

تأثیر باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و کود دامی بر عملکرد دانه و اسانس گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)

فرشته قانع‌پسند^۱ و محمدرضا حاج سید هادی^{۲*}

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن، ایران

۲- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن، ایران

پست الکترونیکی: mrhshadi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۴

تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۳

چکیده

به منظور بررسی تأثیر کودهای زیستی تأمین‌کننده نیتروژن و کود دامی بر عملکرد و اسانس گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی شرکت کشاورزی ران در منطقه فیروزکوه در سال زراعی ۱۳۹۱ اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل کود دامی در چهار سطح (عدم مصرف، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ تن در هکتار) و باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در چهار سطح (عدم تلقیح، تلقیح با ازتوباکتر، تلقیح با آزوسپیریلوم و تلقیح توأم با ازتوباکتر و آزوسپیریلوم) بودند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین ارتفاع بوته (۴۷/۸ سانتی‌متر)، درصد اسانس در دانه (۰/۱۴٪) و عملکرد اسانس (۷۶۸/۳۱ گرم در هکتار) در کاربرد ۷/۵ تن کود دامی در هکتار بدست آمد، در حالی‌که بیشترین عملکرد زیستی (۱۸۲۹/۱۶ کیلوگرم در هکتار) و عملکرد دانه (۵۵۶/۲۲ کیلوگرم در هکتار) از تیمار پنج تن کود دامی در هکتار حاصل شد. کمترین میزان صفات مورد بررسی از تیمار شاهد یا عدم مصرف کود دامی بدست آمد. بیشتر صفات تحت تأثیر مثبت و معنی‌دار تلقیح بذر با باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریلوم قرار گرفتند. بیشترین ارتفاع (۴۹/۶۱ سانتی‌متر)، عملکرد دانه (۵۵۳/۴۱ کیلوگرم در هکتار)، شاخص برداشت (۳۷/۷۱٪)، عملکرد زیستی (۱۶۹۷/۲۱ کیلوگرم در هکتار) و عملکرد اسانس (۶۶۴/۰۹ گرم در هکتار) از تلقیح توأم بذر با ازتوباکتر و آزوسپیریلوم بدست آمد. کمترین مقادیر نیز از تیمار شاهد یا عدم تلقیح بذر با باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)، ازتوباکتر، آزوسپیریلوم، عملکرد، اسانس.

مقدمه

از این گیاه در صنایع داروسازی و بهداشتی استفاده می‌شود (Rezvani, Tavakoli Saberi & Sedaghat, 2005; Moghadam et al., 2014).

در دهه‌های اخیر، تولید محصولات کشاورزی به طور عمده متکی بر مصرف نهاده‌های شیمیایی بوده که این امر منجر به بروز مشکلات زیست محیطی شده است. یکی از

سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی یک‌ساله و علفی است که به خانواده آلاله (Ranunculaceae) تعلق دارد. این گیاه دارای برگهایی منقسم به تقسیمات باریک و نخی شکل و گل‌های منفرد به رنگ سفید شیری با کناره مایل به رنگ سبز یا مایل به آبی است. قسمت مورد استفاده این گیاه دانه می‌باشد.

نتایج تحقیقات انجام شده بر روی پاسخ گیاهان دارویی به باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن شامل *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum lipoferum* نشان‌دهنده افزایش ویژگی‌های رشدی و عملکرد کمی و کیفی کرمی و (Migahed *et al.*, 2004)، رازیانه (Abdou *et al.*, 2004)؛ (Mahfouz & Sharaf-Edin, 2007)؛ (Azzaz *et al.*, 2009)؛ (Moradi *et al.*, 2011)، زوفا (Koocheki *et al.*, 2009)، زیره سبز (Saeid Nejad & Rezvani Moghaddam, 2010)، سیاهدانه (Valadabadi & Farahani, 2011)؛ (Rajabi Kaboodcheshmeh *et al.*, 2013) و شوید (Darzi *et al.*, 2012) می‌باشد.

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که کود دامی تأثیر مثبت و معنی‌داری بر ویژگی‌های رشدی و افزایش اسانس و اجزاء اسانس در برخی از گیاهان دارویی دارد که می‌توان به مطالعات انجام شده بر روی شوید (Khalid & Shafei, 2005)، مریم‌گلی (Kaplan *et al.*, 2009)، بومادران (Scheffer *et al.*, 1993)، ریحان (Biasi *et al.*, 2009)، آویشن (Ateia *et al.*, 2009)، پونه‌سای بینالودی (Nadjafi, 2006)، رازیانه (Osman, 2009)، مرزنجوش (Said-Al, 2009)، بادرنجبویه (Ahl *et al.*, 2009)، گشنیز (Darzi & Haj Seyed Hadi, 2012) و زوفا (Shabahang *et al.*, 2014) اشاره کرد. با توجه به موارد یادشده در بالا، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر کود زیستی و کود دامی بر عملکرد، اجزای عملکرد و میزان تولید اسانس گیاه دارویی سیاهدانه در منطقه فیروزکوه اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در بهار سال ۱۳۹۱ در مزرعه تحقیقاتی شرکت کشاورزی و دامپروری ران وابسته به بنیاد مستضعفان در ۱۰ کیلومتری شهرستان فیروزکوه با طول جغرافیایی ۵۲ درجه و ۴۴ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۵ دقیقه شمالی، با ارتفاع ۱۹۳۰ متر از سطح دریا اجرا شد. میانگین دمای سالیانه هشت درجه سلسیوس و مجموع بارندگی سالیانه ۲۹۶ میلی‌متر است. قبل از اجرای تحقیق،

راه‌های رفع این مشکل، اعمال راهکارهایی مبتنی بر استفاده از اصول کشاورزی اکولوژیک در بوم‌نظام‌های زراعی می‌باشد. در این نظام به جای استفاده از نهاده‌های خارجی مانند انواع کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها از تناوب زراعی با بقولات، بقایای گیاهی، انواع کودهای دامی، آلی و زیستی استفاده می‌شود تا ضمن ذخیره مواد غذایی در خاک، علف‌های هرز و آفات، کنترل شده و تنوع زیستی در مزارع افزایش یابد (Elsen, 2000). کشاورزی پایدار با هدف کاهش چشمگیر در مصرف نهاده‌های شیمیایی و با رعایت اصول اکولوژیک، یک راه‌حل مناسب برای غلبه بر مشکلات کشاورزی متداول محسوب می‌شود (Darzi *et al.*, 2008).

