

تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه و کود شیمیایی بر رشد، عملکرد، گلدهی و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و میزان ترکیب‌های فنلی گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.)

الهام هرمزی‌نژاد^۱، مریم ذوالفقاری^{۲*}، محمد محمودی سورستانی^۳ و نعیمه عنایتی ضمیر^۴

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

پست الکترونیک: M.zolfaghari@scu.ac.ir

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۴- دانشیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۷

تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۵

چکیده

به منظور بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد و کود شیمیایی بر رشد، عملکرد، گلدهی و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز در سال ۹۵-۱۳۹۴ انجام شد. تیمارهای مورد بررسی در این آزمایش شامل باکتری‌های انتروباکترکلوze R13، انتروباکترکلوze R33، گونه‌ای از سودوموناس، کود شیمیایی کامل و شاهد (بدون کود و باکتری) بود. نتایج این پژوهش نشان داد که بیشترین تعداد گل در مترمربع، تعداد برگ، تعداد انشعابات شاخه‌های اصلی و فرعی، قطر نهج، قطر کاپیتول گل و قطر دمگل در تیمار انتروباکترکلوze R13 و بیشترین وزن تر و خشک کاپیتول گل در تیمار انتروباکترکلوze R33 بدست آمد. همچنین بیشترین درصد فسفر و نیتروژن برگ، کلروفیل و کاروتنوئید برگ در کرت‌های مایه‌زنی شده با انتروباکترکلوze R13 اندازه‌گیری شد. بیشترین میزان فنل کل در تیمارهای انتروباکتر مشاهده شد و تیمار شاهد کمترین میزان فنل کل را نشان داد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در بیشتر شاخص‌های مورد بررسی تیمار انتروباکترکلوze R33 اثری مشابه با انتروباکترکلوze R13 داشته و تفاوت معنی‌داری بین آنها وجود نداشت. با توجه به نتایج مثبت و افزایشی باکتری‌ها بر شاخص‌های مورد بررسی گیاه دارویی همیشه‌بهار، می‌توان گفت باکتری‌های بکار رفته در این تحقیق می‌توانند به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای کود شیمیایی ضمن کاهش مصرف کودهای شیمیایی، تضمین‌کننده تولید گیاهان دارویی عاری از مواد شیمیایی باشند.

واژه‌های کلیدی: همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.)، کود شیمیایی، انتروباکترکلوze، سودوموناس، شاخص‌های رشد.

مقدمه

مدیترانه و غرب آسیا گزارش شده‌است. ریشه مخروطی شکل و مستقیم، برگها بلند، باریک، کم و بیش کرکدار و فاقد دندانه، گل‌ها درشت و قطر آنها بین ۴ تا ۷ سانتی‌متر

همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) گیاهی است یک‌ساله، متعلق به تیره کاسنی (Asteraceae) که منشأ آن

طریق تولید سیدروفور و به طبع آن افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی، تولید مواد زیستی محرک رشد گیاه مانند هورمون‌ها و حفاظت‌کننده‌های زیستی و همچنین جلوگیری از اثرات زیان‌آور تنش‌های محیطی موجب افزایش رشد گیاه شوند (Mehboob *et al.*, 2009). کودهای زیستی از طریق بهبود خصوصیات فیزیکی خاک، افزایش حاصلخیزی خاک و افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی برای جذب توسط گیاه، اجزای عملکرد و عملکرد گیاه دارویی گشنیز را بهبود دادند (Akbarinia *et al.*, 2006). طبق نتایج تحقیق Abdou و همکاران (۲۰۰۴)، کاربرد باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در گیاه دارویی رازیانه سبب افزایش معنی‌دار عملکرد دانه رازیانه نسبت به سایر تیمارها گردید. همچنین Dehghani Mashkani و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که کودهای زیستی شامل: ازتوباکتر، آزوسپیریلیوم و باسیلوس نسبت به تیمارهای کود شیمیایی کامل و شاهد به‌طور معنی‌داری سبب افزایش ارتفاع بوته، اندازه (قطر) کاپیتول‌ها و تعداد کاپیتول در گیاه دارویی بابونه شده‌اند. Amery و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که با افزایش میزان مصرف کود نیتروژنی عملکرد گل خشک همیشه‌بهار در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. نتایج تحقیقات Shokrani و همکاران (۲۰۱۲) در مورد تأثیر کود زیستی بر رشد و عملکرد گیاه همیشه‌بهار، نشان دادند که کود زیستی نیتروکسین بر روی وزن ساقه و قطر کاپیتول تأثیر معنی‌داری داشت. Jafarzadeh و همکاران (۲۰۱۵) نیز در بررسی خود بر روی گیاه دارویی همیشه‌بهار اشاره نمودند که بیشترین ارتفاع بوته، عملکرد گل، محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوی پرولین و مقدار عصاره زمانی حاصل شد که از کود زیستی نیتروژنه به‌صورت بذرمال استفاده شد.

با توجه به اهمیت و کاربردهای دارویی گیاه همیشه‌بهار، این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد باکتری‌های محرک رشد در راستای کاهش مصرف کودهای شیمیایی برای رسیدن به محصول سالم و تأمین اهداف کشاورزی پایدار انجام شد.

