23 <sup>b</sup>
خیساندن بذر در آب جوش	25.69 ±2.29 <sup>c</sup>
هورمون پرایمینگ	30.15 ±0.99 <sup>a</sup>

خشک شده است. عملکرد گل خشک در هر سه تیمار ترکیبی و جداگانه کود زیستی (ازتوباکتر + فسفات بارور) نسبت به تیمار شاهد (بدون مصرف کود زیستی) افزایش معنی داری داشته است. به طوری

عملکرد گل: طبق نتایج حاصل، تحت تیمارهای مختلف پرایمینگ نسبت به شاهد، هر یک از تیمار ترکیبی و جداگانه کود زیستی (ازتوباکتر و فسفات بارور) منجر به افزایش معنی داری عملکرد گل

نیروژن به وسیله کودهای زیستی که حاوی مواد بیولوژیکی فعال است و همانند مواد تنظیم کننده رشد عمل می کند می توان برتری تیمار ازتوباکتر به همراه تلقیح با فسفات بارور بر روی عملکرد گل خشک را توجیه نمود. گزارش کرد که کاربرد کودهای بیولوژیک در گیاهان دارویی گشنیز باعث افزایش عملکرد گل شد (۲۲). دلیل این امر را می توان به بهبود بنیه بذر و رشد و استقرار بهتر گیاهچه در نتیجه اعمال پرایمینگ نسبت داد که این موضوع باعث تحمل بیش تر گیاه در برابر مجموعه ای از شرایط نامساعد محیطی گشته و عملکرد گل را افزایش می دهد.

که بیش ترین عملکرد گل خشک در شرایط تیمار ترکیبی و جداگانه کود زیستی (فسفات بارور و ازتوباکتر) به ترتیب با مقدار ۳۳۹/۱۳، ۳۱۳/۲۰ و ۳۱۰/۲۶ گرم در متر مربع از تیمار هورمون پرایمینگ، هیدروپرایمینگ و اسموپرایمینگ به دست آمد (جدول ۲). در مورد گیاه دارویی همیشه بهار، عملکرد اقتصادی مورد نظر میزان تولید گل خشک در واحد سطح می باشد، بنابراین مدیریت مصرف کودها باید به گونه ای باشد که حداکثر عملکرد اقتصادی به دست آید. تأثیر مثبت نیروژن در افزایش وزن خشک گل در آزمایش های مختلف روی گیاهان دارویی مشاهده شده است (۴). با توجه به تأمین و فراهمی مناسب

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر کود زیستی روی تعداد شاخه در گیاه دارویی همیشه بهار.

Table 4 - Comparison of the average effect of biofertilizer on the number of branches in the medicinal plant marigold.

Biofertilizer کود زیستی	Number of branches تعداد شاخه در بوته
Control شاهد	25.29±1.50 <sup>c</sup>
Azotobacter ازتوباکتر	27.56±0.69 <sup>b</sup>
Phosphate fertilizer فسفات بارور	27.36 ±1.01 <sup>b</sup>
Azotobacter + phosphate ازتوباکتر + فسفات بارور	29.77±1.86 <sup>a</sup>

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) می باشد.

Different letters indicate a significant difference in the probability level of 5% with LSD test.

همیشه بهار است، زیرا از مرحله شروع گلدهی، رشد رویشی و زایشی به موازات یکدیگر صورت می گیرد (۲۹). علاوه بر این، استفاده از کودهای زیستی باعث بهبود فعالیت میکروبی خاک شده و با افزایش سهل الوصول شدن عناصر نیروژن، فسفر و پتاسیم و احتمالاً گوگرد موجود در خاک برای گیاه و همچنین برقراری تعادل این عناصر با فاز فیزیکی و شیمیایی خاک، عملکرد گلبرگ را بهبود بخشیده است. کاربرد کودهای زیستی باعث تأمین و فراهمی مناسب نیروژن برای گیاه و بهبود فعالیت های میکروبی خاک، جذب بیش تر عناصر ریز مغذی و همچنین سبب افزایش میزان فتوسنتز و ماده خشک