کاربرد کودهای زیستی، از جمله راهبردهای تغذیه گیاه برای نیل به اهداف کشاورزی پایدار است (Kapoor *et al.*, 2004؛ Shaalan, 2005). اصطلاح کودهای زیستی به ریزجانداران باکتریایی و قارچی و مواد متابولیک حاصل از فعالیت آنها اطلاق می‌گردد. کودهای زیستی حاوی مواد نگهدارنده‌ای با تراکم زیاد از یک یا چند نوع میکروارگانیسم مفید خاکزی و یا به صورت فراورده متابولیت این موجودات می‌باشند که در ناحیه اطراف ریشه و یا بخش‌های داخلی گیاه تشکیل کلونی می‌دهند و رشد گیاه میزبان را با روش‌های مختلف تحریک می‌کنند (Omidi *et al.*, 2009)؛ (Manafee & Kloepper, 1994).

باکتری‌های آزادزی تثبیت‌کننده نیتروژن از قبیل آزوسپیریلوم (*Azospirillum*) و ازتوباکتر (*Azotobacter*) نه تنها باعث تثبیت نیتروژن می‌شوند، بلکه قادر به تولید فیتوهورمون‌ها بوده و سبب تحریک رشد گیاه، جذب مواد غذایی و فتوسنتز می‌شوند (Mahfouz & Sharaf-Eldin, 2007). از فواید این باکتری‌ها می‌توان به تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه مانند اکسین و جیبرلین (Bashan & Holguin, 1997)، سیتوکینین (Cacciari *et al.*, 1989)، ترشح مواد زیستی فعال مانند ویتامین‌های B، اسیدپنتوتنیک و بیوتین (Kader *et al.*, 2002)، توسعه سیستم ریشه‌ای، بهبود جذب آب و عناصر غذایی و تثبیت زیستی نیتروژن (Ishizuka, 1992) اشاره کرد.

از نقاط مختلف خاک مزرعه در عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری انجام شد و بعد از مخلوط کردن نمونه‌ها، برای تعیین خواص فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه منتقل شد که نتایج آزمایش خاک در جدول ۱ ارائه شده‌است.

جدول ۱- خصوصیات خاک منطقه اجرای آزمایش

منگنز	مس	روی	آهن	پتاسیم قابل جذب	فسفر قابل جذب	نیتروژن کل	کربن آلی	pH	هدایت الکتریکی	بافت خاک
(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(ppm)	(ppm)	(%)	(%)		(ds/m)	
۶/۶	۱/۲	۱/۱	۸	۷۲۰	۴۸	۰/۱۲۷	۱/۸۶	۷/۶	۱/۵۵	لومی رسی

تکرارها ۲/۵ متر و فاصله بین کرتها از یکدیگر یک خط کاشت در نظر گرفته شد. هر کرت حاوی شش خط کاشت با فواصل ۳۰ سانتی‌متر بود. در بهار پس از آماده‌سازی زمین، مقادیر مختلف کود دامی پوسیده براساس تیمارهای آزمایشی در شباری که بر روی پشته‌ها ایجاد شده بود قرار گرفت و بعد پشته‌ها به کمک بیل به حالت اولیه تهیه شدند. وضعیت فیزیکی و شیمیایی کود دامی مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۲ ارائه شده است.

این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در ۴ سطح (عدم تلقیح، ازتوباکتر، آزوسپیریوم و ازتوباکتر+ آزوسپیریوم) و کود دامی در چهار سطح (عدم مصرف، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ تن در هکتار) بودند. در بهار پس از انجام عملیات تهیه زمین اقدام به کشت بذر سیاهدانه شد. ابعاد کرتها ۲×۲/۵ متر، فاصله بین

جدول ۲- نتایج آنالیز کود دامی مورد استفاده در آزمایش

فسفر کل	فسفر قابل جذب	E.C	pH	پتاسیم کل	O.C	O.M	نیتروژن کل	کلسیم کل	منیزیم کل
(%)	mg/kg	ds/m		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
۰/۸۲	۱۴۵	۱/۲۲	۷/۲	۰/۴۱	۳۴/۵	۵۹/۶	۲/۵۶	۰/۹	۰/۴۵

استفاده حاوی 10^8 سلول زنده در هر میلی‌لیتر (CFU) بود.

بعد از این مرحله، بذرهای آغشته شده در سایه به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند تا بذرهای خشک شوند و بعد کشت انجام شد (Darzi et al., 2012). بذرهای به صورت خطی و با تراکم ۱۶۷ بوته در مترمربع کشت شدند (Bannayan et al., 2008). آبیاری به روش قطره‌ای و با کمک لوله‌های tape انجام گردید. برای یکنواختی در سبز شدن بوته‌ها، دو آبیاری ابتدایی به فاصله دو تا سه روز و آبیاری‌های بعدی هر ۵ تا ۷ روز

بذر سیاهدانه از مرکز تحقیقات کشاورزی استان اصفهان و باکتری‌های *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum lipoferum* در این تحقیق از بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد. برای تلقیح باکتری‌ها از محلول ۲۰٪ آب و شکر استفاده شد (Darzi et al., 2008؛ Haj Seyed Hadi et al., 2012). تلقیح بذرهای در زمان کاشت انجام شد و براساس توصیه مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور به ازای هر ۱۰۰ گرم بذر تا ۵۰۰ میلی‌لیتر باکتری اضافه شد. مایه تلقیح‌های مورد

با استفاده از نرم افزار SAS تجزیه شد (SAS, 2001). به منظور مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چنددامنه ای دانکن و برای ترسیم نمودارها از برنامه Excel استفاده شد.

نتایج

ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر عامل کود زیستی بر ارتفاع در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود ولی اثر کود دامی و برهم کنش بین دو عامل بر ارتفاع بوته معنی دار نبود. مقایسه میانگین ها در بین سطوح مختلف کود زیستی نشان داد که تلقیح بذر با باکتری های ازتوباکتر و آزوسپیریلوم بیشترین اثر را بر افزایش ارتفاع گیاه (۴۹/۶۱ سانتی متر) داشته است و کمترین ارتفاع در تیمار عدم تلقیح بذر (۳۰/۷۶ سانتی متر) مشاهده شده است (جدول ۴).

مقایسه میانگین های مربوط به سطوح مختلف کود دامی (جدول ۵) نیز نشان داد که بیشترین ارتفاع بوته (۴۷/۸ سانتی متر) با مصرف ۷/۵ تن کود دامی در هکتار و کمترین ارتفاع بوته (۳۷/۶۴ سانتی متر) در تیمار عدم مصرف کود دامی حاصل شده است.

