

بررسی برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch. & Mey.) تحت تأثیر تراکم گیاهی و کودهای آلی و شیمیایی مختلف

محمد بهزاد امیری^{۱*}، پرویز رضوانی مقدم^۲، محسن جهان^۳، میلاد صالح آبادی^۴ و نگار ناصری^۴

* نویسنده مسئول، استادیار، مجتمع آموزش عالی گناباد، مهندسی تولیدات گیاهی مجتمع آموزش عالی گناباد، خراسان رضوی، ایران

پست الکترونیک: m.b2.amiri@gmail.com

۲- استاد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۳- دانشیار، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۴- دانشجوی کارشناسی مهندسی تولیدات گیاهی، مجتمع آموزش عالی گناباد، خراسان رضوی، ایران

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۶

تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۵

چکیده

به منظور بررسی اثر تراکم بوته و مقایسه نهاده‌های اکولوژیک و شیمیایی بر برخی خصوصیات کیفی گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch. & Mey.) آزمایشی در دو سال زراعی متوالی ۹۱-۱۳۹۰ و ۹۲-۱۳۹۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. کرت‌های اصلی و فرعی به ترتیب شامل ۳ تراکم کاشت (۱۰، ۵ و ۳ بوته در مترمربع) و سه نوع کود آلی و یک نوع کود شیمیایی (کمپوست، ورمی‌کمپوست، کود گاوی، کود شیمیایی نیتروژن و شاهد) بودند. نتایج آزمایش نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تراکم ۱۰ بوته در مترمربع (۷۹ میلی‌لیتر) و بیشترین میزان فنول کل در تراکم ۵ بوته در مترمربع (۵۱ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک گل) مشاهده شد. کودهای کمپوست، ورمی‌کمپوست، گاوی و شیمیایی در تراکم ۱۰ بوته در مترمربع، میزان فنول کل را به ترتیب ۵۱، ۳۵، ۴۰ و ۶۳ درصد در مقایسه با شاهد افزایش دادند. کاربرد کودهای کمپوست و ورمی‌کمپوست در تراکم ۳ بوته در مترمربع به ترتیب منجر به افزایش ۳۹ و ۳۸ درصدی میزان فلاونوئید کل نسبت به شاهد شد. بیشترین میزان آنتوسیانین کل در تراکم ۵ بوته در مترمربع حاصل شد. کودهای ورمی‌کمپوست و گاوی به ترتیب افزایش ۱۰ و ۱۳ درصدی روغن دانه و افزایش ۳۴ و ۱۳ درصدی پروتئین دانه را در مقایسه با شاهد سبب شدند. به طور کلی با توجه به یافته‌های این پژوهش، به نظر می‌رسد با استفاده از نهاده‌های بوم‌سازگار و تعیین تراکم مطلوب گاوزبان ایرانی، می‌توان ضمن بهبود کیفیت و سلامت محصول، خسارتهای ناشی از نهاده‌های شیمیایی را به حداقل رساند.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین کل، روغن دانه، سلامت محصول، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نهاده اکولوژیک، ورمی‌کمپوست.

مقدمه

و سرشاخه‌های گاوزبان ایرانی برای تصفیه خون، نرم‌کنندگی سینه، تقویت قلب، مدر، معرق و آرام‌بخش استفاده می‌گردد (Samsam Shariat, 2010؛ Mojab et al., 2008). گاوزبان ایرانی در درمان التهاب و آماس، سرفه و سایر مشکلات تنفسی مؤثر است (Kiani, 2005). تحقیقات اخیر در مورد خواص درمانی گاوزبان ایرانی نشان داده است که این گیاه باعث افزایش توان سیستم ایمنی بدن می‌شود و به دلیل وجود موادی مثل پیرولیزیدین، آلکالوئیدها، کینون و کینوفوران دارای اثرات ضد میکروبی و ضد عفونی‌کننده است (Mehrabani, 2005).

در دهه‌های اخیر، تولید در کشاورزی متکی به مصرف نهاده‌های شیمیایی به منظور کسب عملکرد بالا بوده که علاوه بر ایجاد مشکلات عمده و آلودگی محیط زیست، این مواد مانع بزرگی در دستیابی به تولید پایدار می‌باشند. از دیدگاه کشاورزی پایدار، خاک نه تنها یک بستر فیزیکی و شیمیایی به شمار می‌رود، بلکه همانند یک پیکره زنده است که با مدیریت موجودات زنده آن، می‌توان تنوع زیستی آن را حفظ کرده و افزایش داد. به همین منظور برای برخورداری از یک سیستم کشاورزی پایدار، استفاده از نهاده‌هایی که علاوه بر تأمین نیازهای گیاه و کاهش مخاطرات زیست محیطی، جنبه‌های اکولوژیکی سیستم را بهبود بخشند، ضروری به نظر می‌رسد (Kizilkaya, 2008). در منابع متعدد به اثر مثبت کودهای آلی بر گسترش و ترکیب جوامع میکروبی، فون و فلور خاک و نیز تشدید فرایندهای متابولیکی در داخل خاک، ریشه و شاخ و برگ گیاهان تأکید شده است (Vessey, 2003؛ Rai, 2006). Anwar و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که مصرف ۵ تن ورمی‌کمپوست در هکتار، سبب بهبود معنی‌دار مقدار اسانس و کیفیت آن در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) شد، به نحوی که میزان لینالول و متیل کایوکول موجود در اسانس بیشتر از تیمار شاهد بود. Harshavardhan و همکاران (۲۰۰۷) در بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) گزارش کردند که به ترتیب کاربرد ۲۲/۵، ۴۵ و ۲۲/۵ کیلوگرم در هکتار نیتروژن، فسفر و

در عصر حاضر با وجود پیشرفت و توسعه چشمگیر کاربرد داروهای شیمیایی، هنوز گیاهان دارویی و انواع داروهای حاصل از آنها در مقیاس وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند، به طوری که در برخی کشورها از اجزاء جدایی‌ناپذیر سیستم دارویی و درمانی محسوب می‌شوند (Ghasemi, 2009). بنابراین به نظر می‌رسد که مردم جهان از یکسری نارسایی‌های طب مدرن خسته شده‌اند و به طور روزافزون به سمت داروهای گیاهی گرایش پیدا می‌کنند. با توجه به سهم گیاهان دارویی در تولید داروهای مصرفی، محال است روزی بتوان همه مواد دارویی را از صنعت گرفت و از نقش و اهمیت مواد طبیعی در تهیه این داروها چشم‌پوشی کرد (Fakhr Tabatabayee, 1993).