**عملکرد گلبرگ:** نتایج داده ها حاصل نشان داد که پاسخ گیاه به کاربرد تیمارهای مختلف پرایمینگ بسته به مصرف ترکیبی و جداگانه کود زیستی از نظر عملکرد گلبرگ متفاوت بود. به طوری که بیش ترین (۲۹۴/۱۳) کیلوگرم در هکتار) مقدار عملکرد گلبرگ همیشه بهار در شرایط هورمون پرایمینگ و تیمار ترکیبی ازتوباکتر + فسفات بارور به دست آمد، در حالی که کم ترین (۱۱۵/۴۶) کیلوگرم در هکتار) مقدار آن از تیمار بدون پرایمینگ و بدون کاربرد کود زیستی (شاهد) به دست آمد (جدول ۲). نکته مهم ایجاد تعادل مناسب بین رشد رویشی و زایشی (در جهت افزایش هر چه بیش تر رشد زایشی)

بلوغ سریعتر صورت می‌گیرد و در نتیجه عملکرد بیش‌تری به دست می‌آید (۱).

**عملکرد بیولوژیک:** مقایسه میانگین تیمارهای مختلف پرایمینگ در هر یک از تیمار ترکیبی و جداگانه کود زیستی (فسفات بارور و ازتوباکتر) نشان داد که کاربرد تیمارهای مختلف پرایمینگ، به دلیل بهبود جوانه زنی و رشد گیاه همیشه بهار بیش‌ترین مقدار عملکرد بیولوژیک را داشت. در هر یک از تیمار ترکیبی و جداگانه کود زیستی (فسفات بارور و ازتوباکتر) کاربرد تیمارهای مختلف پرایمینگ نسبت به شاهد منجر به افزایش معنی‌داری عملکرد بیولوژیک شده است. به طوری که بیش‌ترین (۵۷۶۸/۳۰) کیلوگرم در هکتار) میزان عملکرد بیولوژیک همیشه بهار در شرایط هورمون پرایمینگ و تیمار کاربرد جداگانه ازتوباکتر به دست آمد، با این حال کاربرد تیمار کودهای زیستی نسبت به شاهد تحت تاثیر تیمارهای مختلف پرایمینگ نقش مؤثر در افزایش عملکرد بیولوژیک نشان داد در حالی که کم‌ترین (۳۸۲۹/۹) کیلوگرم در هکتار) مقدار آن در تیمار بدون پرایمینگ و بدون کاربرد کود زیستی (شاهد) مشاهده شد (جدول ۲). عملکرد بیولوژیک، بیانگر زیست توده کل اندام گیاه (کل وزن خشک) می‌باشد که جذب مؤثر عناصر غذایی در افزایش آن مؤثر است. با توجه به اینکه نیتروژن در ساختمان پروتئین، اسیدهای نوکلئیک، کلروفیل، آنزیم‌ها و اکثر ویتامین‌ها وجود دارد و در واقع گلوگاه رشد گیاه می‌باشد، بنابراین وجود میزان کافی آن برای گیاه، تأمین‌کننده رشد گیاه خواهد بود (۲۸). در سایر تیمارهای برخوردار از نیتروژن نیز این امر صادق است. تیمار شاهد به دلیل کمبود عناصر غذایی اصلی (N و P) از رشد و توسعه کم‌تری برخوردار بود. با توجه به همبستگی مثبت و معنی‌دار بین عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه می‌توان با افزایش عملکرد بیولوژیک به

گیاهی گردیده که این مسئله در نهایت به افزایش گلدهی می‌انجامد (۱۱). این در حالی است که پیش‌تیمار بذرها از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های بذر باعث افزایش درصد جوانه‌زنی و بهبود رشد گیاه و در نهایت افزایش عملکرد گل و گلبرگ می‌گردد.