است. این گیاه مدت‌ها به‌عنوان گیاهی زینتی کشت می‌شد، تا اینکه خواص دارویی آن شناخته شد و به‌عنوان گیاه دارویی معرفی و مورد استفاده قرار گرفت (Omidbaigi, 2007). اثرات ضدویروسی، ضدتوموری، آنتی‌موتازنی و آنتی‌اکسیدانی گل‌های همیشه‌بهار مشخص شده است؛ به‌طوری که در حال حاضر یکی از مهمترین استفاده‌های آن درمان التهاب‌های پوستی می‌باشد (Kalvatchev *et al.*, 1997؛ Muley *et al.*, 2009). مواد مؤثره این گیاه در گل‌ها ساخته و ذخیره می‌گردد، از مهمترین آنها فلاونوئیدهای محلول در آب، کاروتنوئیدها، اسانس، مواد موسیلاژی و ویتامین E را می‌توان نام برد. گل‌های همیشه‌بهار همچنین حاوی کالندولین، ساپونین، استرول و استراسید لانوریک می‌باشد (Adela *et al.*, 2003؛ Lebaschi *et al.*, 2004؛ Bako *et al.*, 2002).

برای کاهش صدمات اکولوژیکی و آلودگی‌های ناشی از مصرف کودهای شیمیایی، استفاده از منابع و نهاده‌هایی که علاوه بر تأمین نیازهای فعلی گیاه باعث پایداری سیستم‌های کشاورزی در دراز مدت شوند ضروری به نظر می‌رسد و در این نوع کشاورزی بهبود کمی و کیفی گیاهان دارویی و مواد مؤثره آنها می‌تواند در اولویت قرار گیرد (Tahami Zarandi *et al.*, 2009). علاوه بر این، بکارگیری این روش‌ها کیفیت گیاهان را تضمین کرده و اثرهای منفی روی کیفیت دارویی و عملکرد آنها را نیز کاهش می‌دهد. یکی از ارکان اصلی در کشاورزی پایدار استفاده از کودهای زیستی در اکوسیستم‌های زراعی با هدف حذف یا کاهش قابل ملاحظه در مصرف نهاده‌های شیمیایی است (Sharma, 2002). معمولاً دو گروه اصلی ریزجاندارن شامل باکتری‌ها و قارچ‌های میکوریزا به‌عنوان کود زیستی استفاده می‌شوند (Ramezani, 2005؛ Vessey, 2003). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه، باکتری‌های ریشه‌ای هستند که در ریزوسفر گیاهان حضور داشته و قابلیت استقرار یک رابطه مداوم با گیاهان برای افزایش زیست‌توده و رشد ریشه را دارند و می‌توانند از طریق سازوکارهایی مانند افزایش حلالیت فسفر، تثبیت نیتروژن و افزایش حلالیت آهن از

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز در سال ۹۵-۱۳۹۴ به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار انجام شد. تیمارهای این آزمایش مایه‌زنی خاک با باکتری‌های محرک رشد شامل: (۱) انتروباکترکلوזה R13 (*Entrobacter cloacae* R33)، (۲) انتروباکترکلوזה R33 (*E. cloacae* R33)، (۳) سودوموناس (*Pseudomonas* sp.)، (۴) کود شیمیایی NPK (به ترتیب با نسبت ۶۰-۸۰-۱۰۰ کیلوگرم در هکتار از منابع اوره، سوپرفسفات و سولفات پتاسیم) و (۵) شاهد (بدون کود و باکتری) بودند. باکتری‌های مورد استفاده در این آزمایش از باکتری‌های محرک رشد بومی خاک‌های اهواز می‌باشند و از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه بیولوژی گروه خاک‌شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شدند. به دلیل گرمای هوا در شهر اهواز کشت گیاهان به صورت پاییزه و اواخر مهرماه انجام شد. بذرها همیشه بهار با کشت مستقیم در کرت‌هایی به ابعاد ۴ مترمربع و به صورت خطی کشت شدند. کود شیمیایی قبل از کشت بذر به خاک اضافه شد. همچنین برای اعمال تیمارهای باکتریایی، از سوسپانسیون حاصل از کشت شبانه هر یک از باکتری‌ها به میزانی که جمعیت باکتری برابر 1×10^5 CFU/g soil باشد، در زمان کاشت بر روی بذرها ریخته شد. کشت بذر در ردیف‌هایی به فاصله ۳۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۵-۸ سانتی‌متر بود (Omidbaigi, 2007).

زمانی که گیاه همیشه بهار وارد مرحله گلدهی شد، برداشت گل‌ها که بخش دارویی مورد استفاده در این گیاه است، آغاز شد. از آنجایی که گلدهی به تدریج انجام می‌شود و برداشت گل سبب تولید گل‌های بیشتر می‌شود، گل‌های باز شده همیشه بهار به صورت هفتگی برداشت شدند و شاخص‌های مورد نظر از جمله وزن تر و خشک کاپیتول گل، قطر نهج، قطر کاپیتول گل، قطر دمگل و تعداد گل در هر مترمربع اندازه‌گیری و ثبت شد. در همین زمان نیز نمونه‌گیری از برگ‌ها برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل و

کاروتنوئید انجام گردید. پس از پایان دوره گلدهی، بوته‌های همیشه بهار به طور کامل برداشت شدند و شاخص‌هایی مانند تعداد برگ، تعداد شاخه‌های اصلی و فرعی و درصد عناصر فسفر و نیتروژن برگ اندازه‌گیری و ثبت شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی

برای اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی در این آزمایش، پس از پایان رشد و برداشت کامل گیاهان از زمین، تعدادی از گیاهان به طور تصادفی انتخاب و کل برگ‌ها و تعداد شاخه‌های اصلی و فرعی در هر بوته شمارش شد. برای تعیین شاخص تعداد گل در مترمربع نیز از هر واحد آزمایشی یک مترمربع علامت‌گذاری (دو ردیف کناری و ۰/۵ متر از دو طرف هر کرت به عنوان حاشیه در نظر گرفته شد) و مجموع تعداد گل‌های برداشت شده از آن در طی زمان گلدهی شمارش شد. متوسط قطر نهج، قطر کاپیتول گل و قطر دمگل با کولیس دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر و همچنین وزن تر و خشک کاپیتول گل‌های برداشت شده (کاپیتول گل‌ها در سایه و دمای اتاق خشک شدند) با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم در طول دوره برداشت گل‌ها اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی

اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید برگ به روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۳) انجام شد. به این صورت که ابتدا مقدار ۰/۱ گرم از بافت برگ تازه را وزن کرده و در فالكون قرار داده، سپس ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ به نمونه اضافه شد. سپس ظرف حاوی نمونه در تاریکی و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. عصاره به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. آنگاه میزان جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل S2100 (SUV ساخت آمریکا) قرائت و غلظت کلروفیل کل و کاروتنوئید با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید:

وزن تر و خشک کاپیتول گل

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که تأثیر هر یک از باکتری‌ها در مقایسه با تیمار شاهد و کود شیمیایی بر وزن تر کاپیتول گل تفاوت معنی‌داری داشته است (جدول ۱). براساس نتایج جدول ۲ تیمارهای انتروباکترکلوze R33، انتروباکترکلوze R13 و سودوموناس به ترتیب با میانگین‌های ۵/۰۳، ۴/۷۵ و ۴/۵۸ گرم دارای بیشترین وزن تر کاپیتول گل هستند. کاپیتول گل شاهد با میانگین ۳/۴۳ گرم، دارای کمترین وزن تر بوده و با چهار تیمار قبلی تفاوت معنی‌داری داشت. همچنین، نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که استفاده از تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک کاپیتول گل دارد (جدول ۱). مطابق جدول ۲، تیمار انتروباکترکلوze R33 با میانگین ۰/۹۱ گرم، بیشترین وزن خشک کاپیتول گل و پس از آن تیمارهای انتروباکترکلوze R13 و سودوموناس به ترتیب با میانگین‌های ۰/۸۲ و ۰/۸۰ گرم بیشترین وزن خشک کاپیتول گل را داشتند. این در حالی است که کمترین وزن خشک کاپیتول گل در تیمار شاهد با میانگین ۰/۴۸ گرم بود.

قطر کاپیتول گل، نهنج و دمگل

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمارهای آزمایشی بر قطر کاپیتول گل در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). براساس نتایج مقایسه میانگین، گیاه همیشه‌بهار در تیمار باکتری انتروباکترکلوze R13 با میانگین ۷/۸۴ سانتی‌متر دارای بیشترین قطر کاپیتول گل بود و پس از آن تیمارهای انتروباکترکلوze R33 و سودوموناس به ترتیب با میانگین‌های ۷/۴۰ و ۷/۳۴ سانتی‌متر بیشترین قطر کاپیتول گل را نشان دادند. تیمار شاهد با میانگین ۵/۹۹ سانتی‌متر دارای کمترین قطر کاپیتول بوده و با چهار تیمار قبلی تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد تأثیر تیمارهای آزمایشی بر قطر نهنج گل و قطر دمگل در سطح ۱٪ معنی‌دار

$$C_a = 12.25 A_{663} - 2.79 A_{647}$$

$$C_b = 21.50 A_{647} - 5.10 A_{663}$$

$$C_{(a+b)} = (1000 A_{470} - 1.82 C_a - 85.02 C_b) / 198$$

$$Chl_T = chla + chlb$$

اندازه‌گیری میزان فسفر و نیتروژن برگ

میزان نیتروژن و فسفر برگ‌های همیشه‌بهار، به ترتیب با روش کجلدال و رنگ‌سنجی در طول موج ۴۱۰ نانومتر (Chapman & Pratt, 1961) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فنل کل

میزان فنل گل‌های همیشه‌بهار به روش McDonald و همکاران (۲۰۰۱) اندازه‌گیری شد. در این روش با تهیه عصاره متانولی گل‌ها، استفاده از معرف فولین سیوکالتو و استاندارد اسیدگالیک میزان فنل نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از منحنی کالیبراسیون حاصل از استانداردهای اسیدگالیک مقدار کل ترکیب‌های فنولی محاسبه و برحسب برابر میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم عصاره خشک گزارش شد.

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گردید و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد.

نتایج

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌هایی مانند وزن تر و خشک کاپیتول گل، قطر کاپیتول گل، قطر نهنج و دمگل، تعداد گل در مترمربع، تعداد برگ، تعداد انشعابات ساقه اصلی و فرعی، رنگی‌های فتوسنتزی برگ، درصد فسفر و نیتروژن برگ و میزان فنل کل داشت (جدول ۱).

انتروباکترکلوزه R13 (۱۷۴/۱۵) بدست آمد و پس از آن تیمارهای انتروباکترکلوزه R33 و سودوموناس به ترتیب با میانگین‌های ۱۶۲/۶۲ و ۱۵۵/۵ قرار داشتند. تیمار شاهد با میانگین ۸۹/۲۳ کمترین تعداد برگ را به خود اختصاص داد و با چهار تیمار قبلی تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول ۲).

تعداد انشعابات ساقه اصلی و فرعی

نتایج بدست‌آمده از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر تیمارهای آزمایشی بر تعداد انشعابات ساقه اصلی در سطح ۱٪ معنی‌دار شده است (جدول ۱). در بین تیمارهای مختلف بیشترین انشعابات ساقه اصلی در کرت‌های مایه‌زنی شده با انتروباکترکلوزه R13 (۵/۸۷) مشاهده شد و پس از آن تیمار انتروباکترکلوزه R33 و سودوموناس به ترتیب با میانگین‌های ۵/۲۶ و ۵/۳۱ دارای بیشترین انشعابات ساقه اصلی بودند. تیمار شاهد با میانگین ۳/۵۸ دارای کمترین انشعابات ساقه اصلی بود و با چهار تیمار قبلی تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲). همچنین نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که اثر تیمارهای آزمایشی بر تعداد انشعابات ساقه فرعی در سطح ۱٪ معنی‌دار بوده است (جدول ۱). گیاهان کشت شده در کرت‌های مایه‌زنی شده با باکتری‌های محرک رشد دارای بیشترین تعداد انشعابات ساقه فرعی بودند و پس از آن تیمار کودشیمیایی با میانگین ۱۸ قرار داشت. تیمار شاهد با میانگین ۱۵/۸۷ دارای کمترین تعداد انشعابات ساقه فرعی بوده و با چهار تیمار قبلی تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲).