یک بار انجام شدند. در مرحله دو تا چهار برگی تنک بوته ها انجام شد تا تراکم مورد نظر (۱۶۷ بوته در مترمربع) حاصل شود. برای مبارزه با علف های هرز در طول دوره رشد اقدام به وجین دستی شد. پس از حذف اثر حاشیه ای در هر کرت به اندازه ۵۰ سانتی متر از دو سر هر کرت و حذف دو خط کناری، به طور تصادفی نمونه گیری انجام شد. در برداشت نهایی هم با احتساب اثر حاشیه ای بوته های یک مترمربع از هر کرت برداشت و به آزمایشگاه برای اندازه گیری های نهایی منتقل شدند. صفات مورد بررسی در این تحقیق عبارت بودند از: ارتفاع، عملکرد زیستی، عملکرد دانه، شاخص برداشت، درصد اسانس و عملکرد اسانس. برای تعیین ارتفاع در زمان گلدهی، بوته ها از کف تا بلندترین نقطه رویشی با متر اندازه گیری شدند (Haj Seyed Hadi *et al.*, 2012). برای تعیین عملکرد زیستی، نمونه ها به مدت ۴۸ ساعت در آون (دمای ۷۵ درجه سانتی گراد) قرار داده شدند (Haj Seyed Hadi *et al.*, 2012; Darzi *et al.*, 2008). عمل استخراج اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر در آزمایشگاه مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور انجام گردید. پس از تعیین درصد اسانس در دانه های سیاهدانه، با ضرب آن در عملکرد دانه، مقدار عملکرد اسانس در هکتار مشخص گردید. داده های بدست آمده از آزمایش

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر کود دامی و کود زیستی نیتروژن بر برخی صفات رشدی، عملکرد و اسانس سیاهدانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)				ارتفاع	عملکرد زیستی	عملکرد دانه	شاخص برداشت	درصد اسانس	عملکرد اسانس
		عملکرد زیستی	عملکرد دانه	شاخص برداشت	درصد اسانس						
بلوک	۲	۳۸۴/۶۸ **	۱۸۹۴۳۰/۳۵ **	۰/۵۵ **	۰/۰۰۰۰۱۴ ns	۷۳/۰۵ ns					
کود دامی	۳	۲۶/۸۳ ns	۱۲۳۵۸۹۴/۷۷ *	۰/۵۴ **	۰/۰۳۲۰۸۳ **	۱۲۳/۶۴ *					
کود زیستی	۳	۴۲۶/۸۱ **	۱۷۳۱۴۳۶/۸۲ **	۰/۳۱ *	۰/۰۰۶۱۵۸ ns	۲۳۶/۶۴ **					
کود دامی × کود زیستی	۹	۱۷/۷۰ ns	۱۲۷۳۰۳/۹۷ ns	۰/۰۵ ns	۰/۰۲۰۳۸۰ **	۸۱/۹۷ ns					
خطا	۳۰	۲۲/۰۷	۱۲۷۳۶۵/۹۵	۰/۰۴	۰/۰۰۲۳۶۱	۴۴/۷۷					
ضریب تغییرات (%)	-	۷/۰۹	۱۷/۴۳	۱۵/۲۳	۷/۵۳	۱۴/۹۰					

ns و ** و ***: به ترتیب معنی دار در سطح ۵٪، ۱٪ و عدم تفاوت معنی دار

عملکرد زیستی
 نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات کود دامی در سطح ۵٪ و اثرات کود زیستی نیتروژنه بر عملکرد زیستی در سطح ٪ معنی‌دار بود ولی برهم‌کنش عامل‌ها معنی‌دار نشد (جدول ۳). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بیشترین عملکرد زیستی در تلقیح توأم بذر با ازتوباکتر و آزوسپیریوم (۱۶۹۷/۲۱ کیلوگرم در هکتار) بدست آمد (جدول ۴). همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کاربرد ۵ تن کود دامی در هکتار بیشترین عملکرد زیستی (۱۸۲۹/۱۶ کیلوگرم در هکتار) و عدم مصرف کود دامی کمترین عملکرد زیستی (۱۳۳۱/۲۰ کیلوگرم در هکتار) را باعث شدند (جدول ۵).

عملکرد زیستی
 نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات کود دامی در سطح ۵٪ و اثرات کود زیستی نیتروژنه بر عملکرد زیستی در سطح ٪ معنی‌دار بود ولی برهم‌کنش عامل‌ها معنی‌دار نشد (جدول ۳). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بیشترین عملکرد زیستی در تلقیح توأم بذر با ازتوباکتر و آزوسپیریوم (۱۶۹۷/۲۱ کیلوگرم در هکتار) بدست آمد (جدول ۴). همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کاربرد ۵ تن کود دامی در هکتار بیشترین عملکرد زیستی (۱۸۲۹/۱۶ کیلوگرم در هکتار) و عدم مصرف کود دامی کمترین عملکرد زیستی (۱۳۳۱/۲۰ کیلوگرم در هکتار) را باعث شدند (جدول ۵).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر کود زیستی نیتروژنه بر برخی صفات رشدی، عملکرد و اسانس سیاهدانه

سطوح مختلف کود زیستی	ارتفاع (سانتی‌متر)	عملکرد زیستی (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)	شاخص برداشت (%)	میزان اسانس (%)	عملکرد اسانس (گرم در هکتار)
عدم تلقیح	۳۰/۷۶ c	۱۱۲۵/۴۱ c	۳۰۰/۵۶ c	۲۶/۷۱ b	۰/۱۰ c	۳۰۰/۵۶ b
ازتوباکتر	۴۳/۶۹ b	۱۳۶۸/۶۶۷ b	۴۱۹/۰۵ b	۳۰/۶۳ ab	۰/۱۵ a	۶۲۸/۵۷ a
آزوسپیریوم	۴۲/۸۸ b	۱۴۶۸/۶۷ b	۵۳۲/۵۷ a	۳۱/۳۸ ab	۰/۱۲ b	۶۳۹/۰۸ a
ازتوباکتر + آزوسپیریوم	۴۹/۶۱ a	۱۶۹۷/۲۱ a	۵۵۳/۴۱ a	۳۷/۷۱ a	۰/۱۲ b	۶۶۴/۰۹ a

حروف غیرمشابه در مقابل میانگین‌ها در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بین آنهاست (آزمون دانکن).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر کود دامی بر برخی صفات رشدی، عملکرد و اسانس سیاهدانه