گیاهان دارویی با دارا بودن یک یا چند ماده مؤثره (Active substance) می‌توانند از ایجاد برخی بیماری‌ها جلوگیری کرده و سبب درمان و یا تخفیف عوارض آن شوند. ترکیب‌های ثانویه موجود در گیاهان، ترکیب‌هایی هستند که نقش چندانی در فرایندهای اصلی گیاه، مانند فتوسنتز و تنفس ندارند. اغلب این متابولیت‌ها در برخی از اندام‌ها و بافت‌های گیاهی سنتز، ذخیره و در نهایت ترشح می‌شوند. Ghenaat (۲۰۰۶) طی یک پژوهش در گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch. & Mey.)، ۲۸ ترکیب ثانویه را جداسازی و شناسایی کرد که مهمترین آنها اسپاتولتول، آلفا-پینن و دی جرماکرین بودند. گاوزبان ایرانی حاوی تانن، لعاب، ساپونین و مواد معدنی مفید است (Kiani, 2005). این گیاه دارای ۳٪ تا ۵٪ موسیلاژ، ۱۵٪ فلاونوئید و ۱۳/۴۳٪ آنتوسیانین به همراه آگلیکون دلفینیدین و سیانیدین است و به مقدار ناچیز آلکالوئید دارد (Massoud Hamidi et al., 2011). از دیگر ترکیب‌های ثانویه این گیاه می‌توان به ۱/۹۶٪ فنول آن اشاره کرد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گل‌های گاوزبان ایرانی قابل توجه بوده و گل‌ها از میزان مطلوبی فنول، فلاونوئید و آنتوسیانین برخوردار هستند (Naderi Haji Bagherkandi & Rezaee, 2004). در طب سنتی مواد مؤثره موجود در گل‌ها

مطالعه و گزارش شد که با افزایش تراکم، تعداد چتر در بوته، وزن هزاردانه و وزن خشک بوته با کاهش مواجه شد (Akhami et al., 2012). در آزمایشی دیگر، پس از بررسی اثر تراکم‌های مختلف گیاهی بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.) گزارش شد که با افزایش فاصله بین ردیف‌های کاشت از ۵۰ به ۱۰۰ سانتی‌متر، عملکرد گل افزایش یافت (Mir et al., 2011).

با توجه به کاربرد وسیع نهاده‌های دخیل در امر تولید برای دستیابی به عملکرد بالا از یک طرف و لزوم عاری بودن گیاهان دارویی از بقایای شیمیایی از طرف دیگر و همچنین نظر به اهمیت گاوزبان ایرانی به‌عنوان یکی از مهمترین محصولات دارویی و ضرورت تعیین تراکم مطلوب این گیاه ارزشمند، این پژوهش با هدف بررسی برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گاوزبان ایرانی تحت تأثیر تراکم‌های گیاهی و کودهای آلی و شیمیایی مختلف در شرایط آب و هوایی مشهد انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دو سال زراعی متوالی ۹۱-۱۳۹۰ و ۹۲-۱۳۹۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد با طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۳۸ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۶ دقیقه شمالی و ارتفاع ۹۸۵ متر از سطح دریا در زمینی به مساحت حدود ۸۰۰ مترمربع اجرا شد. براساس مطالعات Ashraf و همکاران (۲۰۱۴) با توجه به شاخص UNEP (United Nations Environment Program) در یک دوره ۴۸ ساله آمار هواشناسی، منطقه مشهد با میانگین بارندگی سالیانه ۲۵۳ میلی‌متر، دارای رژیم آب و هوایی نیمه‌خشک و متوسط درجه حرارت سالیانه آن ۱۴ درجه سانتی‌گراد است (جدول ۱). روند تغییرات میانگین ماهانه درجه حرارت و بارندگی به تفکیک سال‌ها و ماه‌های تحقیق با اقتباس از داده‌های ثبت‌شده از ایستگاه‌های هواشناسی مشهد در جدول ۲ نشان داده شده است.

پتاسیم به همراه ۹ تن در هکتار کود آلی منجر به تولید بیشترین میزان اسانس گیاه شد. Stolcova و Vildova (۲۰۰۶) گزارش کردند که عملکرد بابونه آلمانی (*Matricaria chammomilla*) در کشت ارگانیک در مقایسه با کشت رایج کمتر بود، ولی بالاترین مقدار اسانس و همچنین بیشترین مقدار ترکیب‌های ضروری (کامازولن، آلفا-بیسابولول و بیسابولول اکسید A) و فلاونوئید از کشت ارگانیک بابونه حاصل شد. در یک پژوهش گزارش شد که عملکرد اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در کشت ارگانیک ۸۴٪ بیشتر از کشت رایج بود (Kalra, 2003).

اگرچه عوامل محیطی تأثیر به‌سزایی بر کمیت و کیفیت محصول بدست آمده از گیاهان دارویی دارد، با این حال کنترل کامل این عوامل امکان‌پذیر نیست، ولی می‌توان با استفاده از روش‌هایی اثرات محیطی را به‌شکلی مدیریت کرد که گیاه تحت هر شرایطی حداکثر توانایی خود را بروز دهد. ازجمله مهمترین این تکنیک‌ها، انتخاب تراکم گیاهی مطلوب برای کشت و کار گیاه است که به‌عنوان یک عامل زراعی تحت کنترل، نقش مؤثری در عملکرد محصولات مختلف ایفاء می‌کند و مشخص کردن تراکم گیاهی از اصول اولیه زراعت هر محصول و ازجمله مهمترین عوامل تأثیرگذار بر تولید گیاهان دارویی به‌شمار می‌رود (Ibrahim, 2012). تراکم بوته مطلوب، تراکمی است که در نتیجه آن کلیه عوامل محیطی به‌طور مؤثر مورد استفاده گیاه قرار گرفته و در عین حال رقابت‌های درون بوته‌ای و بین بوته‌ای در حداقل باشند تا حداکثر عملکرد ممکن با کیفیت مطلوب بدست آید (Caliskan et al., 2009). در پژوهشی اثر تراکم بوته بر میزان اسانس آنیسون (*Pimpinella anisum* L.) بررسی و گزارش شد که تراکم ۲۵ بوته در مترمربع دارای بیشترین میزان اسانس نسبت به سایر تیمارها بود (Hosseinpour et al., 2011). در یک بررسی، اثر تراکم‌های مختلف (۱۲/۵، ۱۶/۶ و ۲۵ بوته در مترمربع) بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.)

جدول ۱- میانگین سالانه متغیرهای آب و هوایی مشهد

میانگین دمای حداقل (درجه سانتی گراد)	میانگین دمای حداکثر (درجه سانتی گراد)	کل بارندگی (میلی متر)
۷/۰۳	۲۱/۱۸	۲۵۳/۹۵

جدول ۲- میانگین ماهیانه دما و بارندگی مشهد در سال‌های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲

سال	ماه‌های سال	فروردین	اردیبهشت	خرداد	تیر	مرداد	شهریور	مهر	اسفند
۱۳۹۱	میانگین دما (درجه سانتی گراد)	۱۶/۲	۱۸/۶	۲۵/۲	۲۸/۵	۲۷/۶	۲۳/۱	۱۷/۷	۹/۳
	بارندگی (میلی متر)	۱۸	۵۲/۷	۸/۸	۱/۶	۰	۰	۱/۳	۶۵/۲
۱۳۹۲	میانگین دما (درجه سانتی گراد)	۱۳/۶	۱۸/۶	۲۵/۰	۲۷/۸	۲۷/۴	۲۴/۹	۱۹/۲	۷/۸
	بارندگی (میلی متر)	۱۸/۶	۲۳/۵	۱۴/۹	۰	۲/۴	۰	۱۱/۴	۳۷/۳

ورمی کمپوست، کود گاوی، کود شیمیایی نیتروژن و شاهد) به‌عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شد. قبل از انجام آزمایش، از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک نمونه‌گیری انجام و به‌منظور تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه ارسال شد (جدول ۳).

