پاسخ فیتوشیمیایی و زراعی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) به کاربرد کودهای زیستی و کود اوره

علی مهرآفرین[۱]، حسنعلی نقدی‌بادی[۲]*، میثم پورهادی[۳]، ابراهیم هادوی[٤]، نسرین قوامی[٥]، زهره کدخدا[٦]

۱- عضو هیأت علمی، گروه پژوهشی کشت و توسعه، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
۲- دانشیار پژوهش، گروه پژوهشی کشت و توسعه، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاداسلامی واحد کرج، کرج
٤- استادیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاداسلامی واحد کرج، کرج
٥- کارشناس ارشد باغبانی، گروه پژوهشی کشت و توسعه، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
٦- کارشناس ارشد شیمی آلی، گروه فارماکوگنوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
*آدرس مکاتبه: کرج، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، صندوق‌پستی: ۳٦۹ – ۳۱۳۷٥
تلفن: ٤۷٦٤۰۱۰ (۰۲٦۱)، نمابر: ٤۷٦٤۰۲۱ (۰۲٦۱)
پست الکترونیک: Naghdibadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۱۷ **تاریخ تصویب:** ۹۰/۹/٦

چکیده

مقدمه: در راستای کشاورزی پایدار، کودهای زیستی به عنوان جایگزین تدریجی کودهای شیمیایی و یا کاهش مصرف این ترکیبات شیمیایی مطرح می‌باشد.

هدف: تعیین اثرات کودهای زیستی (نیتروژنه و سولفوره) و کود شیمیایی اوره بر عملکرد زراعی و دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.).

روش بررسی: این تحقیق در ۹ تیمار کودی و ۳ تکرار در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. تیمارهای این تحقیق عبارت از تیمارهای شاهد (عدم مصرف کود)، سه نوع کود مختلف زیستی هرکدام به میزان ٤ و ۸ کیلوگرم در هکتار و کود شیمیایی اوره به میزان ۷٥ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار بودند.

نتایج: تیمارهای کودی بر ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک ساقه در هکتار، وزن خشک برگ در هکتار و مقدار منتون اسانس در سطح آماری ٥ درصد و بر تعداد برگ در ساقه، وزن تر و خشک برگ در ساقه، عملکرد اسانس در واحد سطح، و مقدار منتول اسانس در سطح آماری ۱ درصد، اثر معنی‌داری داشتند. به طور کلی کمترین عملکرد کمی و کیفی نعناع فلفلی مربوط به تیمار شاهد بود و کودهای زیستی و شیمیایی سبب افزایش عملکرد در گیاه نعناع فلفلی از نظر تمامی صفات مورد مطالعه شدند. بیشترین عملکرد در تیمارهای کود زیستی نیتروکسین و اوره مشاهده شد و از سوی دیگر هم مقدار منتول و منتون اسانس در کود زیستی نیتروکسین ۸ کیلوگرم در هکتار به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با کود اوره ۷٥ کیلوگرم در هکتار نداشت.

نتیجه‌گیری: مصرف کودهای زیستی، عملکرد کمی و کیفی نعناع فلفلی را افزایش دادند و این کودها می‌توانند جایگزین و یا باعث کاهش مصرف کودهای شیمیایی در اکوسیستم‌های زراعی شوند که گامی در راستای به حداقل رسانیدن آلودگی محیط و کشاورزی پایدار است.