سطوح مختلف کودهای دامی	ارتفاع (سانتی‌متر)	عملکرد زیستی (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)	شاخص برداشت (%)	میزان اسانس (%)	عملکرد اسانس (گرم در هکتار)
عدم مصرف	۳۷/۶۴ b	۱۳۳۱/۲۰ b	۳۶۴/۲۵ b	۲۷/۳۶ b	۰/۱۱ c	۴۰۰/۶۸ c
۲/۵ تن در هکتار	۴۴/۹۴ a	۱۶۰۳/۶۷ ab	۵۴۷/۵۰ a	۳۴/۱۵ a	۰/۱۳ ab	۷۱۱/۷۵ ab
۵ تن در هکتار	۴۷/۲۳ a	۱۸۲۹/۱۶ a	۵۵۶/۲۲ a	۳۰/۴۱ ab	۰/۱۲ bc	۶۶۷/۴۶ b
۷/۵ تن در هکتار	۴۷/۸۰ a	۱۷۵۹/۶۷ a	۵۴۹/۱۵ a	۳۱/۲۱ ab	۰/۱۴ a	۷۶۸/۸۱ a

حروف غیرمشابه در مقابل میانگین‌ها در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بین آنهاست (آزمون دانکن).

عملکرد دانه
 عملکرد دانه (۵۵۶/۲۲ کیلوگرم) را باعث شد، اما تفاوت آن با کاربرد ۲/۵ و ۷/۵ تن در هکتار معنی‌دار نبود (جدول ۵).

شاخص برداشت
 نتیجه تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که تلقیح بذر با کود زیستی در سطح ۵٪ و کود دامی در سطح ۱٪ اثر معنی‌داری بر شاخص برداشت سیاهدانه داشت، ولی برهم‌کنش تیمارها معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین کود زیستی نشان داد که بیشترین شاخص برداشت در تلقیح بذر با کودهای ازتوباکتر

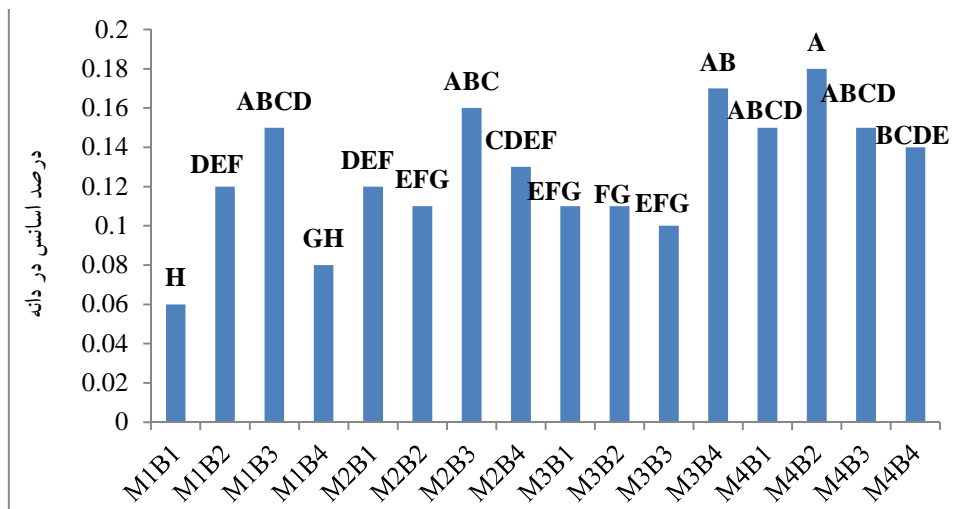
عملکرد دانه
 نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که تأثیر کود دامی در سطح ۵٪ و تأثیر کود زیستی بر عملکرد دانه در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، ولی برهم‌کنش تیمارها بر عملکرد دانه معنی‌دار نشد. نتیجه مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تلقیح توأم بذر با ازتوباکتر و آزوسپیریوم باعث بیشترین عملکرد دانه (۵۵۳/۴۱ کیلوگرم در هکتار) گردید که تفاوت معنی‌داری با کاربرد تنهای آزوسپیریوم نداشت (جدول ۴). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اگرچه مصرف ۵ تن کود دامی بیشترین

دامی و برهم‌کنش عامل‌ها بر درصد اسانس بذر در سطح ۱٪ معنی‌دار بوده است. مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها نشان داد که بیشترین درصد اسانس در تلقیح بذرها با ازتوباکتر و کاربرد ۷/۵ تن کود دامی (۱۸٪) بدست آمد. به‌عبارتی کاربرد توأم کود زیستی و کود دامی اثر افزایشی بر درصد اسانس سیاهدانه داشت (شکل ۱).

و آزوسپیریلوم (۳۷/۷۱٪) بدست آمد (جدول ۴). البته کاربرد ۲/۵ تن کود دامی در هکتار نیز باعث بیشترین شاخص برداشت سیاهدانه (۳۴/۱۵٪) شد (جدول ۵).

درصد اسانس

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر کود



شکل ۱- اثر متقابل کود دامی و زیستی بر درصد اسانس سیاهدانه

باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در ۴ سطح =B1=عدم تلقیح، =B2=ازتوباکتر، =B3=آزوسپیریلوم و =B4=ازتوباکتر+آزوسپیریلوم) و کود دامی در ۴ سطح =M1=عدم مصرف، =M2=۲/۵، =M3=۵ و =M4=۷/۵ تن در هکتار)

بحث

افزایش ارتفاع بوته در اثر کاربرد کودهای زیستی احتمالاً ناشی از افزایش جذب عناصر غذایی، به‌ویژه فسفر و نیتروژن و تأثیر آن بر بهبود فتوسنتز و در نتیجه افزایش رشد بوته است. ازتوباکتر و آزوسپیریلوم علاوه بر تثبیت نیتروژن، قادر به تولید اسیدهای آمینه (مانند آرژینین، لیزین، تریپتوفان، هیستیدین، سیستین)، پالمتیک اسید و انواع عوامل رشد مانند اکسین، جبرلین و سیتوکینین هستند که در بهبود رشد و افزایش ارتفاع مؤثر می‌باشند (Martinez, 1991؛ Toledo et al., 1990؛ Bashan & Levany, 2010). بررسی روند تغییرات ارتفاع گیاه در پاسخ به کودهای زیستی (ازتوباکتر، آزوسپیریلوم و قارچ میکوریزا) در طول

عملکرد اسانس

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) تأثیر کود زیستی و کود دامی بر عملکرد اسانس در سطح ۱٪ معنی‌دار شد ولی برهم‌کنش عامل‌ها معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین‌های سطوح مختلف کودهای زیستی نیتروژنه نشان داد که بیشترین عملکرد اسانس (۶۶۴/۰۹ گرم در هکتار) مربوط به فاکتور تلقیح بذرها با کودهای ازتوباکتر و آزوسپیریلوم بوده‌است که اختلاف معنی‌داری با کاربرد تنهای هر یک از کودها نداشته است (جدول ۴). همچنین بیشترین میزان عملکرد اسانس (۷۶۸/۳۱ گرم در هکتار) با کاربرد ۷/۵ تن کود دامی در هکتار حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با کاربرد ۲/۵ تن در هکتار نداشت (جدول ۵).