**عملکرد دانه:** مقایسه میانگین داده‌های مربوط به عامل کود زیستی حاکی از آن داشت که عملکرد دانه در شرایط تیمار ترکیبی ازتوباکتر + فسفات بارور نسبت به شرایط تیمار جداگانه ازتوباکتر، فسفات بارور و شاهد (بدون کاربرد کود زیستی) به طور معنی‌دار بیش‌تر بود (جدول ۲). به طوری که بیش‌ترین عملکرد دانه در شرایط تیمار ترکیبی و جداگانه کود زیستی (فسفات بارور و ازتوباکتر) به ترتیب با مقدار ۱۸۴۰/۱۳، ۱۷۵۲/۲۰ و ۱۷۰۵/۲۷ کیلوگرم در هکتار از تیمار هورمون پرایمینگ، هیدروپرایمینگ و اسموپرایمینگ به دست آمد (جدول ۲). برای دستیابی به عملکرد دانه بالا، باید رشد رویشی با رشد زایشی در گیاه، متعادل و دانه‌ها مراحل رشدی خود را به طور کامل طی کرده و بزرگ شوند. این تعادل زمانی برقرار می‌شود که بین عناصر لازم برای رشد رویشی (نیتروژن) با عناصر لازم برای رشد زایشی (فسفر) تعادل برقرار باشد (۷). باکتری‌های موجود در کودهای زیستی از طریق تأمین عناصر معدنی نظیر فسفر، گوگرد، آهن، مس و روی و به ویژه نیتروژن برای گیاه، باعث افزایش اجزای عملکرد و در نتیجه عملکرد دانه می‌شوند (۱). همچنین باکتری‌های محرک رشد با تولید مواد تحریک‌کننده رشد گیاه باعث توسعه رشد ریشه گیاه شده و با افزایش میزان جذب آب و مواد غذایی سبب افزایش عملکرد دانه می‌شود (۲۷). به طوری که با اعمال هیدروپرایمینگ، جوانه‌زنی و سبز شدن سریعتر انجام شده و در مدت زمان کوتاه‌تری این مراحل نمود کامل می‌شود، گیاهچه‌هایی با بنیه بهتر تولید می‌شوند، گلدهی و

برادران (۲۰۱۳) نیز نشان دادند که کاربرد کود زیستی دارای تأثیر معنیداری بر روی شاخص برداشت و عملکرد دانه در گیاه دارویی همیشه بهار داشت.

**درصد اسانس:** مقایسه میانگین داده‌های مربوط به عامل کود زیستی حاکی از آن داشت که درصد اسانس در شرایط تیمار ترکیبی ازتوباکتر + فسفات بارور نسبت به شرایط تیمار جداگانه ازتوباکتر، فسفات بارور و شاهد (بدون کاربرد کود زیستی) به طور معنی‌دار بیش‌تر بود (جدول ۲). به طوری که بیش‌ترین درصد اسانس در شرایط تیمار ترکیبی و جداگانه کود زیستی (فسفات بارور و ازتوباکتر) و تیمار شاهد به ترتیب با میزان ۰/۱۲، ۰/۱۱، ۰/۱۱۶ و ۰/۰۹۸ درصد از تیمار هورمون پرایمینگ، هیدروپرایمینگ، هورمون پرایمینگ و هورمون پرایمینگ به‌دست آمد (جدول ۲). با توجه به اینکه اسانس‌ها از گروه شیمیایی ترین‌ها بوده و یا منشأ ترپنی دارند و واحدهای سازنده ترین‌ها از جمله ایزوپنتیل پیروفسفات (IPP) و دی متیل آلیل پیرو فسفات (DMAPP) نیاز مبرم به ATP و NADPH دارند و نظر به اینکه عناصر نیتروژن و فسفر برای تشکیل این ترکیبات ضروری هستند، در نتیجه، کودهای زیستی به کار رفته با کمک به جذب نیتروژن و فسفر، در افزایش اسانس این گیاه مؤثر واقع شدند (۱۲). تعداد غدد ترشح‌کننده اسانس در برگ ثابت نیست و با گسترش سطح برگ افزایش می‌یابد. با توجه به اهمیت سطح برگ از نظر فیزیولوژیکی، تحقیقات نشان داده که فتوسنتز و تولید فرآورده‌های فتوسنتزی ارتباط مستقیمی با تولید اسانس دارد (۲۳)، زیرا دی‌اکسیدکربن و گلوکز پیش‌ماده‌های اصلی سنتز اسانس به ویژه مونوترپن‌ها به شمار می‌روند. بنابراین، با افزایش سطح برگ، تعداد روزنه‌ها و مقدار گلوکز (نتیجه فرآیند فتوسنتز) بیش‌تر شده و سوسترای لازم جهت تأمین انرژی و سنتز ترکیبات