رنگی‌های فتوسنتزی برگ

اثر تیمارهای آزمایش بر کلروفیل a و b برگ تأثیر معنی‌داری نداشت اما بر کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). بالاترین میزان کلروفیل کل در گیاهان کشت شده در کرت‌های مایه‌زنی شده با انتروباکترکلوزه R13 (۰/۹۱) میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) مشاهده شد. به‌طور کلی میزان کلروفیل در گیاهان تیمار شده با باکتری‌های مورد استفاده بالاترین مقدار را داشت

بوده است (جدول ۱). بیشترین قطر نهج در کرت‌های مایه‌زنی شده با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد بدست آمد. گیاهان تیمار شاهد با میانگین ۱۳/۴۰ میلی‌متر دارای کمترین قطر نهج گل بودند که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارهای مورد بررسی داشتند. همچنین بیشترین قطر دمگل در تیمارهای مایه‌زنی شده با باکتری‌های محرک رشد و کمترین قطر دمگل در کرت‌های بدون اعمال کود زیستی و شیمیایی مشاهده شد (جدول ۲).

تعداد گل در مترمربع

تأثیر مایه‌زنی با گونه‌های مختلف باکتری‌های ریزوسفری و کود شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش بر تعداد گل در مترمربع در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین تعداد گل در کرت‌های مایه‌زنی شده با انتروباکترکلوزه R13، بدون تفاوت معنی‌دار با سایر باکتری‌ها و کمترین تعداد گل نیز در کرت‌های شاهد مشاهده شد (جدول ۲).

عملکرد کل گل

عملکرد تر و خشک گل همیشه‌بهار تحت تأثیر تیمارهای کود شیمیایی و باکتری‌های ریزوسفری تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول ۱). بیشترین عملکرد تر گل در تیمار انتروباکترکلوزه R13، بدون تفاوت معنی‌دار با سایر باکتری‌ها و کمترین عملکرد تر گل نیز در تیمار شاهد مشاهده شد. در بررسی عملکرد خشک گل، نتایج نشان داد که باکتری انتروباکترکلوزه R13، بدون تفاوت معنی‌دار با باکتری انتروباکترکلوزه R33، بیشترین عملکرد و گیاهان تیمار شاهد کمترین عملکرد خشک گل را داشتند (جدول ۲).

تعداد برگ

گیاه همیشه‌بهار تحت تأثیر کودهای بکار رفته در این پژوهش تفاوت معنی‌داری در تعداد برگ نشان داد (جدول ۱). بیشترین تعداد برگ در کرت‌های مایه‌زنی شده با

(جدول ۲). بالاترین میزان کاروتنوئید برگ در گیاهان کشت شده در کرت‌های مایه‌زنی شده با انتروباکترکلوزه R13 (۰/۱۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) بدست آمد و تیمارهای سودوموناس (۰/۱۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کود شیمیایی (۰/۱۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در سطوح بعدی قرار گرفتند (جدول ۲).

درصد فسفر و نیتروژن برگ

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر کودهای مورد استفاده بر درصد نیتروژن (در سطح ۱٪) و فسفر (در سطح ۵٪) برگ گیاه همیشه‌بهار معنی‌دار بوده است (جدول ۱). بیشترین درصد فسفر برگ مربوط به کرت‌های مایه‌زنی شده با انتروباکترکلوزه R33 (۱/۳۷٪) و انتروباکترکلوزه R13 (۱/۳۱٪) بود. تیمارهای سودوموناس (۰/۹۲٪) و کود شیمیایی (۱/۱۵٪) در سطوح بعدی قرار داشتند. تیمار شاهد با ۰/۴۴٪ کمترین درصد فسفر را به خود اختصاص داد (جدول ۲). با توجه به نتایج مقایسه

میانگین‌ها (جدول ۲)، بیشترین درصد نیتروژن برگ مربوط به تیمار انتروباکترکلوزه R13 (۳/۴۲٪) بود و تیمارهای سودوموناس (۳/۲۵٪)، کود شیمیایی (۳/۱۷٪) و انتروباکترکلوزه R33، (۳/۱۲٪) در سطوح بعدی قرار گرفتند. تیمار شاهد با ۲/۸۴٪ نیتروژن پایین‌ترین سطح را به خود اختصاص داد (جدول ۲).

میزان فنل گل همیشه‌بهار

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که تیمارهای آزمایش اثر معنی‌داری بر میزان فنل کل گل‌های همیشه‌بهار در سطح ۱٪ داشته است (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار باکتری‌های بکار برده شده بر افزایش فنل گل نسبت به کود شیمیایی و شاهد است. بیشترین میزان فنل در تیمار انتروباکتر کلوزه R33 بدون تفاوت معنی‌دار با انتروباکتر کلوزه R13 بدست آمد؛ این در حالی است که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار دارد (جدول ۲).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر شاخص‌های مورد بررسی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)					
		وزن تر کاپیتول گل	وزن خشک کاپیتول گل	قطر کاپیتول گل	قطر نهج	تعداد گل	عملکرد تر گل
بلوک	۳	۰/۰۱۳***	۰/۱۰۱*	۰/۰۰۳۶۰*	۰/۰۵*	۰/۰۷۳***	۰/۰۰۳۰۴*
تیمار	۴	۰/۰۹۳***	۰/۰۲۵***	۰/۰۷۱۹***	۰/۱۰۱***	۱/۳۸۳***	۰/۰۱۸۰*
خطا	۱۲	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۵۴	۰/۰۰۴۸۰
CV%		۱۴/۸	۱۰/۷	۵/۶	۲۰/۴	۲۹/۸	۲۳/۶

***، **، *، ns: به ترتیب نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪، ۵٪ و غیرمعنی‌دار می‌باشد.

ادامه جدول ۱- ...