نتیجه باعث افزایش تولید مواد فتوسنتزی در گیاه می‌شود، بنابراین چنین به نظر می‌رسد که افزایش عملکرد دانه در پاسخ سیاهدانه به تلقیح با این کودها به دلیل فراهمی بیشتر عناصر غذایی برای بوته‌ها بوده که در نتیجه باعث افزایش تولید مواد فتوسنتزی برای دانه‌ها شده‌است.

در اوایل رشد گیاه که نیاز به عناصر غذایی کم است، میزان نیتروژن معدنی کودهای دامی کمتر از کود شیمیایی است ولی در مراحل رشد زایشی به علت تداوم فرایند معدنی‌شدن، جذب تا مدت طولانی‌تری ادامه پیدا می‌کند. به طوری که این شرایط موجب زیاده‌تر شدن عملکرد دانه می‌گردد (Salehi et al., 2014).

Ahmadian و همکاران (۲۰۰۶) مشاهده کردند که کودهای آلی بر عملکرد بذر در گیاه زیره سبز اثر معنی‌داری داشتند. Fallahi و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که کود دامی بر عملکرد بذر گیاه بابونه آلمانی تأثیر معنی‌داری داشته و بیشترین عملکرد بذر مربوط به تیمار کودگاو بوده‌است. کودهای آلی ضمن تأمین مقادیری عناصر غذایی، باعث بهبود ساختمان خاک و در نتیجه افزایش عملکرد گیاهان زراعی می‌شوند (Ahmadian et al., 2006). ولی نتایج پژوهش Tabrizi (۲۰۰۴) در مورد اثر کود دامی بر عملکرد بذر در گیاه اسفرزه معنی‌دار نبود.

در تحقیقی با بررسی تأثیر ازتوباکتر و تراکم بوته بر عملکرد گیاه انیسون مشاهده شد که تأثیر تیمارها بر شاخص برداشت معنی‌دار بوده است (Hosseinpour et al., 2011). Makizadeh Tafti و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیقی اثر کودهای زیستی (ازتوباکتر و آزوسپیریوم) و کود شیمیایی نیتروژن را بر رشد گیاه شوید بررسی کردند و به این نتیجه دست یافتند که تأثیر تیمارهای مذکور بر شاخص برداشت گیاه معنی‌دار بود و بالاترین شاخص برداشت مربوط به تلفیق کود زیستی آزوسپیریوم و ازتوباکتر و ۵۰٪ کود شیمیایی اوره بود.

Salmani Biari و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقی که بر روی تأثیر کودهای زیستی ازتوباکتر و آزوسپیریوم و کود اوره بر روی گیاه گندم انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که

فصل رشد گویای آن است که ارتفاع بوته سیاهدانه در اثر تلقیح نسبت به شاهد افزایش یافته‌است. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات روی گیاه رازیانه (Azzaz et al., 2009) و نعنای فلفلی (Swaefty et al., 2007) مطابقت دارد، ولی با نتایج تحقیقات Koocheki و همکاران (۲۰۰۸) روی گیاه دارویی زوفا که نشان دادند کاربرد کودهای زیستی تأثیری بر ارتفاع بوته زوفا نداشت در تضاد است.

بنابراین به نظر می‌رسد چون نیتروژن یکی از عوامل رشد رویشی است، به همین دلیل کاربرد ازتوباکتر و آزوسپیریوم سبب می‌شود نیتروژن بهتر در اختیار گیاه قرار بگیرد و عملکرد زیستی افزایش پیدا کند. در این مورد Badran و Safwat (۲۰۰۴) در تحقیقی تأثیر باکتری‌های بهبوددهنده رشد گیاه بر عملکرد زیستی رازیانه را گزارش کردند. در آزمایشی دیگر محققان امکان استفاده از کود زیستی به جای کود شیمیایی را در گیاه رازیانه بررسی کرده و نتیجه گرفتند که عملکرد زیستی گیاه رازیانه در تیمارهای کود زیستی ازتوباکتر و باسیلوس افزایش یافت (Azzaz et al., 2009). نتیجه این آزمایش با تحقیقات Kader و همکاران (۲۰۰۲) بر روی گندم مطابقت دارد. آنان گزارش کردند که تلقیح بذر با ازتوباکتر در افزایش عملکرد زیستی این گیاه تأثیر معنی‌داری دارد.

کودهای دامی با بهبود خصوصیات فیزیکی خاک باعث رشد بهتر ریشه و به دنبال آن افزایش رشد گیاه و عملکرد زیستی می‌شوند (Saeid Nejad & Rezvani, 2010). Moghaddam در نتایج مطالعات Scheffer و همکاران (۱۹۹۳) نیز افزایش میزان بیوماس تولیدی در اثر مصرف کودهای آلی در گیاه بومادران گزارش شده‌است.

در آزمایشی که توسط Khorramdel و همکاران (۲۰۱۰) انجام گردید، مشاهده شد که اثر تلقیح سیاهدانه با کودهای زیستی بر عملکرد دانه معنی‌دار بوده‌است. از آنجا که تلقیح با کودهای زیستی به دلیل توسعه سیستم ریشه‌ای باعث بهبود دسترسی و افزایش جذب عناصر غذایی (Lakshmanam et al., 2005) و در (Kothari et al., 2005) و در

رشدی و کیفیت اسانس گیاه مریم‌گلی تحت تأثیر کود زیستی حاوی آزوسپیریلوم و ازتوباکتر افزایش یافت. براساس نتایج مطالعات Banchio و همکاران (۲۰۰۹) استفاده از باکتری آزوسپیریلوم باعث افزایش میزان اسانس گیاه دارویی ریحان شد.

باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن علاوه بر کمک به جذب نیتروژن، به جذب سایر عناصر، افزایش رشد گیاه و در نهایت افزایش کمیّت و کیفیت گیاهان کمک می‌کنند (Wu et al., 2004). پژوهشگران دیگری نیز در مورد تأثیر کود زیستی ازتوباکتر و آزوسپیریلوم بر گیاه دارویی رازیانه و سیاهدانه به نتایج مشابهی دست یافته‌اند (Badran & Safwat, 2004; Haj Seyed Hadi et al., 2012).