عملکرد دانه بالا نیز دست یافت (۲۳). بهبود عملکرد بیولوژیک در اثر پرایمینگ بذر ممکن است به سبز شدن سریع‌تر و یکنواخت‌تر گیاهچه‌ها مربوط شود که این امر باعث افزایش رشد رویشی و شاخ و برگ گیاه و در نتیجه افزایش عملکرد بیولوژیک می‌گردد. چرا که این امر باعث افزایش ارتفاع گیاه می‌شود و سرعت رشد گیاه افزایش می‌یابد (۲۴). ترکیبی از جوانه‌زنی و سبز شدن سریع، رشد رویشی بهتر گیاه و بهبود مراحل نمو گیاه، باعث افزایش عملکرد بیولوژیک در اثر اعمال پرایمینگ می‌شود (۱).

**شاخص برداشت دانه:** با توجه به نتایج حاصل از پژوهش، پاسخ گیاه به کاربرد تیمارهای مختلف پرایمینگ بسته به مصرف کود زیستی از نظر میزان شاخص برداشت دانه متفاوت بود. هر چند، تیمار ترکیبی ازتوباکتر + فسفات بارور نسبت به شرایط تیمار جداگانه ازتوباکتر، فسفات بارور و شاهد (بدون کاربرد کود زیستی) میزان شاخص برداشت دانه افزایش معنی‌داری پیدا کرده است. به طوری که بیش‌ترین شاخص برداشت دانه در شرایط تیمار ترکیبی و جداگانه کود زیستی (فسفات بارور و ازتوباکتر) به ترتیب با میزان ۳۴/۹۴، ۳۵/۲۴ و ۳۳/۰۲ درصد از تیمار هورمون پرایمینگ، هورمون پرایمینگ و اسموپرایمینگ به‌دست آمد (جدول ۲). محققان اظهار نمودند، فعالیت مخزن در گیاهان حاصله از بذرهای پرایمینگ شده در مقایسه با شاهد بالاتر بود که این امر از طریق بالاتر بودن فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم ساکارز نظیر ساکارز سینتاز، اینورتازها و ساکارز فسفات سینتاز مشخص گردید که در نهایت افزایش شاخص برداشت دانه را به دنبال داشت (۱۸). برومند و همکاران (۲۰۱۳) در تحقیق خود بیان داشتند که پرایمینگ بذر به صورت هورمون پرایمینگ تأثیر معنی‌داری را روی اکثر صفات مورد مطالعه دارد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. رضایی و

با افزایش عملکرد اسانس همراه باشد (۲۵). براساس یافته‌های بانچیو و همکاران (۲۰۰۹) استفاده از کود زیستی، زیست توده، درصد اسانس و عملکرد اسانس ریحان را افزایش داده است. این افزایش در عملکرد ممکن است از اثر غیرمستقیم پرایمینگ بذری روی درصد سبز شدن نهایی ناشی شده باشد. با این حال، پرایمینگ بذری قادر است با بهبود خصوصیات رشدی، فراهمی عناصر غذایی و رطوبت بهتر بر روی استقرار گیاهچه‌ها تاثیر مثبتی داشته باشد. بنابراین یافته‌های این مطالعه با نتایج بررسی‌های میرشکاری (۲۰۱۵) نیز مطابقت دارد که بر افزایش عملکرد اسانس همیشه بهار در اثر پرایمینگ بذری تأکید دارد.

### نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل ملاحظه شد که کاربرد تلفیقی کودهای زیستی موجب بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی همیشه بهار شد، به طوری که عملکرد و اجزای عملکرد دانه و نیز عملکرد اسانس همیشه بهار تحت کاربرد تلفیقی ازتوباکتر + فسفات بارور و هورمون پرایمینگ نسبت به سایر تیمارهای کودی به طور معنی داری افزایش داد. به طوری که بیشترین عملکرد گلبرگ (۲۹۴/۱۳) کیلوگرم در هکتار، عملکرد دانه (۱۸۴۰/۱۳) کیلوگرم در هکتار و عملکرد اسانس (۲/۲۱) کیلوگرم در هکتار مربوط به تیمار اثر متقابل هورمون پرایمینگ و کاربرد تلفیقی ازتوباکتر + فسفات بارور بود. در حالی که تحت تاثیر هورمون پرایمینگ و کاربرد ازتوباکتر بیشترین عملکرد بیولوژیک (۵۷۶۸/۳۰) کیلوگرم در هکتار به دست آمد. لذا با توجه به یافته‌های این تحقیق، برای افزایش و بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاه همیشه بهار، کاربرد توأم ازتوباکتر همراه با فسفات بارور تحت تاثیر هورمون پرایمینگ می‌تواند در راستای کشاورزی پایدار مطلوب باشد.

مؤثر در اسانس فراهم می‌شود. نیتروژن از طریق افزایش تعداد برگ و سطح برگ و فراهم نمودن زمینه مناسب جهت دریافت انرژی و نیز شرکت در ساختار کلروفیل و آنزیم‌های درگیر در متابولیسم کربن فتوسنتزی، موجب افزایش بازده فتوسنتزی می‌شود که نقش کلیدی در افزایش میزان اسانس دارد (۲۶). عبدالعزیز و همکاران (۲۰۰۷) روی رزماری و گاریب و همکاران (۲۰۰۸) روی مرزنجوش در بررسی تأثیر تلقیح با کودهای زیستی بر عملکرد و کیفیت این گیاهان، افزایش سطح اسانس را ناشی از افزایش تعداد غده‌های ترشحی (محل سنتز اسانس) و بیوسنتز مونوترپن‌ها گزارش کردند.

**عملکرد اسانس:** نتایج داده‌ها حاصل نشان داد که پاسخ گیاه به کاربرد تیمارهای مختلف پرایمینگ بسته به مصرف ترکیبی و جداگانه کود زیستی از نظر عملکرد اسانس همیشه بهار متفاوت بود. در هر یک از تیمار ترکیبی و جداگانه کود زیستی (فسفات بارور و ازتوباکتر) کاربرد تیمارهای مختلف پرایمینگ نسبت به شاهد منجر به افزایش معنی‌داری عملکرد اسانس شده است. به طوری که بیشترین عملکرد اسانس در شرایط تیمار ترکیبی و جداگانه کود زیستی (فسفات بارور و ازتوباکتر) و تیمار شاهد به ترتیب با میزان ۲/۲۱، ۱/۹۳، ۱/۹۳ و ۱/۵۸ درصد از تیمار هورمون پرایمینگ، هیدروپرایمینگ، هورمون پرایمینگ و هورمون پرایمینگ به دست آمد (جدول ۲). به دلیل اینکه عملکرد اسانس بستگی به دو عامل عملکرد دانه و درصد اسانس دارد، بنابراین انتظار می‌رود که اثر تجمعی این دو عامل ممکن است دلیل تغییرات عملکرد اسانس در این تیمارها باشد. بنابر نتایج، کاربرد باکتری‌های محرک رشد می‌تواند از طریق بهبود فراهمی عناصر و رطوبت، ترشح مواد تحریک‌کننده رشد و تسریع مراحل اولیه‌ای رشد مانند ریشه‌دوانی، جوانه‌زنی و سبز شدن مفید واقع شود که