این پژوهش به‌صورت اسپلیت پلات در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. کرت‌های اصلی شامل ۳ تراکم کاشت (۱۰، ۵ و ۳ بوته در مترمربع) (به‌ترتیب با فواصل کاشت ۲۰، ۴۰ و ۶۰ سانتی‌متر روی ردیف) بود و ۳ نوع کود آلی و یک نوع کود شیمیایی (کمپوست،

جدول ۳- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

pH	EC (dSm ⁻¹)	نیتروژن			بافت خاک
		پتاسیم	فسفر	(mgkg ⁻¹)	
۷/۳	۱/۱	۴۱۷	۱۳/۴	۱۵/۷	لومی-سیلت

تقویت رشد دوباره گیاه و ایجاد شرایط مساعد برای رشد گیاه در سال‌های بعد، همین میزان کود به خاک کرت‌های مربوطه اضافه شد. براساس منابع موجود (Najafpoor, 2002)، نیاز کودی گاووزبان ایرانی برای نیتروژن از منبع شیمیایی (کود اوره)، ۹۰ کیلوگرم در هکتار تعیین شد که نیمی از این مقدار در زمان کاشت و نیم دیگر آن بعد از انجام عملیات تنک به خاک مزرعه اضافه گردید، ضمن اینکه در دومین سال زراعی (۹۲-۱۳۹۱) نیز همین میزان کود شیمیایی طی دو مرحله (آغاز رشد دوباره گیاه در سال دوم و سوم و مرحله چهار برگی) در اختیار گیاه قرار گرفت.

برای اعمال کودهای آلی، میزان عناصر غذایی هر یک از کودهای کمپوست، ورمی کمپوست و گاوی تعیین (نتایج تجزیه کودهای آلی مورد استفاده در آزمایش در جدول ۴ آورده شده است) و بعد بر حسب نیاز غذایی گاووزبان ایرانی و بر حسب درصد نیتروژن موجود در خاک و کودهای آلی به‌ترتیب بر مبنای ۱۰ تن در هکتار کود کمپوست، ۷ تن در هکتار کود ورمی کمپوست و ۳۰ تن در هکتار کود گاوی، در اسفندماه ۱۳۹۰ در سطح کرت‌های مورد نظر به‌طور یکنواخت پخش و بلافاصله توسط بیل دستی وارد خاک شدند. لازم به ذکر است که در اسفندماه ۱۳۹۱ نیز به‌منظور

جدول ۴- نتایج تجزیه شیمیایی کودهای آلی مورد استفاده در آزمایش

نوع کود آلی	نیترژن (%)	فسفر (%)	پتاسیم (%)
کمپوست	۰/۶۴	۰/۴۴	۰/۴۹
ورمی کمپوست	۰/۸۹	۱/۵۳	۰/۹۶
کود گاوی	۰/۲۱	۰/۲۹	۱/۰۴

برای آماده‌سازی زمین با تأکید بر عملیات زراعی اکولوژیک، خاک‌ورزی حداقل انجام شد، به این ترتیب که پس از انجام دیسک سبک، کرت‌های آزمایشی با ابعاد ۴/۸۰×۲/۵۰ متر ایجاد شدند. به دلیل کودی بودن ماهیت تیمارها و جلوگیری از اختلاط تیمارها با هم، برای هر بلوک آزمایشی یک لوله آبیاری جداگانه در نظر گرفته شد. بذره‌های گاوزبان ایرانی با منشأ توده مشهد از مزرعه تحقیقاتی گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه و اواسط فروردین ماه ۱۳۹۱ در ردیف‌هایی به فاصله ۵۰ سانتی‌متر و با توجه به تیمار مورد بررسی با فاصله روی ردیف ۲۰، ۴۰ و ۶۰ سانتی‌متر از یکدیگر کشت شدند. اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت و آبیاری‌های بعدی به فاصله هر ۷ روز یک‌بار تا آخر فصل رشد به روش کرتی انجام شد. برای رسیدن به تراکم مناسب، پس از رسیدن گیاه به مرحله ۴ برگی عملیات تنک انجام گردید. به منظور کنترل علف‌های هرز، تنها سه نوبت وجین‌دستی در سال اول (به ترتیب ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز پس از کاشت) و یک نوبت وجین‌دستی در سال دوم (۳۰ روز پس از رشد مجدد گیاه در سال دوم) انجام شد. مهمترین علف‌های هرز موجود در مزرعه، سلمه‌تره (*Chenopodium album*)، پیچک (*Convolvulus arvensis*)، خاکشیر شیرین (*Descurainia sophia*) و خاکشیر تلخ (*Sisymbrium officinale*) بودند. در زمان آماده‌سازی زمین و در طول دوره رشد، هیچ‌گونه علف‌کش، آفت‌کش و قارچ‌کش شیمیایی استفاده نشد.

در سال زراعی دوم (۹۲-۱۳۹۱)، از ابتدا تا انتهای فصل گلدهی، گل‌های تمام سطح کرت‌های آزمایشی به صورت روزانه برداشت شدند. به منظور حفظ کمیّت و کیفیت مواد

مؤثره گیاه، نمونه‌های گل در سایه و در درجه حرارت محیط خشک شدند و بعد برای تعیین ترکیب‌های ثانویه و مواد مؤثره گل‌ها، از هر یک از تیمارهای آزمایشی مقدار ۵۰ گرم گل خشک شده به آزمایشگاه منتقل و توسط دستگاه سوکسله عصاره‌گیری و در نهایت میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، درصد فنول کل، درصد فلاونوئید کل و میزان آنتوسیانین کل آن تعیین شد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش به دام‌اندازی رادیکال دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) (Diphenyl Picrylhydrazyl) تعیین شد (Shimada *et al.*, 1992). به منظور تعیین محتوای ترکیب‌های فنولی از روش فولین سیوکوکالتی و (Folin-Ciocalteu) استفاده شد (Ordone, 2008). محتوای فلاونوئید کل با استفاده از روش رنگ‌سنجی تعیین گردید (Chang, 2002). روش اختلاف pH (pH Different Method) برای تعیین میزان آنتوسیانین کل مورد استفاده قرار گرفت (Muanda *et al.*, 2011).

در اواخر فصل رشد، با آغاز مرحله رسیدگی دانه‌ها و خشک شدن اندام هوایی گیاه، مقداری از بذره‌های هر کرت آزمایشی برای تعیین درصد روغن و پروتئین دانه به آزمایشگاه ارسال شد. روغن دانه با استفاده از روش استخراج گرم AOAC Official Method 972.28 (41.1.22) و پروتئین دانه به روش AOAC Official Method 968.06 (4.2.04) براساس تعیین نیترژن به روش کج‌دال و با استفاده از دستگاه Semi-Automated Distillation Unit انجام شد (Hiltbrunner *et al.*, 2007).

تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها (ANOVA) و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزارهای MS, Ver. 9.1 SAS, Excel Ver. 11 و Slide Write Ver. 2 انجام و مقایسه

ورمی کمپوست، گاوی و شیمیایی در تراکم ۱۰ بوته در مترمربع میزان فنول کل را به ترتیب ۵۱، ۳۵، ۴۰ و ۶۳ درصد در مقایسه با شاهد افزایش دادند، ضمن اینکه کود شیمیایی در تراکم ۵ بوته در مترمربع نیز میزان فنول کل را از افزایشی ۲۰ درصدی نسبت به شاهد برخوردار کرد (جدول ۷).

میزان فلاونوئید کل و آنتوسیانین کل

میزان فلاونوئید کل و آنتوسیانین کل به طور معنی داری تحت تأثیر تراکم گیاهی قرار گرفت (جدول ۵) و بیشترین میزان فلاونوئید کل (۴۴۰ میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک گل) و آنتوسیانین کل (میلی گرم در گرم وزن خشک گل) به ترتیب در تراکم های ۳ و ۵ بوته در مترمربع حاصل شد (جدول ۶). اثر کودهای آلی مختلف بر میزان فلاونوئید کل و آنتوسیانین کل معنی دار بود، به طوری که تمامی کودهای آلی مورد مطالعه، بهبود صفات مذکور را در پی داشتند، به این ترتیب که کودهای کمپوست، ورمی کمپوست و گاوی میزان فلاونوئید کل را به ترتیب ۱۵، ۱۳ و ۱۸ درصد و میزان آنتوسیانین کل را به ترتیب ۱۹، ۲۲ و ۱۷ درصد در مقایسه با شاهد بهبود بخشیدند (جدول ۶).