Ghilavizadeh و همکاران (۲۰۱۳) در تحقیقی بر روی گیاه زنیان بیان کردند که درصد و عملکرد اسانس به‌طور قابل ملاحظه‌ای تحت تأثیر کاربرد کود زیستی نیتروژنه بوده‌است. نتایج سایر پژوهشگران روی گیاه رازیانه نیز مؤید همین موضوع می‌باشد (Mahfouz & Abdou et al., 2004). در پژوهشی دیگر Salem و Awad (۲۰۰۵) بهبود عملکرد دانه، درصد اسانس و عملکرد اسانس در گیاه دارویی گشنیز در اثر مصرف ۲۰ تن کود دامی را گزارش کردند.

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که کود دامی و باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن دارای تأثیر مثبت و معنی‌داری بر ویژگی‌های رشدی، عملکرد و اسانس سیاهدانه بوده‌اند. در بیشتر صفات تلقیح توأم باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریلوم بیشترین تأثیر مثبت را بر سیاهدانه داشته‌است، همچنین در بین سطوح کود دامی نیز مصرف ۷/۵ تن در هکتار دارای بیشترین تأثیر بوده‌است. بیشترین درصد اسانس نیز در تیمار تلفیقی تلقیح بذرها با ازتوباکتر و کاربرد ۷/۵ تن کود دامی بدست آمد. بنابراین به نظر می‌رسد در سیستم‌های تولید پایدار سیاهدانه امکان حذف کودهای شیمیایی و تأمین عناصر غذایی گیاه به کمک کودهای دامی و بیولوژیک وجود دارد.

تیمارهای فوق بر شاخص برداشت اثر معنی‌داری داشته است.

به عقیده Gaur (۲۰۰۱) تلقیح بذر کلزا با ازتوباکتر سبب افزایش میزان شاخص برداشت در مقایسه با شاهد بدون تلقیح شده است. Leithy و همکاران (۲۰۰۶) گزارشی از اثر مثبت کود زیستی ازتوباکتر در افزایش میزان اسانس در گیاه رزماری ارائه کردند. به نظر می‌رسد که کاربرد کود زیستی نیتروژن در گیاه سبب بهبود وضعیت نیتروژن آن می‌شود و از آنجایی که عنصر نیتروژن در تشکیل اسانس نقش دارد، از این رو میزان اسانس نیز افزایش می‌یابد. اسانس ترکیبی ترپنوئیدی بوده و واحدهای سازنده آن (ایزوپرنوئیدها) مانند ایزوپنتیل پیروفسفات (IPP) و دی‌متیل آلیل پیروفسفات (DMAPP) نیاز مبرم به NADPH و ATP دارند، و حضور عناصری مانند نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های اخیر ضروری می‌باشد. از این رو افزایش ورمی‌کمپوست از طریق فراهمی جذب بیشتر فسفر و نیتروژن می‌تواند موجب افزایش میزان اسانس گل شود (Ghazi Manas et al., 2013). در آزمایشی امکان استفاده از کود زیستی به جای کود شیمیایی در گیاه رازیانه بررسی گردید و مشخص شد که میزان اسانس گیاه رازیانه در تیمارهای کود زیستی افزایش یافت (Azzaz et al., 2009). نتایج تحقیق Gharib و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان داد که استفاده از تثبیت‌کننده نیتروژن در گیاه دارویی مرزنجوش بوستانی سبب افزایش درصد اسانس می‌گردد.

Fallahi و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که تأثیر کودهای آلی بر درصد اسانس گیاه بابونه آلمانی معنی‌دار نبود. Tabrizi (۲۰۰۴) نیز گزارش کرد که تیمارهای مختلف کود دامی بر میزان موسیلاژ بذر اسفرزه معنی‌دار نبود. Khalid و Shafei (۲۰۰۵) در مطالعه‌ای بر روی گیاه دارویی شوید نشان دادند که مصرف ۳۰ تن کود دامی سبب بهبود و میزان اسانس شده‌است. همچنین نتایج تحقیق Yossef و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد که ویژگی‌های

سپاسگزاری

از زحمات جناب آقای دکتر حمیدرضا بهره‌ور (مدیریت شرکت کشاورزی و دامپروری ران، واقع در فیروزکوه) به‌دلیل همکاری صمیمانه در تأمین زمین و ادوات لازم برای اجرای تحقیق، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

- Bashan, Y. and Levanony H., 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Canadian Journal of Microbiology*, 36: 591-607.
- Biasi, L.A., Machado, E.M., Kowalski, A.P., Signor, D., Alves, M.A., Lima, F.I., Deschamps, C., Cocco, L.C. and Scheer, A.P., 2009. Organic fertilization in the production, yield and chemical composition of basil chemotype eugenol. *Horticultura Brasileira*, 27(1): 35-39.
- Cacciari, I., Lippi, D., Pietrosanti, T. and Pietrosanti, W., 1989. Phytohormone-like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of *Azospirillum* and *Arthrobacter*. *Plant and Soil*, 115: 151-153.
- Darzi, M.T., Ghalavand, A. and Rejali, F., 2008. Effects of mycorrhizya, vermicompost and phosphate biofertilizer on flowering, biological yield and root colonization in fennel. *Iranian Journal of Agronomy*, 10(1): 88-109.
- Darzi, M.T., Haj Seyed Hadi, M.R. and Rejali, F., 2012. Effects of the application of vermicompost and nitrogen fixing bacteria on quantity and quality of the essential oil in dill (*Anethum graveolens*). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(21): 3793-3799.
- Darzi, M.T. and Haj Seyed Hadi, M.R., 2012. Effects of organic manure and nitrogen fixing bacteria on some essential oil components of coriander (*Coriandrum sativum*). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4(12): 787-792.
- Elsen, T.V., 2000. Species diversity as a task for organic agriculture in Europe. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 77: 101-109.
- Fallahi, J., Koocheki, A. and Rezvani Moghaddam, P., 2008. Effects of organic fertilizers on quantitative indices and chamazulen in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Journal of Agricultural Research: Water, Soil and Plant in Agriculture*, 8(1): 157-168.
- Gaur, A.C., 2001. Effects of Azotobacterization in presence of fertilizer nitrogen in the yield of canola (*Brassica napus* L.): Field experiment. *Indian Society of Soil Science*, 41: 50-54.
- Gharib, F.A., Moussa, L.A. and Massoud, O.N., 2008. Effect of compost and bio-fertilizer on growth, yield and essential oil of sweet majoram (*Majorana hortensis*) plant. *International Journal of Agriculture and Biology*, 10(4): 381-387.
- Ghazi Manas, M., Banj Shafiee, S., Haj Seyed Hadi, M.R. and Darzi, M.T., 2013. Effects of vermicompost and nitrogen on quantitative and qualitative yeild of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 29(2): 269-280.
- 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.
- Ahmadian, A., Ghanbari, A. and Galavi, M., 2006. Effects of manure application on quantitative and qualitative yield and chemical indices of essence of cumin. *Iranian Journal of Field Crop Research*, 4(2): 207-206.
- Ateia, E.M., Osman, Y.A.H. and Meawad, A.E.A.H., 2009. Effect of organic fertilization on yield and active constituents of *Thymus vulgaris* L. under North Sinai conditions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5(4): 555-565.
- Azzaz, N.N., Hassan, E. and Hamad, E.H., 2009. The chemical constituent and vegetative and yielding characteristics of fennel plants treated with organic and bio-fertilizer instead of mineral fertilizer. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(2): 579-587.
- Badran, F.S. and Safwat, M.S., 2004. Response of fennel plants to organic manure and bio-fertilizers in replacement of chemical fertilization. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 82(2): 247-256.
- Banchio, E., Xie, X., Zhang, H. and Pare, P.W., 2009. Soil bacteria elevate essential oil accumulation and emissions in sweet basil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2): 653-657.
- Bannayan, M., Nadjafi, F., Azizi, M., Tabrizia, L. and Rastgoo, M., 2008. Yield and seed quality of *Plantago ovate* and *Nigella sativa* under different irrigation treatments. *Industrial Crops and Products*, 27(1):11-16.
- Bashan, Y. and Holguin, G., 1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Canadian Journal of Microbiology*, 43: 103-121.