گل‌واژگان: *Mentha piperita* L.، کودهای زیستی، اسانس، منتون، منتول

www.SID.ir

مقدمه

نعناع فلفلی (Peppermint) یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی متعلق به خانواده Lamiaceae است [۱،۲] که بومی مناطق معتدله دنیا به ویژه اروپا، آمریکای شمالی و شمال آفریقا می‌باشد، اما امروزه در سراسر دنیا کشت می‌شود [۳]. تولید جهانی این گیاه در سال ۷۵۰۰ میلیون تن است [٤]. در طب سنتی از گیاه خشک شده نعناع فلفلی و اسانس آن برای کاهش اشتها، سرماخوردگی، سرفه، تب، تهوع، سردرد، آماس روده بزرگ [۵]، ضداسپاسم، ضدنفخ [٦] و سوءهاضمه استفاده می‌شود [۱،٦]. اثرات ضدالتهابی [۷]، ضدمیکروبی [۲،۳]، ضدویروسی [۸]، آنتی‌اکسیدانی [۹]، ضد تومور و ضدحساسیتی این گیاه گزارش شده است [۱۰]. همچنین اسانس نعناع فلفلی بسیار متنوع [۳،۱۱] و با ارزش اقتصادی بالا [۱۲] است که به مقدار زیاد در طعم‌دهنده‌ها و یا افزودنی‌های غذایی، خمیر دندان و دیگر محصولات بهداشتی و فرمولاسیون دارویی به کار می‌رود [۱۳]. میزان اسانس سرشاخه این گیاه بین ۲/۵ – ۰/۱ درصد (با توجه به شرایط متفاوت اقلیمی) [۱،۱٤] و شامل منتول ٤۲ – ۲۸ درصد، منتون ۲۸ – ۱۸ درصد [۱]، منتوفوران ٦/۸ درصد و متیل استات ۱۰ – ۳ درصد است [۱۱،۱۵،۱٦]. منتول و منتون اصلی‌ترین جزء اسانس بوده و خواص ضد میکروبی دارند [۱۱،۱۷]. بر طبق استاندارد سازمان گیاه درمانی اروپا (European scientific cooperative on phytoterapy (ESCOP))، مقدار منتول معیار اصلی در تعیین کیفیت اسانس نعناع فلفلی است [۱۰] که می‌توان با به کارگیری فاکتورهای زراعی مناسب در راستای افزایش عملکرد کمی و کیفی آن گام برداشت. یکی از این فاکتورهای زراعی موثر در رشد و عملکرد کمی و کیفی، تغذیه کودی می‌باشد.

کودهای زیستی شامل سلول‌هایی زنده از انواع مختلف میکروارگانیسم‌ها هستند که قابلیت جذب عناصر غذایی را با استفاده از فرآیندهای زیستی برای گیاهان فراهم کرده [۱۸،۱۹] و به توسعه سیستم ریشه آنها کمک می‌کنند [۲۰]. معمولاً این میکروارگانیسم‌ها باعث تولید ترکیباتی مانند جیبرلین، سیتوکینین و اکسین، تسهیل جذب آب و عناصر غذایی به ویژه فسفر، نیتروژن و عناصر میکرو از خاک و کاهش یا جلوگیری از بیماری‌ها در گیاهان می‌شوند [۲۰]. تفاوت کودهای زیستی با کودهای آلی و شیمیایی در این است که آنها به طور مستقیم هیچ عنصر غذایی را برای گیاه تأمین نمی‌کنند [۱۹]. برخی از این میکروارگانیسم‌ها شامل ریزوباکترهای محرک رشد گیاه (Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)) نظیر آزوسپیریلوم (*Azospirillum*)، ازتوباکتر (*Azotobacter*)، سودوموناس فلورسنس (*Pseudomonas fluorescens*) و چندین گونه باسیل (*Bacillus* spp.) گرم مثبت هستند که اثرات مثبتی روی بهبود رشد گیاه دارند [۲۱،۲۲]. ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم، باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در محیط ریزوسفر ریشه هستند که توانایی سنتز و استخراج بعضی مواد فعال زیستی را دارند که رشد ریشه را افزایش می‌دهند. گونه‌های مختلف باکتری سودوموناس در کنترل عوامل بیماری‌زا نقش دارند و رشد را توسط مکانیسم‌های مختلفی شامل تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌هایی که سطح اتیلن گیاه را تنظیم می‌کنند، تحریک می‌کند [۲۳].

تحقیقات گسترده‌ای برای شناخت کارآیی و نحوه اثر کودهای زیستی در رشد، عملکرد و تولید اسانس گیاهان دارویی آغاز شده است. آزاز و همکاران [۲٤] امکان استفاده از کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی را در گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) بررسی کرده و نتیجه گرفتند که رشد رویشی، عملکرد و میزان اسانس گیاه رازیانه در تیمارهای کود زیستی افزایش یافت. محفوظ و شرف‌الدین [۲۵] نشان دادند که کاربرد کودهای ازتوباکتر، آزوسپیرلیوم، باسیلوس و ۵۰ درصد کود شیمیایی کامل باعث افزایش رشد و اسانس گیاه رازیانه شد. کوچکی و همکاران [۲٦] گزارش کردند که کاربرد کودهای زیستی مانند نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس و باکتری حل‌کننده فسفات (*Pseudomonas fluorescens*) نقش مفید و مؤثری در بهبود ویژگی‌های رشد، عملکرد اندام هوایی و خصوصیات کیفی و اسانس گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) دارد. عبدالهادی و همکاران [۲۷] در تحقیقی بر روی سه گونه نعناع

www.SID.ir

گزارش کردند که مصرف کودهای زیستی آزوسپیرلیوم و ازتوباکتر، اثرات مثبتی بر رشد و عملکرد کیفی این گیاهان دارند. در تحقیقی بر روی گیاه نعناع فلفلی مشخص شد که عملکرد اسانس در تیمارهای ورمی کمپوست، کود گاوی و ترکیب *Azospirillum* sp. و *Azotobacter* sp. با تیمار استفاده از کودهای شیمیایی برابر بوده‌است [۲۸]. به طور کلی کاربرد کودهای زیستی، نقش موثری در بهبود جذب عناصر و در نتیجه کاهش مصرف کودهای شیمیایی داشته‌اند.