نتایج اثرات متقابل تراکم گیاهی و کودهای آلی و شیمیایی مختلف نشان داد که کود گاوی در تراکم های ۳ و ۱۰ بوته در مترمربع در بهبود میزان فلاونوئید کل مؤثر واقع شد، به طوری که فلاونوئید کل را در هر یک از تراکم های ۳ و ۱۰ بوته در مترمربع به ترتیب ۳۴ و ۱۳ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول ۷). کاربرد کودهای کمپوست و ورمی کمپوست نیز در تراکم ۳ بوته در مترمربع به ترتیب منجر به افزایش ۳۹ و ۳۸ درصدی میزان فلاونوئید کل نسبت به شاهد شد (جدول ۷). افزایش و یا کاهش بیش از حد تراکم گیاهی (در تراکم های ۳ و ۱۰ بوته در مترمربع) از نظر میزان آنتوسیانین کل دارای اثر منفی بر کارایی کودهای آلی بود، ولی در تراکم متوسط گیاهی (۵ بوته در مترمربع) استفاده از کودهای کمپوست، ورمی کمپوست و گاوی میزان آنتوسیانین کل را به ترتیب ۴۲، ۴۱ و ۳۶ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داد (جدول ۷).

میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن و در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج

میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و فنول کل

تراکم گیاهی به طور معنی داری بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و فنول کل تأثیر داشت (جدول ۵)، به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در تراکم ۱۰ بوته در مترمربع (۷۹ میلی گرم در میلی لیتر) و بیشترین میزان فنول کل در تراکم ۵ بوته در مترمربع (۵۱ میلی گرم اسیدگالیک در گرم وزن خشک گل) مشاهده شد (جدول ۶).

اثر کودهای آلی و شیمیایی مختلف بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و فنول کل معنی دار بود (جدول ۵) و تمامی کودهای آلی و شیمیایی مورد مطالعه منجر به افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی نسبت به شاهد شدند، به طوری که میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در کودهای کمپوست، ورمی کمپوست، گاوی و شیمیایی به ترتیب ۱۴، ۵، ۱۰ و ۵ درصد در مقایسه با شاهد بیشتر بود (جدول ۶).

از نظر میزان فنول کل، به جز کود شیمیایی که افزایش ۲۰ درصدی فنول کل را نسبت به شاهد سبب شد، سایر کودهای مورد مطالعه نتوانستند از این نظر تفاوت معنی داری با شاهد ایجاد کنند (جدول ۶).

در بررسی اثرات متقابل تراکم گیاهی و کودهای آلی و شیمیایی مختلف مشاهده شد که اثر کودهای آلی بر فعالیت آنتی اکسیدانی در تراکم های گیاهی مختلف متفاوت بود، به این ترتیب که هر یک از کودهای کمپوست، ورمی کمپوست و گاوی به ترتیب در تراکم های ۱۰، ۵ و ۳ بوته در مترمربع بیشترین تأثیرگذاری خود را در بهبود میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نمایان کردند (جدول ۷).

تمامی کودهای آلی مورد بررسی در تراکم های ۳ و ۵ بوته در مترمربع منجر به افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی نسبت به شاهد شدند، ولی با افزایش تراکم گیاهی از ۵ به ۱۰ بوته در مترمربع به جز ورمی کمپوست سایر کودها دارای اثر منفی بر فعالیت آنتی اکسیدانی بودند (جدول ۷). کودهای کمپوست،

جدول ۵- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی ویژگی‌های کیفی گاوزبان ایرانی تحت تأثیر تراکم‌های مختلف و کاربرد کودهای آلی و شیمیایی

پروتئین دانه	روغن دانه	میانگین مربعات			میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی	درجه آزادی	
		میزان آنتوسیانین کل	میزان فلاونوئید کل	میزان فنول کل			
۱/۶۰ ns	۲/۶۲ ns	۳/۴۵ ns	۲۱۹۸ ns	۱۷/۴۱ ns	۴/۳۳ ns	۲	بلوک
۲۱/۸۲ **	۱/۰۰ ns	۴/۳۰ **	۴۷۸۶۸ **	۳۸۹/۱۷ **	۶۲۴/۲۲**	۲	تراکم گیاهی
۴۸/۲۲ **	۲۱/۰۲ **	۸/۸۲ **	۱۲۳۵۳ **	۲۷۲/۵۶ **	۱۵۶/۷۰ **	۴	کود
۳۰/۳۳ **	۵/۱۸ ns	۶/۷۶ **	۲۱۸۳۴ **	۶۲۹/۴۳ **	۱۰۹۵/۱۷ **	۸	تراکم کاشت×کود
۳/۰۹	۴/۶۴	۰/۰۰۰۰۰۰۱	۱۳۸۰	۳۲/۴۳	۱۲/۲۲	۲۸	خطای آزمایشی
۲۵/۴۶	۲۲/۲۷	۱۱/۴۱	۱۹/۴۸	۱۲/۶۱	۱۴/۷۹	-	ضریب تغییرات (%)

ns و ** و ***: به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ و عدم معنی‌داری

جدول ۶- مقایسه میانگین برخی ویژگی‌های کیفی گاوزبان ایرانی تحت تأثیر تراکم‌های مختلف و کاربرد کودهای آلی و شیمیایی

میزان پروتئین دانه (%)	میزان روغن دانه (%)	میزان آنتوسیانین کل (mg/g flower) (DW)	میزان فلاونوئید کل (mg QE/100g flower) (DW)	میزان فنول کل (mg GAE/g) (flowerDW)	میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (mg/ml)	تراکم‌های گیاهی (بوته در مترمربع)
۸/۷۴b	۱۸/۸۱a	۰/۰۰۲۶b	۴۴۰/۳۷a	۴۲/۹۲b	۶۶/۳۴c	۳
۱۰/۱۴a	۱۸/۶۴a	۰/۰۰۳۵a	۳۲۹/۶۷c	۵۰/۹۷a	۷۳/۰۰b	۵
۱۰/۲۹a	۱۸/۴۴a	۰/۰۰۲۶b	۴۰۴/۵۸b	۴۱/۵۴b	۷۹/۲۴a	۱۰
کودهای مختلف						
۹/۴۲b	۱۸/۹۱a-c	۰/۰۰۳۱a	۴۱۸/۲۸a	۴۷/۳۵b	۷۸/۵۵a	کمپوست
۱۲/۵۲a	۱۹/۲۰ab	۰/۰۰۳۲a	۴۰۶/۲۶a	۴۲/۹۵bc	۷۱/۱۳b	ورمی کمپوست
۹/۴۱b	۱۹/۹۸a	۰/۰۰۳۰a	۴۲۹/۲۳a	۳۹/۲۶c	۷۵/۳۵a	گاوی
۹/۰۳c	۱۷/۶۹bc	۰/۰۰۲۷b	۳۵۰/۳۴b	۵۳/۵۴a	۷۱/۵۸b	شیمیایی
۸/۲۳d	۱۷/۳۷c	۰/۰۰۲۵b	۳۵۳/۵۹b	۴۲/۶۲bc	۶۷/۷۱c	شاهد