- Kothari, S.K., Marschner, H. and Romheld, V., 2005. Contribution of the VA mycorrhizal hyphae in acquisition of Phosphorus and Zinc by maize grown in a calcareous soil. *Plant and Soil*, 131(2): 177-185.
- Lakshmanam, A., Govindarajan, K. and Kumar, K., 2005. Effect of seed treatment with native diazotrophs on the seedling parameters of Senna and Ashwagandha. *Crop Research (Hisar)*, 30(1): 119-123.
- Leithy, S., El-Meseiry, T.A. and Abdellah, E.F., 2006. Effect of biofertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on Rosemary herbage oil yield and quality. *Journal of Applied Science Research*, 2(10): 773-779.
- Mahfouz, S.A. and Sharaf-Eldin, M.A., 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysics*, 21(4): 361-366.
- Makizadeh Tafti, M., Chaei Chi, M.R., Nasrohahzadeh, S. and Khavazi, K., 2011. Evaluation of bio and chemical fertilizer effects on growth, yield and essential oil composition of dill. *Journal of Agriculture and Sustainable Production*, 21(4): 52-62.
- Manaffee, W.F. and Kloepper, J.W., 1994. Application of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture: 23-31. Paankburst, C.E., (Eds.). *Soil Biota: Management in Sustainable Farming Systems*. CSIRO Publication, 262p.
- Martinez Toledo, M.V., Moreno, J., De la Rubia, T. and Gonzalez-Lopez, J., 1989. Root exudates of *Zea mays* and production of auxins, gibberellins and cytokinins by *Azotobacter chroococcum*. *Plant and Soil* 110: 149-152.
- Migahed, H.A., Ahmed, A.E. and Abdel Ghany, B.F., 2004. Effect of different bacterial strains as biofertilizer agents on growth, production and oil of *Apium graveolens* under calcareous soil. *Arab Universities Journal of Agricultural Science*, 12(2): 511-525.
- Moradi, R., Nasiri Mahallati, M., Rezvani Moghaddam, P., Lakzian, A. and Nejad Ali, A., 2011. The effect of application of organic and biological fertilizers on quantity and quality of essential oil in fennel (*Foeniculum vulgare*). *Journal of Horticultural Science*, 25(1): 25-33.
- Nadjafi, F., 2006. Evaluation of ecological criteria of *Nepeta binaludensis* for adaptation under low inputs agroecosystems. Ph.D. Thesis in Crop Ecology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
- Omid, H., Naghdibadi, H.A., Golzad, A., Torabi, H. and Fotookian, M.H., 2009. Effects of chemical and
- Ghilavizadeh, A., Darzi, M.T. and Haj Seyed Hadi, M.R., 2013. Effects of biofertilizer and plant density on essential oil content and yield traits of Ajowan (*Carum copticum*). *Middle-East Journal of Scientific Research*, 14(11): 1508-1512.
- Haj Seyed Hadi, M.R., Darzi, M.T. and Ghandehari, Z., 2012. Effects of irrigation treatment and *Azospirillum* inoculation on yield and yield component of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(30): 4553-4561.
- Hosseinpour, M., Pirzad, A., Habibi, H. and Fotookian, M.H., 2011. Effects of nitrogen biofertilizer (*Azotobacter*) and plant density on yield and essential oil of anise. *Journal of Agriculture and Sustainable Production*, 21(2): 69-86.
- Ishizuka, J., 1992. Trends in biological nitrogen fixation research and application. *Plant and Soil*, 11: 197-209.
- Kader, M.A., Mian, M.H. and Hoque, M.S., 2002. Effects of azotobacter inoculant on the yield nitrotions uptake by wheat. *Journal of Biological Science*, 2(4): 250-261.
- Kaplan, M., Kocabas, I., Sonmez, I. and Kalkan, H., 2009. The effects of different organic manure applications on the dry weight and the essential oil quantity of sage (*Salvia fruticosa* Mill.). *Acta Horticulturae*, 826: 147-152.
- Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K.G., 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in (*Foeniculum vulgar* Mill.) on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technology*, 93: 307-311.
- Khalid, K.A. and Shafei, A.M., 2005. Productivity of dill (*Anethum graveolens* L.) as influenced by different organic manure rates and sources. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 13(3): 901-913.
- Khorramdel, S., Koocheki, A., Nasiri Mahallati, M. and Ghorbani, R., 2010. Effects of biofertilizers on growth indices of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Iranian Journal of Field Crop Research*, 8(5): 768-776.
- Koocheki, A., Tabrizi, L. and Ghorbani, R., 2008. Evaluation of biofertilizers effects on growth characteristics, yield and qualitative characteristics of hyssop. *Iranian Journal of Field Crop Research*, 6(1): 127-137.
- Koocheki, A., Tabrizi, L. and Ghorbani, R., 2009. Effect of biofertilizers on agronomic and quality criteria of Hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Iranian Journal of Agronomy Research*, 6(1): 127-137.