به هرحال با توجه به افزایش سطح زیر کشت گیاهان دارویی در راستای تامین نیاز روزافزون دنیا از یک طرف و اثرات نامطلوب کودهای شیمیایی بر سلامت و محیط زیست و همچنین اثرات مثبت کودهای زیستی بر افزایش عملکرد گیاهان از طرف دیگر، کودهای زیستی به عنوان جایگزین کودهای شیمیایی مطرح می‌باشند. در این مطالعه در نظر است تا استفاده و کاربرد کودهای زیستی متفاوت (نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس و بیوسولفور) و شیمیایی (اوره) بر روی گیاه دارویی نعناع فلفلی بررسی و امکان جایگزینی کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال زراعی ۱۳۸۹ – ۱۳۸۸ در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی واقع در منطقه هلجرد کرج با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ٥٦ دقیقه، عرض جغرافیایی ٣٦ درجه و ۳۵ دقیقه و ارتفاع از سطح دریا ١٤٢٦ متر، واقع در منطقه هلجرد کرج به منظور ارزیابی کودهای زیستی نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس، بیوسولفور و کود شیمیایی اوره $(NH_2)_2CO$ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) (Randomized complete block design) اجرا شد.

عملیات زراعی

در اواخر تابستان ۱۳۸۸، قطعه‌ای از مزرعه پس از انتخاب دوبار شخم و توسط نیروی کارگری ماهر برای کشت آماده شد. نشاءهای هم‌شکل و هم‌اندازه حاصل از کشت خزانه برای کاشت در مزرعه از گروه پژوهشی کشت و توسعه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی تهیه و در ۵ مهرماه سال ۱۳۸۸ در قطعه زمین طرح کشت شدند. ابعاد کرت‌های آزمایش برابر ۳/۵ × ۳ متر، فاصله بین کرت‌ها ۱ متر و فاصله بین بوته‌ها ۳۰ × ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. قبل از کاشت نعناع فلفلی، از عمق ۳۰ – ۰ سانتی‌متری خاک مزرعه جهت انجام تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه برداری شد (جدول شماره ۱). مزرعه بر حسب نیاز به طور منظم آبیاری و وضعیت بوته‌ها در حد مطلوب حفظ شدند. سایر عملیات زراعی بر اساس نیاز مزرعه انجام شد [۲۹].

تیمارهای آزمایش

تیمارهای کودی آزمایش (کودهای زیستی آزمایش از منبع کودهای شرکت فن‌آوری زیستی مهرآسیا می‌باشد) عبارت از کودهای زیستی نیتروکسین (Nitroxin)، سوپرنیتروپلاس (Super-nitro plus) و بیوسولفور (Bio-sulphur) هرکدام به میزان ٤ و ٨ کیلوگرم در هکتار، کود شیمیایی اوره به میزان ۷۵ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار و تیمار شاهد (عدم مصرف کود اوره و زیستی) بودند.

جدول شماره ۱- مشخصات شیمیایی و فیزیکی خاک مزرعه تحقیقاتی

کلاس بافت خاک	درصد اجزاء			آهک (٪)	ازت کل (درصد)	کربن آلی (درصد)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	فسفر قابل جذب (ppm)	شوری (ds/m)	اسیدیته (pH)	آهن (ppm)	روی (ppm)	گوگرد (ppm)	منگنز (ppm)	مس (ppm)
	رس	سیلت	شن												
سیلتی لومی	١٦	٢٢	٦٢	٨/٥	٠/٠٨	٠/٨٢	٤٩/٨	٣٦/٢	٠/٩٣	٧/٩	٥/٧٤	٠/٦	٦/٣	١١/٢	٠/٧