در هر ستون و برای هر اثر ساده، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵٪، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثرات متقابل تراکم‌های مختلف و کاربرد کودهای آلی و شیمیایی بر برخی ویژگی‌های کیفی گاوزبان ایرانی

میزان پروتئین دانه	میزان روغن دانه	میزان آنتوسیانین کل	میزان فلاونوئید کل	میزان فنول کل	میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی		
(%)	(%)	(mg/g flower DW)	(mg QE/100g flower DW)	(mg GAE/g flower DW)	(mg/ml)		
۷/۷۱def	۱۹/۲۹a-d	۰/۰۰۲۶bc	۵۳۹/۹۳a	۴۲/۰۳b-d	۷۰/۶۱ef	کمپوست	تراکم ۳ بوته در مترمربع
۱۲/۴۶a	۲۰/۴۶ab	۰/۰۰۲۸bc	۵۳۹/۶۵a	۴۹/۹۱b	۷۲/۲۷d-f	ورمی کمپوست	
۷/۷۳def	۲۰/۷۰a	۰/۰۰۲۶bc	۴۹۴/۴۵a	۴۴/۴۴b-d	۹۶/۶۴a	گاوی	
۶/۹۱f	۱۶/۳۲d	۰/۰۰۲۱c	۳۰۰/۹۹c	۲۶/۲۰ef	۷۹/۷۸c	شیمیایی	
۸/۹۰cd	۱۷/۲۸cd	۰/۰۰۳۰b	۳۲۶/۸۵c	۵۲/۰b	۷۶/۹۲cd	شاهد	
۱۲/۸۷a	۱۸/۷۲abcd	۰/۰۰۴۲a	۳۴۸/۳۰c	۵۲/۵۱b	۶۷/۴۹f	کمپوست	تراکم ۵ بوته در مترمربع
۱۲/۶۲a	۱۸/۵۸abcd	۰/۰۰۴۰a	۳۶۰/۶۰bc	۴۳/۲۷b-d	۸۲/۲۰c	ورمی کمپوست	
۷/۳۹d-f	۲۰/۳۱abc	۰/۰۰۳۶a	۳۰۱/۹۶c	۳۴/۹۵de	۸۸/۱۳b	گاوی	
۹/۳۱c	۱۸/۲۸abcd	۰/۰۰۳۶a	۳۳۰/۷۳c	۷۱/۳۶a	۷۶/۹۶cd	شیمیایی	
۸/۴۹cde	۱۷/۲۹cd	۰/۰۰۲۳bc	۳۰۶/۷۶c	۵۲/۷۶b	۵۰/۲۴h	شاهد	
۷/۶۸def	۱۸/۷۲abcd	۰/۰۰۲۶bc	۳۶۶/۶۰bc	۴۷/۵۰bc	۹۷/۵۵a	کمپوست	تراکم ۱۰ بوته در مترمربع
۱۲/۴۸a	۱۸/۵۶abcd	۰/۰۰۲۹b	۳۱۸/۵۴c	۳۵/۶۶de	۵۸/۹۳g	ورمی کمپوست	
۱۳/۱۱a	۱۸/۹۲abcd	۰/۰۰۲۸bc	۴۹۱/۲۹a	۳۸/۳۹cd	۴۱/۲۷i	گاوی	
۱۰/۸۷b	۱۸/۴۸abcd	۰/۰۰۲۳bc	۴۱۹/۲۹b	۶۳/۰۵a	۵۷/۹۹g	شیمیایی	
۷/۳۱ef	۱۷/۵۵bbcd	۰/۰۰۲۳bc	۴۲۷/۱۶b	۲۳/۱۱f	۷۵/۹۸c-e	شاهد	

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

میزان روغن و پروتئین دانه

از نظر میزان روغن دانه، تفاوت چندانی بین تراکم‌های گیاهی وجود نداشت، ولی پروتئین دانه تحت تأثیر تراکم گیاهی قرار گرفت (جدول ۵)، به طوری که تراکم‌های گیاهی ۵ و ۱۰ بوته در مترمربع به ترتیب منجر به افزایش ۱۴ و ۱۵ درصدی پروتئین دانه نسبت به تراکم ۳ بوته در مترمربع شدند (جدول ۶). اثر کودهای آلی و شیمیایی مختلف بر روغن و پروتئین دانه معنی‌دار بود (جدول ۵)، به طوری که کودهای ورمی‌کمپوست و گاوی به ترتیب افزایش ۱۰ و ۱۳ درصدی روغن دانه و افزایش ۳۴ و ۱۳ درصدی پروتئین دانه را در مقایسه با شاهد سبب شدند (جدول ۶). پروتئین دانه در شرایط استفاده از کودهای کمپوست و شیمیایی نیز به ترتیب ۱۳٪ و ۹٪ نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول ۶). اگرچه تمامی کودهای آلی مورد مطالعه افزایش روغن و پروتئین دانه را در پی داشتند، ولی بیشترین روغن دانه در تیمار کود گاوی و بیشترین پروتئین دانه در تیمار ورمی‌کمپوست حاصل شد (جدول ۶).

در بررسی اثرات متقابل تراکم گیاهی و کودهای آلی و شیمیایی مختلف مشاهده شد که با افزایش تراکم گیاهی اثر کودهای آلی در بهبود میزان روغن دانه کاهش یافت، به طوری که در تراکم ۳ بوته در مترمربع، کودهای ورمی‌کمپوست و گاوی به ترتیب منجر به افزایش ۱۶ و ۱۷ درصدی روغن دانه نسبت به شاهد شدند، ولی در تراکم‌های ۵ و ۱۰ بوته در مترمربع نتوانستند از این نظر اختلاف معنی‌داری با شاهد ایجاد کنند (جدول ۷). استفاده از کودهای آلی در تمامی تراکم‌های گیاهی مورد مطالعه افزایش پروتئین دانه را در مقایسه با شاهد به همراه داشت، که البته کود ورمی‌کمپوست در تراکم ۳ بوته در مترمربع، کود کمپوست در تراکم ۵ بوته در مترمربع و کود گاوی در تراکم ۱۰ بوته در مترمربع بیشترین میزان پروتئین دانه را سبب شدند (جدول ۷).

بحث

گیاهان دارویی، مخازنی غنی از متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان مواد مؤثره اساسی بسیاری از داروها می‌باشند.

اگرچه مواد مذکور اساساً طی فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، ولی عوامل محیطی نیز در ساخت آنها نقش ایفاء می‌کنند و اعمال نهاده‌های مختلف در مزرعه، مقدار آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کودهای آلی فرآورده‌های اصیل و بدون خطری هستند که سلامت محصول و پایداری سیستم‌های زراعی را به همراه دارند (Hargreaves *et al.*, 2008).