## منابع

1. Abbasdokht, H. 2010. Effects of hydropriming and halopriming on germination and growth characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.). Desert. 16: 61-68.
2. Abbasvand, E., Hassannejad, S., Zehtab Salmasi, S. and Alizadeh Salteh, S. 2019. Effects of seed priming with salicylic acid on chlorophyll a fluorescence parameters of basil (*Ocimum basilicum* L.) infested by field dodder (*Cuscuta campestris* Yunk.). J. Plant Physiol Breed. 9: 1. 11-18.
3. Abdelaziz, M., Pokluda R. and Abdelwahab, M. 2007. Influence of compost, microorganisms and NPK fertilizer upon growth, chemical composition and essential oil production of *Rosmarinus officinalis* L. Notul Bot. Horti Agrobot. 35: 1. 86-90.
4. Ameri, A., Nassiri, M. and Rezvani, P. 2009. Effects of different nitrogen levels and plant density on flower, essential oils and extract production and nitrogen use efficiency of Marigold (*Calendula officinalis*). Agric Res. 5: 2. 315-325. (In Persian)
5. Bahcesular, B., Yildirim, E.D., Karaçocuk, M., Kulak, M. and Karaman, S. 2020. Seed priming with melatonin effects on growth, essential oil compounds and antioxidant activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) under salinity stress. Ind Crops Prod. 146: 112-125.
6. Banchio, E., Xie, X., Zhang, H. and Pare, P.W. 2009. Soil bacteria elevate essential oil accumulation and emissions in sweet basil. J. Agric Food Chem. 57: 1. 653-657.
7. Bashan, y., Alcaraz, L. and Toledo, G. 1992. Responses of soybean and cowpea root membranes to inoculation with *Azospirillum brasilense*. Symbiosis. 13: 1. 217-228.
8. Boroumand, M., Gazanchian, A. and Ameri, A. 2013. Effects of seed priming on seed germination improvement and seedling growth of alfalfa (*Medicago sativa*) under cold stress. Seed Sci Technol. 3: 1. 10-22.
9. Bussmann, R.W., Batsatsashvili, K., Kikvidze, Z., Paniagua-Zambrana, N.Y., Khutsishvili, M., Maisaia, I., Sikharulidze, S. and Tchelidze, D. 2020. *Calendula officinalis* L. Asteraceae. Ethnobotany of the Mountain Regions of Far Eastern Europe: Ural, Northern Caucasus, Turkey, and Iran, Pp: 1-4.
10. Cáceres, A. and M Cruz, S. 2019. Detection and validation of native plants traditionally used as medicine in Guatemala. Curr Tradit Med. 5: 1. 5-30.
11. Çakmakçı, R., Mosber, G., Milton, A.H., Alatürk, F. and Ali, B. 2020. The effect of auxin and auxin-producing bacteria on the growth, essential oil yield, and composition in medicinal and aromatic plants. Current Microbiology. Pp: 1-14.
12. Clevenger, J.F. 1928. Apparatus for the determination of volatile oil. J Am Pharm Assoc. 17: 4. 345-349.
13. Darzi, MT., Ghalavand, A., Rejali, F. and Sefidkon, F. 2012. Effect of biofertilizers application on quantitative and qualitative yield of Fennel (*Foeniculum vulgare*). Ir J. Med Aromat Plants. 22: 4. 276 -92. (In Persian)
14. Gharib, F.A., Moussa, L.A. and Massoud, O.N. 2008. Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Majorana hortensis*) plant. Int J. Agric Biol. 10: 1. 381-387.
15. Harris, D., Rashid, A., Ali, S. and Hollington, P.A. 2002. On- farming seed priming with maize in Pakistan. 8<sup>th</sup> Asian regional maize workshop, 5-8 August, Bangkok –Thailand.
16. Harris, D., Rashid, A., Arif, M. and Yunas, M. 2004. Alleviating micronutrient deficiencies in alkaline soils of North West Frontier Province of Pakistan: on farm seed priming with zinc in wheat and chickpea. In “International Workshop on Agricultural Strategies to reduce Micronutrient Problems in Mountains and Other.
17. Heydarzadeh, S., Jalilian, J., Pirzad, A. and Jamei, R. 2018. The effect of biofertilizers on some quantitative and qualitative characteristics of vetch Maragheh (*Vicia* sp.) under rainfed and