Archive of SID
www.SID.ir

کود زیستی سوپرنیتروپلاس مجموعه‌ای از گونه‌های مختلف باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن، کنترل کننده عوامل بیماری‌زای خاک‌زی و باکتری‌های محرک رشد (PGPR) شامل *Azospirillum* spp.، *Pseudomonas fiurescens* و *Basillus subtilis* است. غلظت باکتری‌های گروه تثبیت‌کننده ازت و محرک رشد در کود زیستی سوپرنیتروپلاس (Colony-forming unit) (CFU) 10^8 در هر گرم یا میلی‌لیتر می‌باشد. کود زیستی نیتروکسین حاوی مجموعه‌ای از فعال‌ترین سوش‌های باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن از جنس‌های *Azotobacter*، *Azospirillum* و حل‌کننده فسفات از جنس *Pseudomonas* می‌باشد. تعداد هر یک از جنس‌های باکتری در هر میلی‌لیتر نیتروکسین (CFU) 10^8 سلول زنده است. کود زیستی بیوسولفور حاوی مجموعه‌ای از مؤثرترین میکروارگانیزم‌های اکسیدکننده گوگرد می‌باشد. در این تیمار، کود زیستی بیوسولفور با پودر گوگرد (به نسبت ۱:۵۰) در سطح کرت پخش شد [۳۰].

صفات و پارامترهای مورد ارزیابی

در این تحقیق پارامترهای، طول ساقه، وزن تر و خشک ساقه در هکتار، تعداد برگ در هر ساقه، وزن تر و خشک برگ در هر ساقه، وزن تر و خشک برگ در هکتار، درصد اسانس، میزان منتون (درصد)، میزان منتول (درصد) اندازه‌گیری و ارزیابی شدند. همچنین گیاهان برداشت شده در هر مرحله در سایه خشک شدند.

برای اسانس‌گیری، ۳۰ گرم پودر سرشاخه گیاه نعناع فلفلی به طور دقیق توزین کرده و به روش تقطیر با آب (۵۰۰ میلی‌لیتر آب)، اسانس آن با استفاده از کلونجر به مدت ۳ ساعت استخراج شد [۳۱]. اسانس توسط سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری شد و میزان آن برحسب حجمی-وزنی (V/W) گزارش شده است.

اسانس مورد نظر پس از آماده‌سازی به دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC/MS) تزریق شد. شناسایی نوع ترکیبات اسانس با کمک طیف نرمال آلکان‌ها و به دست آوردن شاخص بازداری آنها و مقایسه آن با شاخص بازداری گزارش شده در کتاب Adams و مقایسه طیف جرمی هریک از اجزای اسانس با طیف جرمی موجود در کتابخانه Willy نرم‌افزار GC/MS انجام پذیرفت. همچنین با استفاده از دستگاه GC، درصد ترکیبات اسانس تعیین شد [۳۲].

مشخصات دستگاه GC/MS: دستگاه GC از مدل Agilent 6890 و دستگاه MS از مدل Agilent 5973 با ستونی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی آون به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با شیب حرارتی۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، سپس افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه و سه دقیقه توقف در این دما بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود.

مشخصات دستگاه GC: دستگاه GC از مدل Younglin Acm6000 مجهز به دتکتور FID و ستونی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی آون به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه تا دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه و سه دقیقه توقف در این دما بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های این مطالعه توسط نرم‌افزار SPSS (ver. 17) تجزیه و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده Fisher's protected Least Significant Differences (FLSD) test) در سطوح ۱ و ۵ درصد انجام شد.

www.SID.ir

نتایج

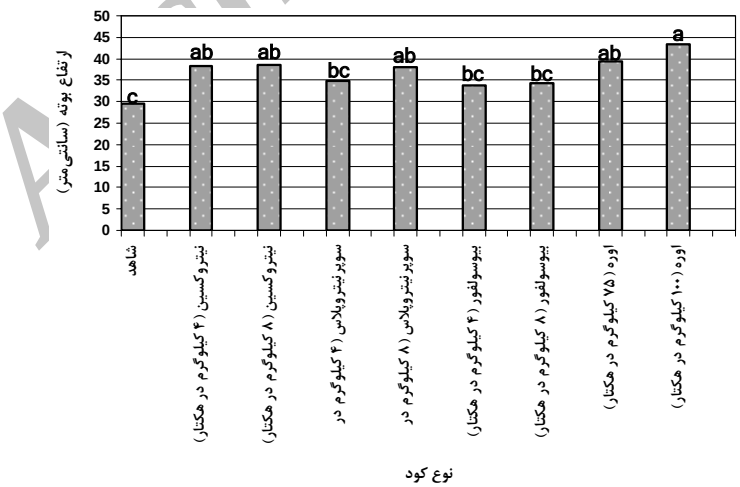
نتایج نشان داد که تیمارهای کودی بر ارتفاع بوته ($p<0/05$) و تعداد برگ در ساقه ($p<0/01$) تاثیر معنی‌داری داشت (جدول شماره ۲). بیشترین مقدار ارتفاع بوته (۴۳/۴ سانتی‌متر) در تیمار کود اوره ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به دست آمد که از نظر آماری با تیمارهای کود اوره ۷۵ کیلوگرم در هکتار، کود زیستی نیتروکسین ۴ و ۸ کیلوگرم در هکتار و سوپرنیتروپلاس ۸ کیلوگرم در هکتار تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل شماره ۱).