نتایج آزمایش حکایت از اثر مثبت کودهای آلی بر بیشتر خصوصیات کیفی مورد مطالعه داشت. بنابراین به نظر می‌رسد که کاربرد کودهای آلی در خاک ضمن تأمین مقادیری از عناصر غذایی، باعث بهبود ساختمان خاک، افزایش ظرفیت نگهداری رطوبت، امکان آماده‌سازی بستر مناسب‌تر برای رشد ریشه و افزایش سبزی‌نگی گیاه شده و از این طریق، بهبود خصوصیات کیفی گیاه را در پی داشته است (Raja Sekar & Karmegam, 2010). برخی محققان افزایش عملکرد کیفی گیاه بومادران (*Achillea millefolium*) را در نتیجه کاربرد کودهای آلی گزارش کردند (Schiffer *et al.*, 1993). کاربرد کودهای آلی در نعنای فلفلی نشان داد که عملکرد اسانس آن در کشت ارگانیک ۱۱۷-۱۱۰ کیلوگرم در هکتار بود که این مقدار حدود ۸۰ تا ۸۴ درصد عملکرد حاصل از کشت رایج این محصول بود (Kalra, 2003). Koocheki و همکاران (۲۰۱۳) اثر کودهای آلی بر خصوصیات کیفی اسفرزه (*Plantago psyllium*) را مثبت گزارش کردند، به طوری که کودهای گاوی و ورمی‌کمپوست به ترتیب با ۲۰/۷۵ و ۱۹/۶۷ درصد موسیلاژ از این نظر نسبت به سایر تیمارها برتری داشتند. Khalesro و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر نهاده‌های زیستی و آلی را بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی انیسون بررسی و گزارش کردند که با افزایش مقدار مصرفی ورمی‌کمپوست از صفر به ۵ و از ۵ به ۱۰ تن در هکتار درصد اسانس، عملکرد اسانس، درصد آنتول و درصد متیل کابیکول در مقایسه با شاهد افزایش یافت. در پژوهش دیگری، بیشترین عملکرد اسانس و میزان آنتول اسانس گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) در

کاشت) و همچنین یکی از نشانگرهای بیوشیمیایی دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی مطرح می‌باشد (Boudet, 2007؛ Vogt, 2010). بنابراین به نظر می‌رسد که کشت گیاه در تراکم مطلوب گیاهی و کاربرد کودهای آلی، در سنتز آنزیم مذکور مؤثر بوده و از این طریق تولید ترکیب‌های فنولی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها تحت تأثیر قرار گرفته و در نهایت عملکرد کمی و کیفی گیاه بهبود یافته است.

Abu-Darwish و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که افزایش تراکم گیاهی منجر به افزایش مقدار و درصد اسید رزمارینیک گیاه دارویی مریم‌گلی شد. افزایش تراکم به دلیل کاهش نفوذ نور به پوشش گیاهی، کاهش عملکرد اسانس زوفا (*Hyssopus officinalis*) و آویشن (*Thymus vulgaris*) (Khazaie et al., 2008) و مرزه (*Satureja hortensis*) (Hekmati et al., 2012) را در پی داشت، در حالی که عملکرد اسانس نعناع فلفلی با افزایش تراکم از ۸ به ۲۰ بوته در مترمربع افزایش یافت (Heidari et al., 2008). Akbarinia (۲۰۱۳). واکنش گیاه دارویی مرزه سهندی (*Satureja sahandica Bormn.*) به تراکم‌های مختلف کاشت (۸، ۱۰ و ۱۲ بوته در مترمربع) را بررسی و گزارش کرد که با افزایش تراکم کاشت تا سطح ۱۰ بوته در مترمربع عملکرد اسانس افزایش یافت، در حالی که افزایش بیشتر تراکم گیاهی عملکرد اسانس را با روندی کاهشی مواجه کرد. Shehata و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی اثر کمپوست بر گیاه توت‌فرنگی (*Fragaria vesca*)، گزارش کردند که کاربرد کمپوست، باعث افزایش ارتفاع، عملکرد کل، درصد مواد جامد محلول و آنتوسیانین میوه در توت‌فرنگی شد. Niknejad و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که کاربرد همزمان ۱۲ تن در هکتار کود گاوی، ۷/۵ تن در هکتار ورمی‌کمپوست و ۷۵ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی (فسفات آمونیوم) منجر به تولید بیشترین عملکرد اسانس و بیشترین میزان کامازولن در گیاه دارویی بابونه آلمانی شد.

روغن گیاه گاوزبان ایرانی یکی از منابع اولیه اسیدگامالیونلینیک است که در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی کاربرد دارد (Simon et al., 1990). درصد روغن و پروتئین از نظر ژنتیکی صفاتی کمی هستند که توسط تعداد زیادی ژن

تیمار مخلوط کمپوست و ورمی‌کمپوست بدست آمد (Moradi et al., 2011).

نتایج پژوهش‌های متعدد روی گیاهان دارویی از جمله بابونه رومی (*Chamaemelum nobile*) (Liuc & Pank, 2005)، بابونه آلمانی (Salehi et al., 2011)، بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.) (Mafakheri et al., 2012)، ریحان (Anwar et al., 2005) و رازیانه (Darzi et al., 2006) نشان داد که کاربرد ورمی‌کمپوست سبب افزایش کمی و کیفیت ماده مؤثره شد.

برای استفاده مطلوب از عوامل محیطی مانند نور، آب، مواد غذایی و نیز جلوگیری از بروز رقابت شدید، تعداد بوته در واحد سطح باید در حد بهینه باشد. تراکم بوته مطلوب تراکمی است که در نتیجه آن کلیه عوامل محیطی به‌طور مؤثر، مورد استفاده گیاه قرار گرفته و در عین حال رقابت‌های درون بوته‌ای و بین بوته‌ای در حداقل باشند تا حداکثر عملکرد ممکن با کیفیت مطلوب بدست آید (Caliskan et al., 2009). قابلیت دسترسی عناصر غذایی مختلف در خاک تحت تأثیر تنش‌های محیطی (مانند تنش‌های ناشی از عدم رعایت تراکم مطلوب گیاهی و تنش‌های تغذیه‌ای) تغییرات قابل ملاحظه‌ای می‌یابد، بنابراین مدیریت تغذیه گیاه نقش اساسی در تولید محصولات گیاهی داشته و گیاهی که خوب تغذیه شده و به‌مقدار کافی عناصر غذایی را دریافت کرده باشد، مقاومت بهتری به تنش‌ها خواهد داشت (Mohammadkhani & Heidari, 2007).

ترکیب‌های فنولی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانته هستند که مانع بروز تنش اکسیداتیو و یا تخفیف اثرات آن در سلول‌های گیاه می‌شوند. فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها جزء متابولیت‌های ثانویه حاصل از مسیر فنیل‌پروپانویید می‌باشند و آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیا لاز آغازگر این مسیر است که L-فنیل‌آلانین را با دامیناسیون به ترانس سینامیک اسید تبدیل می‌کند. این مسیر، مسیر اصلی بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در سلول می‌باشد. این آنزیم کلیدی در تشکیل ترکیب‌های فنولی نقش اساسی داشته و به‌عنوان یکی از شاخص‌های حساس به تغییرات محیطی (مانند تغییر تراکم

به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از کودهای آلی در تراکم‌های مطلوب گیاهی می‌تواند ضمن بهبود ویژگی‌های کیفی گیاه دارویی گاوزبان ایرانی، اثرات مخرب ناشی از مصرف کودهای شیمیایی را کاهش داده و سلامت محصول و پایداری تولید را در درازمدت تضمین کند.