- supplementary irrigation. J. Agric Sci Sustain Prod. 28: 3. 187-208.
18. Izadi, Z., Nejad, A.R. and Abadía, J. 2020. Physio-morphological and biochemical responses of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) to split iron nutrition. Acta Physiol Plant. 42: 2. 6-18.
19. Kaur, S., Gupta, A.K. and Kaur, N. 2005. Seed priming increases crop yield possibly by modulating enzymes of sucrose metabolism in chickpea. J. Agron Crop Sci. 191: 1. 81-87.
20. Kruasuwan, W. and Thamchaipenet, A. 2016. Diversity of culturable plant growth-promoting bacterial endophytes associated with sugarcane roots and their effect of growth by co-inoculation of diazotrophs and actinomycetes. Plant Growth Regul. 35: 4. 1074-1087.
21. Mahshwari, S.K., Sharma, R.K. and Gangrade, S.K. 2000. Performance of isabgol or blond psyllium (*Plantago ovate*) under different levels of nitrogen, phosphorus and biofertilizers in shallow black soil. Ind J. Agric Sci. 45: 1. 443-446.
22. Mirshekari, B. 2015. Effects of seed priming with microelements of Fe and B on some germination parameters and yield of marigold (*Calendula officinalis* L.). Ir J. Med Aromat Plants Res. 30: 6. 879-888.
23. Moghaddam, M.A.S.P.R. and Mahallati, R.G.M.N. 2016. Effects of single and combined application of organic, biological and chemical fertilizers on quantitative and qualitative yield of coriander. Horticulture Sci. 29: 4. 80-93.
24. Mohammadi, K. and Sohrabi, Y. 2012. Bacterial biofertilizers for sustainable crop production: a review. J. Agric Biol Sci. 7: 5. 307-316.
25. Musa, A.M., Harris, D., Johansen, C. and Kumar, J. 2001. Short duration chickpea to replace fallow after aman rice: the role of on-farm seed priming in the high Barind Tract of Bangladesh. Exp Agric. 37: 4. 509-521.
26. Nagananda, G.S., Das, A., Bhattacharya, S. and Kalpana, T. 2010. In vitro studies on the effects of biofertilizers (*Azotobacter* and *Rhizobium*) on seed germination and development of *Trigonella foenum-graecum* L. using a novel glass marble containing liquid medium. Int J. Bot. 6: 394-403.
27. Niakan, M., Khavarinezhad, R. A. and Rezaei, 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. Ir J. Med Plants Res. 20: 2. 131-148.
28. Osmar, R., Fernandez Hernandez, R., Michelena, G., Ronzelli junior, P. and Ricardo Soccol, C. 2004. *Azospirillum* sp. Inoculation in wheat, barley and oats seed greenhouse experiments. Braz Arch Biol Technol. 6: 843-850.
29. Rahimi, A., Siavash Moghaddam, S., Ghiyasi, M., Heydarzadeh, S., Ghazizadeh, K. and Popović-Djordjević, J. 2019. The Influence of chemical, organic and biological fertilizers on agrobiological and antioxidant properties of Syrian cephalaria (*Cephalaria Syriaca* L.). Agric. 9: 6. 122-135.
30. Rahimi, S., Hatami, M. and Ghorbanpour, M. 2020. Effect of seed priming with nanosilicon on morpho-physiological characteristics, quercetin content and antioxidant capacity in *Calendula officinalis* L. under drought stress conditions. J. Med Plants. 72: 4. 186-203.
31. Rezaei, M. and Baradaran, R. 2013. Effects of bio fertilizers on the yield and yield components of pot marigold (*Calendula officinalis* L.). Ir J. Med Aromat Plants Res. 29: 3. 635-650. (In Persian)
32. Sher, A., Sarwar, T., Nawaz, A., Ijaz, M., Sattar, A. and Ahmad, S. 2019. Methods of seed priming. In priming and pretreatment of seeds and seedlings. Springer, Singapore, Pp: 1-10.
33. Shrivastava, S., Egamberdieva, D. and Varma, A. 2015. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and medicinal plants: The state of the art. In Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants. Springer, Cham. Pp: 1-16.
34. Sifola, M.I. and Barbieri, G. 2006. Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under



- different levels of nitrogen in the field. *Sci Hortic.* 108: 408-413.
35. Wang, Z., Chen, Z. and Fu, X. 2019 b. Integrated effects of co-inoculation with phosphate-solubilizing bacteria and n<sub>2</sub>-fixing bacteria on microbial population and soil amendment under C deficiency. *Int J. Environ Res Public Health.* 16: 13. 24-42.
36. Wang, Z., Chen, Z., Xu, Z. and Fu, X. 2019 a. Effects of phosphate-solubilizing bacteria and n<sub>2</sub>-fixing bacteria on nutrient uptake, plant growth, and bioactive compound accumulation in *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja. *Forests.* 10: 9. 772-785.