بیشترین تعداد برگ در ساقه (۴۸/۸ عدد) نیز در تیمار کود اوره ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به دست آمد که از نظر آماری با تیمارهای کود اوره ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کودهای زیستی نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس و بیوسولفور ۸ کیلوگرم در هکتار تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل شماره ۴). کمترین ارتفاع بوته (۲۹/۷ سانتی‌متر) و تعداد برگ در ساقه (۲۷ عدد) در تیمار شاهد (عدم مصرف کود) مشاهده شد (شکل‌های شماره ۱ و ۴). به هر حال، کود شیمیایی اوره و مقادیر بالاتر کودهای زیستی (۸ کیلوگرم در هکتار) به طور معنی‌داری باعث افزایش ارتفاع بوته و تعداد برگ در ساقه نسبت به تیمار شاهد شده‌اند (شکل‌های شماره ۱ و ۴).

جدول شماره ۲- تجزیه واریانس (ANOVA) میانگین مربعات ویژگی‌های مورفولوژیکی، زراعی و فیتوشیمیایی نعناع فلفلی

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (D.F)	طول ساقه	وزن تر ساقه در هکتار	وزن خشک ساقه در هکتار	تعداد برگ در ساقه	وزن تر برگ در ساقه	وزن خشک برگ در ساقه	وزن تر برگ درهکتار	وزن خشک برگ در هکتار	مقدار اسانس	مقدار متون	مقدار متنول
تکرار (R)	۲	٦٥/٦١١	١٦٠٨١٨/٩٤	١٤٥١٠/٢٥	٤/٢١	٢/٨٦	٠/٢٧	٣٧٤٧٥٩/٨٩	٢١٦٢٦/٧٧	٠/٠٠٨	٨/٢٩	١٥/٠٠٤
نوع کود (T)	٨	٤٧/٩٢٢*	٢٢٠٤٤٧٣/٧٣*	١٣٧٠٤٤/٥٧*	١٤٧/٩٠**	١٣/٥١**	٠/٦٤**	١٣٢١٠٩١/٦٤n.s	١٨٥٣٣٥/٠٠٣*	٠/١٨**	١٠/٠١*	٣٦/٣٦**
خطای آزمایش (Error)	١٦	١٦/٧٦٩	٧٦٥٥٦٤/٥٥	٤٨٧٤٩/٦٠	١١/٨٦	١/٨٠	٠/٠٧	٥١٣٨٠٤/٧٠	٥٠٠١٠/٧٢	٠/٠٢	٣/٠٢	٥/٩٠
ضریب تغییرات (%C.V)	---	١١/١٦	١١/٨٨	١١/٤٥	٨/٣١	٩/١١	٨/٦٧	٨/٢٧	٩/٠٠٣	٥/٣٣	١٠/٤٥	٧/٤٩

*، ** و n.s به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار و غیرمعنی‌داری می‌باشند.



شکل شماره ۱- مقایسه میانگین ارتفاع بوته براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح ۵ درصد