منابع مورد استفاده

- Abu-Darwish, M., Al-Ramamneh, E.A.D., Salamon, I., Abu-Dieyh, Z., Al-Nawaiseh, M. and Albdour, T., 2013. Determination of essential oil bioactive components and rosmarinic acid of *Salvia officinalis* cultivated under different intra-row spacing. *Notulae Scientia Biologicae*, 5: 198-203.
- Akbarinia, A., 2013. Response of *Satureja sahendica* Bormn. to nitrogen and plant density. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 29(2): 260-268.
- Akhani, A., Darzi, M.T. and Haj Seyed Hadi, M.R., 2012. Effects of biofertilizer and plant density on yield components and seed yield of coriander (*Coriandrum sativum*). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4: 1205-1211.
- Anwar, M., Patra, D.D., Chand, S., Alpeh, K., Naqvi, A.A. and Khanuja, S.P.S., 2005. Effects of organic manures and inorganic fertilizer on growth herb and oil yield, nutrient accumulation and oil quality of French basil. *Commun Soil Science and Plant Analysis*, 36: 1737-1746.
- Ashraf, B., Yazdani-Bioui, R., Mousavi-Baygi, M. and Bannayan-Aval, M., 2014. Investigation of temporal and spatial climate variability and aridity of Iran. *Journal of Theoretical and Applied Climatology*, 18: 35-46.
- Azizi, M., Neamati, H. and Aroiee, H., 2014. The study on the effect of different levels of vermicompost and plant density on oil content and components of evening primrose (*Oenothera biennis* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 11: 62-76.
- Boudet, A.M., 2007. Evaluation and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, 68: 2722-2735.
- Caliskan, M.E., Kusman, N. and Caliskan, S., 2009. Effects of plant density on the yield and yield components of true potato seed (TPS) hybrids in early and main crop potato production systems. *Field Crops Research*, 114: 223-232.
- Chang, Y.L., 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals.

کنترل می‌شوند و مانند هر صفت کمی دیگر، تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند (Mozafari et al., 2006).

میزان روغن و پروتئین دانه گاوزبان ایرانی تحت تأثیر تراکم گیاهی و کاربرد کودهای آلی قرار گرفت. به نظر می‌رسد که تراکم گیاهی مطلوب، احتمالاً به علت ایجاد تفاوت در چگونگی توزیع انرژی تابشی خورشید، خصوصیات کیفی گیاه را بهبود بخشیده است (Caliskan et al., 2009). همچنین به نظر می‌رسد که کودهای آلی مقدار نیتروژن ورودی از قسمت‌های رویشی به دانه را افزایش داده، در نتیجه افزایش غلظت نیتروژن دانه و درصد پروتئین آن را به همراه داشته است (Sajadi Nik et al., 2011). Gholinezhad و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که تراکم کاشت از عوامل مؤثر در تعیین میزان عملکرد و کیفیت روغن گیاهان روغنی بوده و با کاهش تراکم بوته آفتابگردان (*Helianthus annuus*)، درصد و میزان روغن دانه افزایش یافت. در یک پژوهش، پس از بررسی اثر سطوح مختلف ورمی‌کمپوست و تراکم کاشت بر میزان و اجزای روغن گیاه دارویی گل‌مغربی (*Oenothera biennis* L.) گزارش شد که کاربرد ۲ کیلوگرم در مترمربع ورمی‌کمپوست و به ترتیب تراکم ۲۰ بوته در مترمربع از نظر بهبود تولید روغن و تراکم ۹ بوته در مترمربع از نظر کیفیت روغن و نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع، بهترین تیمارها تشخیص داده شد (Azizi et al., 2014). بر اساس گزارش Khandan و همکاران (۲۰۰۵) کودهای آلی با افزایش جذب عناصر توسط گیاه، میزان نیتروژن دانه و به تبع آن میزان پروتئین دانه اسفرزه را در مقایسه با شاهد بهبود بخشیدند. در یک پژوهش، کاربرد ۵ و ۱۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست نیتروژن دانه و به تبع آن پروتئین دانه را به ترتیب ۱۱ و ۱۵ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (Khalasro et al., 2012). در پژوهش دیگری بیشترین درصد اسانس، عملکرد اسانس، غلظت نیتروژن دانه و پروتئین دانه بابونه آلمانی با کاربرد ۱۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست بدست آمد (Salehi et al., 2011).

- components and essential oil of anise. *Journal of Sustainable Agriculture and Production Science*, 21: 69-88.
- Ibrahim, H.M., 2012. Response of some sunflower hybrids to different levels of plant density. *APCBEE Procedia*, 4: 175-182.
 - Kalra, A., 2003. Organic cultivation of Medicinal and aromatic plants. A Hope for Sustainability and Quality Enhancement. *Journal of Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye-Yielding Plants (MADPs)*, FAO, 198p.
 - Khalesro, Sh., Ghalavand, A., Sefidkon, F. and Asgharzadeh, A., 2012. The effect of biological and organic inputs on quantity and quality of essential oil and some elements content of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27: 551-560.
 - Khandan, A., Astaraee, A., Nassiri Mahallati, M. and Fotovat, A., 2005. Effect of organic and inorganic fertilizers on yield and yield components of *Plantago ovata* Forssk. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 3: 245-254.
 - Khazaie, H.R., Najafi, F. and Banayan, M., 2008. Effect of irrigation frequency and planting density on herbage, biomass and oil production of thyme (*Thymus vulgaris*) and hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Industrial Crop Production*, 27: 315-321.
 - Kiani, K., 2005. Benefits and Harms of Medicinal Plants, Fruits and Vegetables. Zar Ghalam Press, 400p. (In Farsi).
 - Kizilkaya, R., 2008. Yield response and nitrogen concentrations of springwheat (*Triticum aestivum*) inoculated with *Azotobacter chroococcum* strains. *Ecological Engineering*, 33: 150-156.
 - Koocheki, A., Amirmoradi, S., Shabahang, J. and Kalantari Khandani, S., 2013. Effect of organic fertilizers on quality and quantity characteristics of blond psyllium (*Plantago ovata* Forssk.) clasping pepperweed (*Lepidium perfoliatum* L.), qodumeh Shirazi (*Alyssum homolocarpum* L.) and dragons head (*Lalementia iberica* L.). *Journal of Agroecology*, 5: 86-94. (In Farsi).
 - Liuc, J. and Pank, B., 2005. Effect of vermicompost and fertility levels on growth and oil yield of Roman chamomile. *Scientia Pharmaceutica*, 46: 63-69.
 - Mafakheri, S., Omidbaigi, R., Sefidkon, F. and Rejali, F., 2012. Effect of vermicompost, biophosphate and azotobacter on quantity and quality of essential oil of *Dracocephalum moldavica* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27: 596-605.
 - Masoud Hamidi, E., Khaksari, M. and Hojabri, Kh., 2011. Effects of aqueous extract of *Echium amoenum* and *Citrus auranti* on blood pressure and *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3713-3717.
 - Darzi, M.T., Ghalavand, A., Rejali, F. and Sefidkon, F., 2006. Effects of biofertilizers application on yield and yield components in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 22: 276-292.
 - Fakhr Tabatabaee, M., 1993. Medicinal plants and effect of stress in its life. *Journal of Natural Resources of Iran*, 47: 14-19.
 - Ghasemi, A., 2009. Medicinal and Aromatic Plants: Identify and Evaluate Its Effects. *Shahrkord Islamic Azad University Press*, 574p.
 - Ghenaat, J., 2006. Isolation and investigation of quantitative and qualitative materials of essential oils of some Iranian medicinal plants in Boraginaceae family by using the methods of GC and GC/Ms. M.Sc. thesis, Tehran university. (In Farsi).
 - Gholinezhad, A., Tobeh, A., Hasanzadeh Ghorottapeh, A. and Asgari, A., 2008. Effect of density and planting arrangement on yield and yield components of sunflower. *Journal of Agriculture science*, 18: 87-99.
 - Hargreaves, J.C., Adl, M.S. and Warman, P.R., 2008. A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 123: 1-14.
 - Harshavardhan, P.G., Vasundhara, M., Raviraja Shetty, G., Nataraja, A., Sreeramu, B.S., Chandre Gowda, M. and Sreenivasappa, K.N., 2007. Influence of spacing and integrated nutrient management on yield and quality of essential oil in lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Biomedical*, 2: 288-301.
 - Heidari, F., Zehtab-Salmasi, S., Javanshir, A., Aliari, H. and Dadpour, M.R., 2008. The effect of plant density on yield and production of essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 12: 501-510.
 - Hekmati, M., Hadian, J. and Tabaei Aghdaei, S.R., 2012. Evaluating the effect of planting density on yield and morphology of savory (*Satureja khuzistanica* Jamzad). *Annals of Biological Research*, 3: 4017-4022.
 - Hiltbrunner, J., Streit, B. and Liedgens, M., 2007. Are seeding densities an opportunity to increase grain yield of winter wheat in a living mulch of white clover. *Field Crops Research*, 102: 163-171.
 - Hosseinpour, M., Pirzad, A., Habibi, H. and Fotokian, M.H., 2011. Effect of biological nitrogen fertilizer (*Azotobacter*) and plant density on yield, yield