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)				
		تعداد برگ	تعداد انشعابات اصلی	تعداد انشعابات ساقه فرعی	کلروفیل	کاروتنوئید
بلوک	۳	۰/۰۰۶۳*	۰/۰۱۴۳***	۰/۰۳۴۰*	۰/۰۰۱۴*	۰/۰۰۰۹۷*
تیمار	۴	۰/۰۵۳***	۰/۰۲۸***	۰/۲۱۰***	۰/۰۰۴۷***	۰/۰۰۰۴***
خطا	۱۲	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۸۰	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۰۷
CV%		۹/۶	۴۰/۹	۲۰/۶	۱۰/۵	۲۱/۹

***، **، *، ns: به ترتیب نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪، ۵٪ و غیرمعنی‌دار می‌باشد.

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایش بر شاخص‌های مورد بررسی

تیمار	وزن تر کاپیتول گل (gr)	وزن خشک کاپیتول گل (gr)	عملکرد تر گل (gr/m ²)	عملکرد خشک گل (gr/m ²)	قطر نهج (mm)	قطر کاپیتول گل (cm)	قطر دمگل (mm)	تعداد گل (در مترمربع)
انتروباکتر کلوزه R13	۴/۷۵b	۰/۸۲b	۱۰۱۰a	۱۸۸a	۳۱/۱۰a	۷/۸۴a	۲/۸۷a	۱۲۸۵/۷۵a
انتروباکتر کلوزه R33	۵/۰۲a	۰/۹۱a	۱۰۰۰a	۱۷۵a	۳۱/۸۳a	۷/۴۰b	۲/۸۷a	۱۳۰۹/۰a
سودوموناس	۴/۵۸b	۰/۸۰b	۹۰۰a	۱۵۵b	۲۹/۹۸a	۷/۳۴b	۲/۷۷a	۱۲۴۰/۷۵a
کود شیمیایی	۴/۱۳c	۰/۶۹c	۸۲۰ab	۱۳۷c	۲۲/۳۹b	۶/۸۹c	۲/۲۸b	۱۰۰۰/۵b
شاهد	۳/۴۳d	۰/۴۸d	۷۲۰b	۱۰۰ d	۱۳/۴۰c	۵/۹۹d	۱/۵۰c	۵۷۲/۷۵c

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر در سطح احتمالی ۵٪ ندارند.

ادامه جدول ۲- ...

تیمار	تعداد برگ	تعداد انشعابات ساقه اصلی	تعداد انشعابات ساقه فرعی	کلروفیل کل (mg/g fw)	کاروتنوئید (mg/g fw)	درصد نیترژن	درصد فسفر	میزان فنل کل (mg Gal/g Dw)
انتروباکتر کلوزه R13	۱۷۴/۱۵a	۵/۸۷a	۲۰/۴۳a	۰/۹۱۶a	۰/۱۷۵a	۳/۴۲a	۱/۳۱a	۰/۰۹۵a
انتروباکتر کلوزه R33	۱۶۲/۶۲ab	۵/۲۶b	۲۰/۳۷a	۰/۸۷۷b	۰/۱۵۵c	۳/۱۲b	۱/۳۷a	۰/۱a
سودوموناس	۱۵۵/۵۰b	۵/۳۱b	۱۹/۷۵a	۰/۸۶۱c	۰/۱۶۶b	۳/۲۵ab	۰/۹۲c	۰/۰۸b
کود شیمیایی	۱۳۴/۴۰c	۴/۴۳c	۱۸/۰۰b	۰/۷۸۹d	۰/۱۶۲b	۳/۱۷ab	۱/۱۵b	۰/۰۷c
شاهد	۸۹/۲۳d	۳/۵۸d	۱۵/۸۷c	۰/۶۷۱e	۰/۱۵۲c	۲/۸۴c	۰/۴۴d	۰/۰۴d

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر در سطح احتمالی ۵٪ ندارند.