Archive of SID
www.SID.ir

تیمارهای کودی بر عملکرد کمی گیاه شامل وزن تر و خشک ساقه در هکتار ($p<0/05$)، وزن تر و خشک برگ در ساقه ($p<0/01$) و وزن خشک برگ در هکتار ($p<0/05$) تاثیر معنی‌داری داشت. بیشترین میزان عملکرد کمی برای پارامترهای وزن تر (۸۲۸۲/۳ کیلوگرم) و خشک (۲۱۶۷/۷ کیلوگرم) ساقه در هکتار، وزن تر (۱۷/۵ گرم) و خشک (۳/۷ گرم) برگ در ساقه و وزن خشک برگ در هکتار (۲۷٦٦/۰٤ کیلوگرم) در تیمار کود اوره ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار و کمترین آن نیز در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل‌های شماره ۲، ۳، ۵، ٦ و ۷). وزن تر و خشک ساقه در هکتار در تیمارهای کود اوره ۷۵ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار از نظر آماری با تیمارهای کودهای زیستی نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس و بیوسولفور ۸ کیلوگرم در هکتار تفاوتی نداشتند (شکل‌های شماره ۲ و ۳). همچنین مقایسه میانگین‌ها برای وزن تر و خشک برگ در ساقه نشان دادند که بین تیمارهای کود اوره ۷۵ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار با تیمارهای کودهای زیستی نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس ۸ کیلوگرم در هکتار تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. از سوی دیگر تیمارهای شاهد، سوپرنیتروپلاس و بیوسولفور ٤ کیلوگرم در هکتار نیز از نظر این صفات تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (شکل‌های شماره ۵ و ٦). میانگین وزن خشک برگ در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار و تیمارهای کود زیستی نیتروکسین ٤ و ۸ کیلوگرم در هکتار، سوپرنیتروپلاس و بیوسولفور ۸ کیلوگرم در هکتار به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند (شکل شماره ۷).

تیمارهای کودی بر عملکرد کیفی گیاه شامل درصد اسانس ($p<0/01$)، منتون ($p<0/05$) و منتول ($p<0/01$) تاثیر معنی‌داری داشتند (جدول شماره ۲). بیشترین میزان اسانس ماده خشک (۲/۱ درصد) در تیمار کود اوره ۷۵ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به دست آمد که با تیمار نیتروکسین ۸ کیلوگرم در هکتار در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل شماره ۸). بیشترین درصد منتون (۲۰/۱۳ درصد) و منتول (۳۵/۳۳ درصد) اسانس نیز در تیمار کود اوره ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار مشاهده شد که با تیمار ۷۵ کیلوگرم اوره تفاوتی نداشت (شکل‌های شماره ۹ و ۱۰). همچنین کمترین میزان اسانس، منتون و منتول در تیمار شاهد (بدون کود) مشاهده شد (شکل‌های شماره ۸،۹،۱۰).

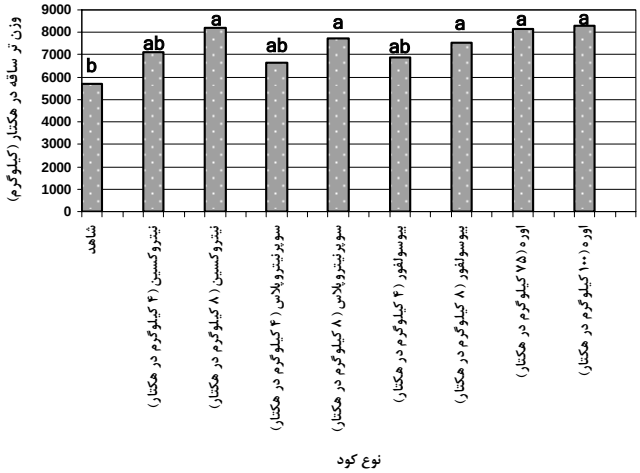
بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که کود اوره و کودهای زیستی به ویژه نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری سبب افزایش ارتفاع بوته و تعداد برگ در ساقه نعناع فلفلی شده‌اند (جدول شماره ۲ و شکل‌های شماره ۱ و ٤) که می‌تواند ناشی از افزایش جذب نیتروژن باشد زیرا این عنصر با تاثیر بر فرآیند فتوسنتز و تقسیم سلولی منجر به ازدیاد رشد رویشی و سطح سبز گیاه می‌شود [۳۳]. اثر مفید کود اوره و کود زیستی بر ارتفاع بوته توسط سوافی و همکاران [۲۸] روی گیاه نعناع فلفلی و بدران و سوافی [۳٤] روی گیاه رازیانه گزارش شده است. همچنین غریب و همکاران [۳۵] گزارش کردند که ترکیب کود حاوی آزوسپیریلیوم، ازتوباکتر و باسیلوس باعث افزایش ارتفاع بوته گیاه مرزنگوش (*Majorana hortensis* L.) شده است. سلیمان و باژوا [۳٦] تاثیر کود زیستی سودوموناس بر گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) را بررسی کرده و نشان دادند که رشد رویشی گیاه در تیمار کود زیستی مقایسه با تیمار کود شیمیایی به طور معنی‌داری متفاوت بوده و تعداد برگ‌های گیاه در تیمار کود زیستی افزایش یافته است.