- Biofertilizers. Haworth Press Inc., USA, 610p.
- Raja Sekar, K. and Karmegam, N., 2010. Earthworm casts as an alternate carrier material for biofertilizers: Assessment of endurance and viability of *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium* and *Rhizobium leguminosarum*. *Scientia Horticulturae*, 124: 286-289.
 - Sajadi Nik, R., Yadavi, A., Balouchi, H.R. and Farajee, H., 2011. Effect of chemical (Urea), organic (vermicompost) and biological (nitroxin) fertilizers on quantity and quality yield of sesame (*Sesamum indicum* L.). *Journal of Sustainable Agriculture and Production Science*, 21: 87-102.
 - Salehi, A., Ghalavand, A., Sefidkon, F. and Asgharzade, A., 2011. The effect of zeolite, PGPR and vermicompost application on N, P, K concentration, essential oil content and yield in organic cultivation of german chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27: 200-214.
 - Samsam Shariat, H., 2010. Propagation and Cultivation of Medicinal Plants. Mani Press, 422p.
 - Schiffer, M.C., Ronzelli Junior, P. and Koehler, H.S., 1993. Influence of organic fertilization on the biomass, yield composition of the essential oil of *Achillea millefolium* L. *Acta Horticulture*, 331: 109-114.
 - Shehata, S.A., Gharib, A.A., Mohamed, M., El-Mogy, Abdel Gawad, K.F. and Emad, A.S., 2011. Influence of compost, amino and humic acid on the growth, yield and chemical parameters of strawberries. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5: 2304-2308.
 - Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T., 1992. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 945-948.
 - Simon, J.E., Beaubaire, N., Weller, S.C. and Janick, J., 1990. Borage: a source of gamma linolenic acid: 528. In: Janick, J. and Simon, J.E., (Ed.). *Advances in New Crops*. Timber Press, Portland, Oregon, 538p.
 - Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. *Plant and Soil*, 255: 571-586.
 - Vildova, A. and Stolcova, M., 2006. Cultivation technology of chamomile (*Matricaria recutita* L.) in organic agriculture. First International Symposium on Chamomile Research, Development and Production. Slovak Republic, Prosov, 7-10 June: 81-82.
 - Vogt, T., 2010. Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant*, 3: 2-20.
 - heart beat, before and after phenylephrine injection in male rat. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*, 18: 349-357.
 - Mehrabani, M., 2005. Sugar from *Echium amoenum*. Second Symposium of Medicinal Plants, Shahed University, Tehran, 26-27 January: 284.
 - Mir, B., Ghanbari, A., Ravan, S. and Asgharipour, M., 2011. Effects of plant density and sowing date on yield and yield components of *Hibiscus sabdariffa* in Zabol region. *Advances in Environmental Biology*, 5: 1156-1161.
 - Mohammadkhani, R. and Heidari, R., 2007. Effects of drought stress on protective enzyme activities and lipid peroxidation in two maize cultivars. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(21): 3835-3840.
 - Mojab, F., Behfar, A., Kobarfard Nikavar, B. and Jafari, B., 2008. Evaluate of oil acids in *Echium amoenum* seed. *Journal of Medicinal Plants*, 29: 80-86.
 - Moradi, R., Nassiri Mahallati, M., Rezvani Moghaddam, P., Lakzian, A. and Nejadali, A., 2011. Effect of biological and organic fertilizers on quantitative and qualitative oil in *Foeniculum vulgare* Mill. *Journal of Horticultural Science*, 25: 25-33.
 - Mozafari, K., Arshi, Y. and Zeinali Khanghah, H., 2006. Evaluate effect of drought stress on some morphological characteristics and yield components of sunflower. *Seed and Plant Research Journal*, 12: 23-24.
 - Muanda, F.N., Soulimani, R., Diop, B. and Dicko, A., 2011. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 44: 1865-1872.
 - Naderi Haji Bagherkandi, M. and Rezaee, M.B., 2004. Primory phytochemical investigation of *Echium amoenum*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 20: 377-383.
 - Najafpoor Navaee, M., 2002. Evaluation of effect of phosphorous and nitrogen fertilizers on seed yield of *Echium amoenum*. *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants*, 13: 41-50.
 - Niknejad, M., Lebaschy, M.H., Jaimand, K. and Hatami, F., 2013. Effect of organic and chemical fertilizers on essential oil of *Matricaria chamomilla* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 29: 373-386.
 - Ordone, A.A.L., 2008. Antioxidant activities of sechium edule swartz extracts. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 97: 452-458.
 - Rai, M.K., 2006. Handbook of Microbial

Effects of plant density and different organic and chemical fertilizers on some phytochemical characteristics of Iranian ox-tongue (*Echium amoenum* Fisch. & Mey.)

M.B. Amiri^{1*}, P. Rezvani Moghaddam², M. Jahan², M. Salehabadi³ and N. Naseri³

1*- Corresponding author, Gonabad University, Khorasan Razavi, Iran, E-mail: m.b2.amiri@gmail.com

2- Faculty of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

3- B.Sc. Student of Plant Production, Gonabad University, Khorasan Razavi, Iran

Received: February 2017

Revised: June 2017

Accepted: June 2017

Abstract

This research was aimed to investigate the effects of plant density and organic and chemical fertilizers on some phytochemical characteristics of Iranian ox-tongue (*Echium amoenum* Fisch. & Mey.). The study was conducted as a split plot experiment based on RCBD design with three replications, conducted in 2011-2014, in Ferdowsi University of Mashhad, Iran. The main and sub plots included three plant densities (10, 5 and 3 plants per m²) and three types of organic fertilizers and one type of chemical fertilizer (compost, vermicompost, cow manure, nitrogen chemical fertilizer and control), respectively. The results showed that the highest antioxidant activity was obtained in a density of 10 plants per m² (79 mg/ml) and the highest total phenols was observed in a density of 5 plants per m² (51 mg GAE/g flower DW). Compost, vermicompost, cow manure and chemical fertilizer increased total phenols to 51, 35, 40 and 63%, respectively compared to control. Application of vermicompost and cow manure in a density of 3 plants per m² increased total flavonoid up to 39 and 38%, respectively compared to control. The highest total anthocyanin was obtained in a density of 5 plants per m². Vermicompost and cow manure increased the seed oil (10 and 13%), and seed protein content (34 and 13%), respectively compared to control. In general, according to the findings of this research, it seems that the use of eco-friendly inputs and determining the optimal density of Iranian ox-tongue could result in improving the quality and health of product and minimizing the damage caused by chemical inputs.

Keywords: Total anthocyanin, seed oil, health of product, antioxidant activity, ecological input, vermicompost.