بحث

تیمارهای باکتریایی بود. نتایج تحقیقات Shokrani و همکاران (۲۰۱۲) در مورد تأثیر کود زیستی بر رشد و عملکرد گیاه همیشه‌بهار، نشان داد که کود زیستی نیتروکسین بر روی وزن ساقه و قطر کاپیتول تأثیر معنی‌دار و افزایشی داشت. نتایج تأثیر مایه‌زنی با گونه‌های مختلف باکتری‌های ریزوسفری بر تعداد گل همیشه‌بهار در مترمربع نشان داد که باز هم تیمارهای باکتری مؤثرتر از تیمار کود شیمیایی، تعداد گل را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. از آنجایی که عملکرد و تولید گل بالا، در نتیجه رشد بهتر گیاه حاصل می‌شود، می‌توان نتیجه گرفت که باکتری‌های بکار گرفته شده ضمن فراهم نمودن عناصر ضروری نیتروژن و فسفر برای گیاهان با تأثیر غیرمستقیم بر مراحل زایشی گیاه، تعداد گل و قطر کاپیتول و وزن گل‌ها را افزایش داده‌اند. در ارتباط با تأثیر کودهای زیستی بر گیاهان دارویی، Dehghani Mashkani و همکاران (۲۰۱۱) طی تحقیقی اعلام کردند که تیمار کودهای زیستی شامل ازتوباکتر، آزوسپیریلیوم و باسیلوس (نسبت به تیمارهای کود شیمیایی کامل و شاهد) به‌طور معنی‌داری سبب افزایش ارتفاع بوته، اندازه (قطر) کاپیتول‌ها و تعداد کاپیتول در گیاه دارویی بابونه شده‌اند. تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد با تأثیر بر قابلیت جذب عناصر غذایی و همچنین از طریق افزایش مقاومت گیاه در برابر عوامل بیماری‌زا موجب افزایش عملکرد گیاه می‌شوند (Akbarinia *et al.*, 2006). افزایش تعداد انشعابات ساقه‌های اصلی و فرعی و همچنین تعداد برگ همیشه‌بهار در نتایج این تحقیق که در تیمارهای باکتریایی و به‌ویژه انتروباکترکلوزه R13 مشاهده شد، حکایت از تأثیر مستقیم باکتری‌ها در افزایش جذب نیتروژن دارد که فعالیت اصلی این باکتری‌های آزادی‌تثبیت‌کننده نیتروژن می‌باشد. نتایج سایر تحقیقات نیز این اثرات را تأیید می‌کند. در همین راستا بررسی Shaalan (۲۰۰۵) نشان داد که مصرف کودهای زیستی مانند ازتوباکتر، آزوسپیریلیوم و سودوموناس سبب افزایش تعداد شاخه جانبی و تعداد کپسول در گیاه دارویی سیاه‌دانه شد. همچنین مطالعات Sharaf-Eldin و همکاران (۲۰۰۸) افزایش طول برگ زعفران را در اثر کودهای

نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار کودهای زیستی بکار برده در آزمایش، تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های مورد نظر شامل وزن تر و خشک کاپیتول گل، قطر کاپیتول گل، قطر نهج و دمگل، تعداد گل در مترمربع، عملکرد تر و خشک کل گل، تعداد برگ، تعداد انشعابات ساقه اصلی و فرعی، رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ، درصد فسفر و نیتروژن برگ گیاه دارویی همیشه‌بهار داشت. در بررسی وزن کاپیتول گل همیشه‌بهار که در واقع بخش دارویی مورد استفاده این گیاه است بالا بودن این شاخص نشان‌دهنده عملکرد خوب حاصل از کشت موفق می‌باشد که با بررسی شاخص عملکرد کل گل‌ها این موضوع تأیید شد. تیمارهای باکتریایی بسیار بهتر از تیمار کود شیمیایی اثر کرده و سبب افزایش وزن تر کاپیتول گل و عملکرد کل گل همیشه‌بهار شده‌اند. نتایج کار سایر محققان نیز به‌طور مشابه نشان داد که کودهای زیستی سبب افزایش صفات کمی و کیفی گیاه همیشه‌بهار شده و با تنظیم هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در تقسیم سلولی و تولید مواد فتوسنتزی داشته، در نتیجه افزایش وزن تر و خشک گل را در پی داشتند (Hosseini, Mazinani & Hadipour, 2014). قطر کاپیتول گل در همیشه‌بهار از دیگر شاخص‌های مهم است که نشان‌دهنده اندازه و کیفیت گل‌ها می‌باشد. در این تحقیق پس از بررسی نتایج و مقایسه تیمارها، مشخص شده که تیمارهای باکتریایی به‌ویژه باکتری انتروباکترکلوزه R13 بهترین نتایج را داشته است. براساس گزارش‌های منتشر شده در سایر تحقیقات نیز نتایج مشابهی از کاربرد کودهای زیستی وجود دارد. یکی از اثرات مهم باکتری‌ها افزایش هورمون‌های گیاهی می‌باشد که منجر به رشد بهتر و بیشتر گیاه می‌شود. از سوی دیگر در حضور باکتری‌ها میزان نیتروژن در دسترس گیاه افزایش می‌یابد و از آنجا که نیتروژن عنصر اصلی در رشد رویشی گیاهان است، منجر به افزایش ارتفاع، تعداد برگ‌ها و وزن گیاهان می‌شود (Hosseinzadeh *et al.*, 2011)؛ به‌طوری که در نتایج این تحقیق هم افزایش شاخص‌های رویشی گیاه همیشه‌بهار از اثرات بارز

مطلب است که مسیرهای متابولیکی اولیه و ثانویه در گیاه با هم ارتباط دارند؛ به طوری که کربوهیدرات حاصل از متابولیسم اولیه گیاه به عنوان پیش ماده سنتز اریتروز-۶ فسفات با تولید شیکمیک اسید منجر به آغاز مسیر-شیکیمات می شود (Dewick, 2009). نتایج بررسی اثر کودهای آلی بر مقدار ترکیب‌های فنولی کل برخی گیاهان دارویی بیانگر آن است که فراهمی مطلوب عناصر غذایی برای گیاه با فراهم کردن مواد آلی در خاک در بهبود این صفات اثرگذار است (Khalil *et al.*, 2007). پژوهشگران دیگری نیز شرایط رشد و پرورش گیاه را در سنتز متابولیت‌های ثانویه گیاهی دخیل می‌دانند (Upadhyaya *et al.*, 2011). نتایج آزمایش ما نیز نشان داد که تیمارهای مختلف کودی اثر معنی‌داری بر ترکیب‌های فنولی کل گل‌های همیشه‌بهار داشته است که نشان از شرایط تغذیه‌ای مناسب و فراهمی عناصر غذایی در اثر فعالیت باکتری‌ها می‌باشد.

به عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که شاخص‌های رشد، گلدهی و عملکرد در این گیاه دارویی با ارزش با مصرف کود زیستی از نوع باکتری‌های مفید خاکزی افزایش یافت. با توجه به افزایش نیاز به مصرف محصولات سالم می‌توان از این باکتری‌ها به عنوان جایگزین مناسبی برای کود شیمیایی در کشت گیاه دارویی همیشه‌بهار استفاده کرد، هرچند تحقیقات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است.

منابع مورد استفاده

- Abdou, M.A.H., El-Sayed, A.A., Badran, F.S. and El-Deen, R.M.S., 2004. Effect of planting density and chemical and biofertilization on vegetative growth, yield and chemical composition of fennel (*Foeniculum vulgare* Miller): I- Effect of planting density and some chemical (Nofatrein) and biochemical (Biogen) fertilizers. *Annals of Agricultural Science*, 42(4): 1907-1922.
- Adela, P., Constantin, B., Sanda, A. and Carmen, S., 2003. HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers. *Acta Biologica Szegediensis*, 47: 37-40.
- Akbarinia, A., Daneshian, J. and Mohammadbeigi, F., 2006. Effect of nitrogen fertilizer and plant density on seed yield, essential oil and oil content of

زیستی نشان داد. در مطالعه Ghaafar Zadeh و همکاران (۲۰۱۴) بر روی گیاه دارویی همیشه‌بهار بیشترین ارتفاع بوته، عملکرد گل، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای پرولین و مقدار عصاره گل با مصرف کود زیستی نیتروژنی به صورت بذرمال گزارش شده است. نتایج اندازه‌گیری میزان عناصر فسفر و نیتروژن برگ گیاه همیشه‌بهار نشان داد که میزان این عناصر در تیمارهای باکتریایی بالاتر از تیمار شاهد و کود شیمیایی بوده است؛ در واقع براساس ویژگی‌های این باکتری‌ها (تثبیت‌کنندگی نیتروژن و حل‌کنندگی فسفر) چنین نتیجه‌ای مورد انتظار بود. اثرهای غیرمستقیم حضور فسفر و نیتروژن در گیاه همیشه‌بهار مثل افزایش رشد رویشی و زایشی در بخش‌های قبلی مورد بررسی قرار گرفت. در یک آزمایش گلخانه‌ای Rasipour و Ali Asgharzadeh (۲۰۰۷) نشان دادند که مایه‌زنی سویا با باکتری‌های حل‌کننده فسفات موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی، غلظت عناصر پتاسیم، فسفر و نیتروژن در اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و تعداد گره‌های روی ریشه شد. محققان معتقدند که باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه با افزایش قابلیت دسترسی گیاه به عناصر غذایی مثل نیتروژن و فسفر سبب بهبود رشد می‌شوند (Schippers *et al.*, 1990).

ترکیب‌های فنولی گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که اغلب فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند. این ترکیب‌ها جزء آنتی‌اکسیدان‌های غیرآزیمی آب‌دوست محسوب می‌شوند و خواص ارزشمند ضد میکروبی، ضد ویروس، ضد جهش و ضد سرطان دارند (Pods dek, 2007). میزان فنل کل یکی از شاخص‌های فارماکولوژیک گیاه است. براساس مطالعات فراوانی که توسط محققان انجام شده میزان ترکیب‌های پلی‌فنولی با توجه به ژنوتیپ گیاه، شرایط خاکی و مرحله رشدی گیاه متفاوت است. همچنین عوامل محیطی مانند نور، دما و شرایط تغذیه‌ای خاکی گیاه می‌تواند بر متابولیسم فنل پروپانویدها اثرگذار باشد (Velickovi *et al.*, 2014). بررسی مسیر شیکیمات به عنوان مسیر اصلی بیوسنتز ترکیب‌های فنولی، مبین این