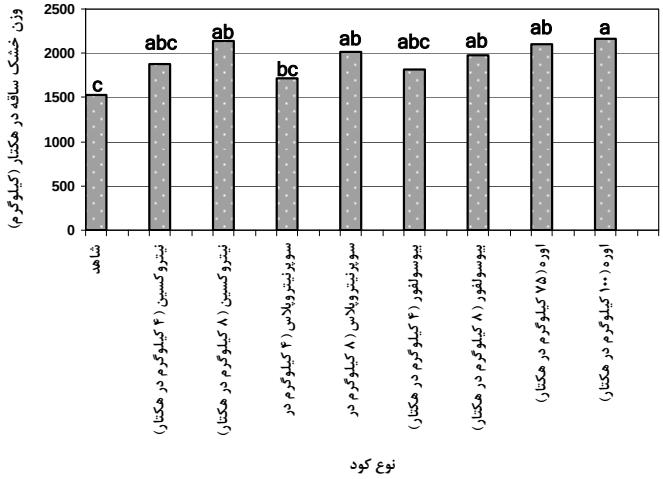
نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد کودهای زیستی و کود اوره باعث افزایش قابل توجه و معنی‌دار وزن تر و خشک برگ و ساقه گیاه نعناع فلفلی نسبت به تیمار شاهد (بدون کود) شده است. این نتایج می‌تواند ناشی از اثر کاربرد باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن باشد که با تولید مقادیر مناسب مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه مانند اکسین، جیبرلین، سیتوکینین و ویتامین‌های گروه B، ظرفیت ریشه‌زایی گیاه و جذب مواد غذایی از خاک را بهبود بخشیده و در نتیجه میزان نیتروژن و فسفر را در برگ‌ها افزایش داده است [۲۱]. در طی تحقیقاتی اثر مثبت و مفید کودهای زیستی بر عملکرد و اجزای آن توسط عمر و همکاران [۳۷] روی گیاه توت فرنگی، اردوخانی و همکاران [۳۸] روی ریحان، ابوبکر و مصطفی [۳۹] روی چای

Archive of SID
www.SID.ir

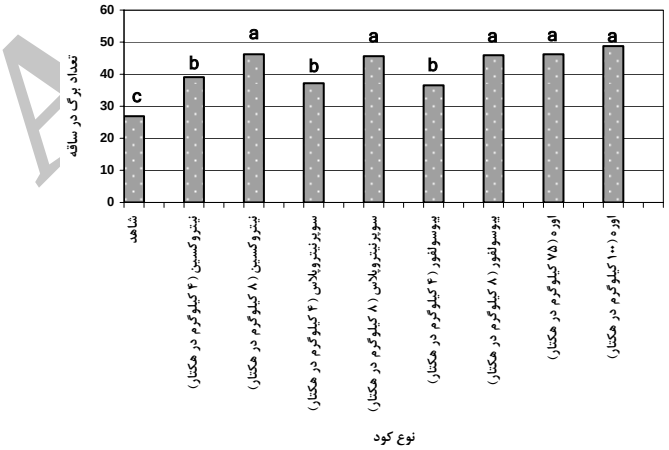
ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.)، داس و همکاران [۲۲] روی استویا (*Stevia rebaudiana*) گزارش شده است.



شکل شماره ۲- مقایسه میانگین وزن تر ساقه براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح ۵ درصد

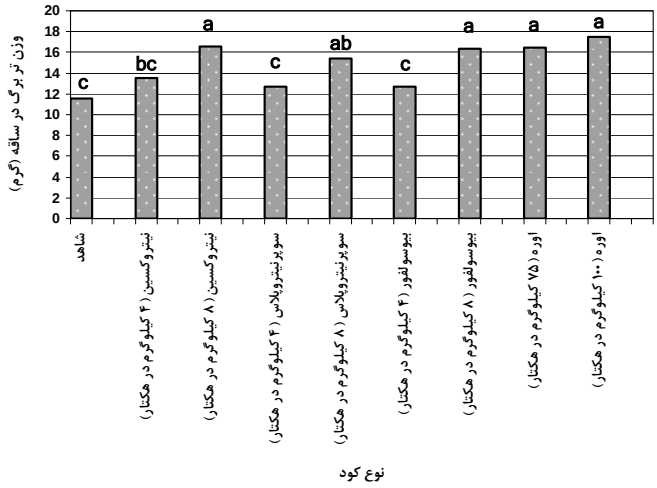


شکل شماره ۳- مقایسه میانگین وزن خشک ساقه براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح ۵ درصد