- Cattle manure and biofertilizer on the cultivation of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 11(4): 355-359.
- SAS, Inc., 2001. SAS Procedure guide. SAS Institute, Cary, NC.
 - Scheffer, M.C., Ronzelli Junior, P. and Koehler, H.S., 1993. Influence of organic fertilization on the biomass, yield and composition of the essential oil of *Achillea millefolium* L. *Acta Horticulturae*, 331: 109-114.
 - 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.
 - Shabahang, J., Khorramdel, S., Siahmorgoei, A., Ghesm, R. and Jafari, L., 2014. Integrated application of manure and mycorrhiza inoculation on growth characteristics, quantitative yield and essential oil of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) under Mashhad conditions. *Journal of Agroecology*, 6(2): 353-363.
 - Swaefy, M.F., Weam, R.A., Sabh, A.Z. and Ragab, A.A., 2007. Effect of some chemical and biofertilizers on peppermint plants grown in sandy soil. *Agricultural Science*, 52(2):451- 463.
 - Tabrizi, L., 2004. Effects of water stress and manure on quantitative and qualitative characteristics of *Plantago ovate* and *Plantago psyllium*. M.Sc. Thesis, Department of Agronomy, University of Mashhad, Iran.
 - Tavakoli Saberi, M.R. and Sedaghat M.R., 2005. *Medicinal Plants*. Roozbahan Press, Tehran, 264p.
 - Valadabadi, S.A. and Farahani, H.A., 2011. Investigation of biofertilizers influence on quantity and quality characteristics in *Nigella sativa* L. *Journal of Horticulture and Forestry*, 3(3): 88-92.
 - Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C. and Wong, M.H., 2004. Effect of biofertilizer containing N- fixer, and K Solubilizers and AM fungi on maize growth. *Geoderma*, 125: 155-166.
 - Yossef, A.A., Edris, A.E. and Gomaa, A.M., 2004. A comparative between some plan growth regulators and certain growth hormone, producing microorganisms on growth and essential oil composition of *Salvia officinalis* L. plant. *Annals of Agricultural Science Cairo*, 49(1): 229-311.
 - biological nitrogen fertilizers on quantitative and qualitative yield of saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Medicinal Plants*, 9(30): 98-109.
 - Osman, Y.A.H., 2009. Comparative study of some agricultural treatments effects on plant growth, yield and chemical constituents of some fennel varieties under Sinai conditions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5(4): 541-554.
 - Rajabi Kaboodcheshmeh, O., Ghorbani, S., Sam Daliri, M. and Sadeghi Shoja, M., 2013. Effect of application of biological fertilizers on essence and oil content of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Journal of Agronomy and Plant Breeding*, 9(2): 15-23.
 - Rezvani Moghaddam, P., Seyedi S.M. and Azad, M., 2014. Effects of organic, chemical and biological sources of nitrogen on nitrogen use efficiency in black seed (*Nigella sativa* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(2): 260-274.
 - Saeid Nejad, A.H. and Rezvani Moghaddam, P., 2010. Evaluation of biofertilizer and chemical fertilizer application on morphological traits, yield, yield components and essential oil percent in cumin (*Cuminum cyminum*). *Journal of Horticultural Science*, 24(1): 38-44.
 - Said-Al Ahl, H.A.H., Omer, E.A. and Naguib, N.Y., 2009. Effect of water stress and fertilizer on herb and essential oil of oregano. *International Journal of Agrophysics*, 23: 269-275.
 - Salehi, A., Fallah, S., Irani Pour, R. and Abbasi Souraki, A., 2014. Effects of time of chemical fertilizer application integrated with manure on growth, yield and yield components on black cumin (*Nigella sativa* L.). *Journal of Agroecology*, 6(3): 495-507.
 - Salem, A.G. and Awad, A.M., 2005. Response of coriander plants to organic and mineral fertilizers fertigated in sandy soils. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 83(2): 829-858.
 - Salmani Biari, A., Taheri, G., Ajam Norouzi, H., Safarzadeh, H. and Rayej, H., 2010. Study the effects of nitroxin and urea fertilizers on yield and yield components of wheat. 5th National congress of New Ideas in Agriculture, Iran, 16-17 February.
 - Santos, M.F., Mendonca, M.C., Carvalho Filho, J.L.S., Dantas, I.B., Silva-Mann, R. and Blank, A.F., 2009.

Effects of nitrogen fixing bacteria and manure application on seed yield and essential oil content of black cumin (*Nigella sativa* L.)

F. Ghanepasand¹ and M.R. Haj Seyed Hadi^{2*}

1- MSc. of Agronomy, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Roudehen Branch, Roudehen, Iran

2*- Corresponding author, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Ropudehen Branch, Roudehen, Iran, E-mail: mrhshadi@yahoo.com

April: February 2015

Revised: January 2016

Accepted: February 2016

Abstract

In order to assess the effects of nitrogen fixing bacteria and manure application on yield and essential oil of black cumin (*Nigella sativa* L.), an experiment was carried out at the RAN Research Station in Firouzkouh in 2012. The study was conducted in a 4×4 factorial experiment, arranged in a randomized complete blocks design with three replications. The treatments consisted of 4 levels of manure (0, 2.5, 5 and 7.5 ton ha⁻¹) and 4 levels of fixing bacteria (Control, *Azotobacter*, *Azospirillum* and *Azotobacter* + *Azospirillum*). The present results showed that the highest height (48.7 cm), essential oil percentage (0.14 %) and essential oil yield (768.31 g ha⁻¹) were obtained after using 7.5 ton manure ha⁻¹. While, the highest biological yield (1829.16 kg ha⁻¹) and seed yield (556.22 kg ha⁻¹) were obtained by 5 ton manure ha⁻¹. Results of this investigation showed that the maximum plant height (49.61 cm), seed yield (553.41 kg ha⁻¹), harvest index (37.71 %), biological yield (1697.21 kg ha⁻¹) and essential oil yield (664.09 g ha⁻¹) were obtained when *Aotobacter*+*Azospirillum* was inoculated with black cumin seeds simultaneously. Combined application of nitrogen fixing bacteria and manure could be helpful in developing of production and yield in *Nigella sativa* L.

Keywords: Black cumin (*Nigella sativa* L.), *Azotobacter*, *Azospirillum*, yield, essential oil.