- Lebaschi, M., Sharifi Ashoorabadi, A. and Abbaszadeh, B., 2004. Hyperisin for efficient production of nitrogen. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 20: 210-220.
- Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11: 591-592.
- McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. and Robards, K., 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73: 73-84.
- Mehboob, I., Naveed, M. and Zahir, Z.A., 2009. Rhizobial association with non-Legumes: mechanisms and applications. *Critical Reviews in Plant Science*, 28: 432-456.
- Muley, B.P., Khadabadi, S.S. and Banarase, N.B., 2009. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* L. (Asteraceae): a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 8(5): 455-465.
- Omidbaigi, R., 2007. Production and Processing of Medicinal Plants (Vol. 2). Astan Quds Razavi Press, Khorasan, 438p.
- Podsdek, A., 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. *Food Science and Technology*, 40(1): 1-11.
- Ramezani, A., 2005. Introduce of rhizobacteria as PGPR. First National Congress of Legums, University of Mashhad, Mashhad, Iran, 20-21 November.
- Rasipour, L. and Ali Asgharzadeh, N. 2007. Interactive effect of phosphate solubilizing bacteria and *Bradyrhizobium japonicum* on growth, nodule indices and some nutrient uptake of soybean. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 11(40): 53-63.
- Schippers, B., Bakker, A. W., Bakker, P.A. and Vanpeer, R., 1990. Beneficial and deleterious effects of HCN-producing *Pseudomonas* on rhizosphere interactions. *Plant and Soil*, 129: 75-83.
- Shaalan, M.N., 2005. Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of *Nigella sativa* L. plants. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 83: 811-828.
- Sharaf-Eldin, M.A., Elkholy, S., Fernández, J.A., Junge, H., Cheetham, R.D., Guardiola, J.L. and Weathers, P.J., 2008. The effect of *Bacillus subtilis* FZB24 on flowers quantity and quality of saffron (*Crocus sativus* L.). *Planta Medica*, 74(10): 1316-1320.
- Sharma, A.K., 2002. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios, India, 407p.
- *Coriandrum sativum* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 22(4): 410-419.
- Amery, A., Nasiri Mahalati, M. and Rezvani Moghadam, P., 2008. Effects of different nitrogen levels and plant density on flower, essential oils and extract production and nitrogen use efficiency of Marigold (*Calendula officinalis* L.). *Iranian Journal of Agriculture Research*, 5(2): 315-325.
- Bako, E., Deli, J. and Toth, G., 2002. HPLC study on the carotenoid composition of *Calendula* products. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 53: 241-250.
- Chapman, H.D. and Pratt, P.F., 1961. Methods of analysis for soils, plants and waters. *Soil Science*, 93(1): 68-78.
- Dehghani Mashkani, M.R., Naghdi Badi, H., Darzi, M.T., Mehrafarin, A., Rezazadeh, Sh. and Kadkhoda, Z., 2011. The effect of biological and chemical fertilizers on quantitative and qualitative yield of shirazian baboonch (*Matricaria Recutita* L.). *Journal of Medicinal Plants*, 38: 35-48.
- Dewick, P., 2009. Medicinal Natural Products a Biosynthetic Approach. John Wiley and Sons, Ltd, Publication. United Kingdom, 509p.
- Ghaafer Zadeh, L., Omidi, H. and Bostani, A.A., 2014. The study of drought stress and Bio fertilizer of nitrogen on some biochemical traits of Marigold medicinal plant (*Calendula officinalis* L.). *Journal of plant Research*, 27(2): 180-193.
- Hosseini Mazinani, M. and Hadipour, A., 2014. Improving the quality and quantity of calendula plants with the use of bio-fertilizers. *Journal of Medicinal Plants*, 50(2): 83-91.
- Hosseinzadeh, F., Satei, A. and Ramezani, M.R., 2011. Effects of mycorrhiza and plant growth promoting rhizobacteria on growth, nutrients uptake and physiological characteristics in *Calendula officinalis* L. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 8(5): 947-953.
- Jafarzadeh, L., Omidi, H. and Bostani, A., 2015. The study of drought stress and Bio fertilizer of nitrogen on some biochemical traits of Marigold medicinal plant (*Calendula officinalis* L.). *Journal of Plant Researches*, 27(2): 180-193.
- Khalil, M.Y., Moustafa, A.A. and Naguib, N.Y., 2007. Growth, phenolic compounds and antioxidant activity of some medicinal plants grown under organic farming condition. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(4): 451-457.
- Kalvatchev, Z., Walder, R. and Garzaro, D., 1997. Anti-HIV activity of extracts from *Calendula officinalis* flowers. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 51: 176-180.

- Upadhyaya, S., Mahanta, J.J. and Saikia, L.R., 2011. Antioxidant activity, phenol and flavonoid content of a medicinal herb *Andrographis paniculata* (Burm.F.) nees grown using different organic manures. *Journal of Pharmacy Research*, 4(3): 614-616.
- Velickovi , J.M., Dimitrijevi , D.S., Miti , S.S., Miti , M.N. and Kosti , D.A., 2014. The determination of the phenolic composition, antioxidative activity and heavy metals in the extracts of *Calendula officinalis* L. *Advanced Technologies*, 3(2): 46-51.
- Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255: 571-586.
- Shokrani, F., Pirzad, A., Zardoshti, M.R. and Darvishzadeh, R., 2012. Effect of biological nitrogen on the yield of dried flower and essential oil of *Calendula officinalis* L. under end season water deficit condition. *International Research Journal of Applied and Basic Science*, 3(1): 24-34.
- Tahami Zarandi, M.K., Rezwani Moghadam, P. and Gahan, M., 2009. The impact of bio-fertilizers and compost garbage on the performance of the vegetative Basil (*Ocimum basilicum*). 2nd National Symposium on Agriculture and Sustainable Development, Islamic Azad University of Shiraz, 2-3 March: 1-8. [In Farsi]

Effects of plant growth promoting rhizobacteria and chemical fertilizer on growth, yield, flowering, physiological properties, and total phenolic content of *Calendula officinalis* L.

E. Hormozinejad¹, M. Zolfaghari^{2*}, M. Mahmoodi Sourestani³ and N. Enayati Zamir⁴

1- M.Sc. graduate of Medicinal Plant, Horticulture Department of Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2*- Corresponding author, Horticulture Department of Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

E-mail: m.zolfaghari@scu.ac.ir

3- Department of Horticulture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

4- Department of Soil Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: March 2017

Revised: June 2018

Accepted: June 2018

Abstract

In order to investigate the effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on growth, yield, flowering and biochemical content of marigold (*Calendula officinalis* L.), an experiment was carried out in a randomized complete block design with five treatments and four replications during the 2015-2016 in the Faculty of Agriculture of Shahid Chamran University of Ahvaz. The treatments included *Entrobacter closea* R13, *Entrobacter closea* R33, *Pseudomonas* sp., chemical fertilizers (NPK), and control (no fertilizer). The results of the experiment showed that the highest flower number per square meter, leaf number, stem branches, receptacle diameter, and capitol diameter were observed in *E. closea* R13, while the highest capitol fresh and dry weight was found in *E. closea* R33. Moreover, the most leaf phosphorus and nitrogen content, and leaf chlorophyll and carotenoids content were observed in the plots incubated with *E. closea* R13. The highest and lowest total phenolic content was found in the *Entrobacter* treatment and control, respectively. Mean comparison of treatment effects showed that the effects of *E. closea* R33 were similar to *E. closea* R13 in most parameters and there was no significant difference between them. According to the positive and additive effects of PGPR on calendula plants, the PGPR could be recommended as an alternative to chemical fertilizers to reduce the consumption of chemical fertilizers and guaranty the production of medicinal plants, free of chemicals.

Keywords: *Calendula officinalis* L., chemical fertilizer, *Entrobacter closea*, *Pseudomonas* sp., growth parameters.