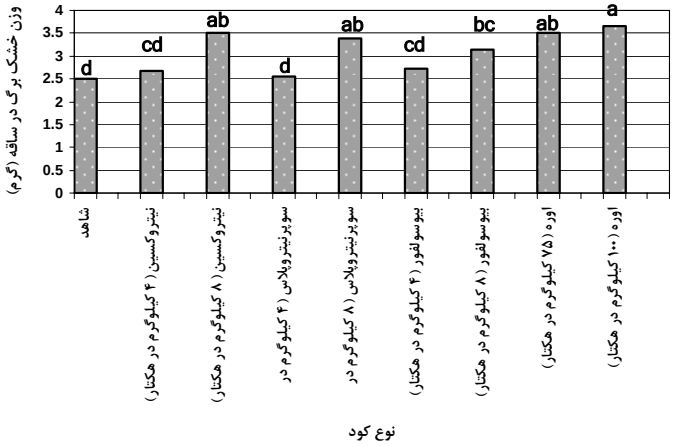


شکل شماره ٤- مقایسه میانگین تعداد برگ ساقه براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح ۱ درصد

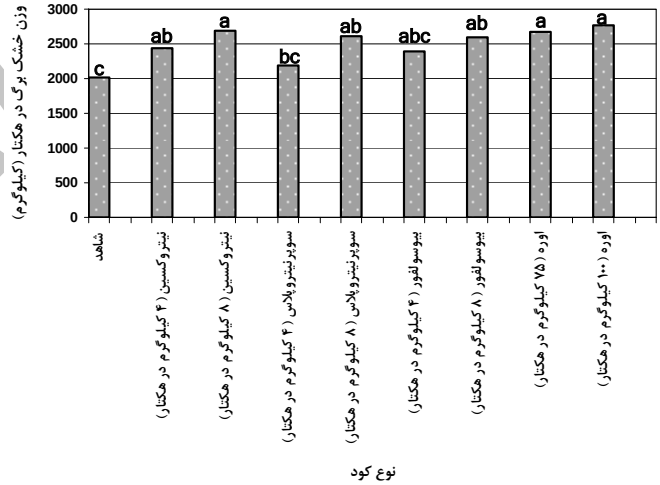
www.SID.ir



شکل شماره ۵- مقایسه میانگین وزن تر برگ ساقه براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح ۱ درصد

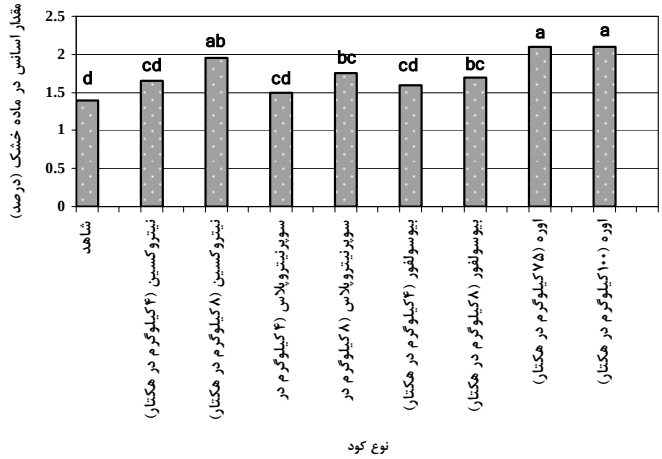


شکل شماره ٦- مقایسه میانگین وزن خشک برگ ساقه براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح ۱ درصد

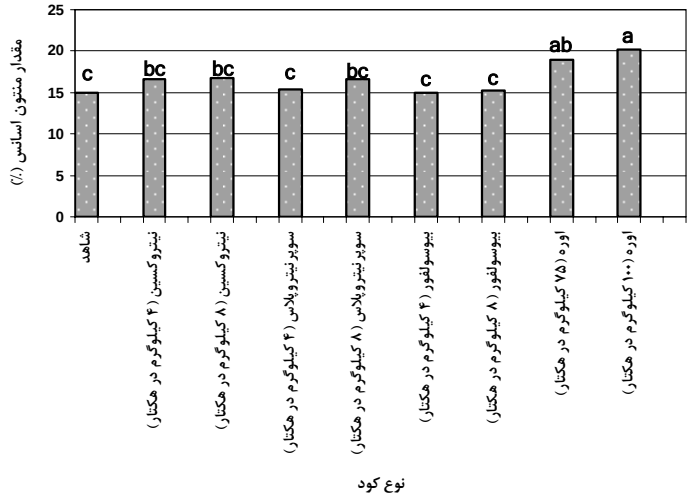


شکل شماره ۷- مقایسه میانگین وزن خشک برگ در هکتار براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح ۵ درصد

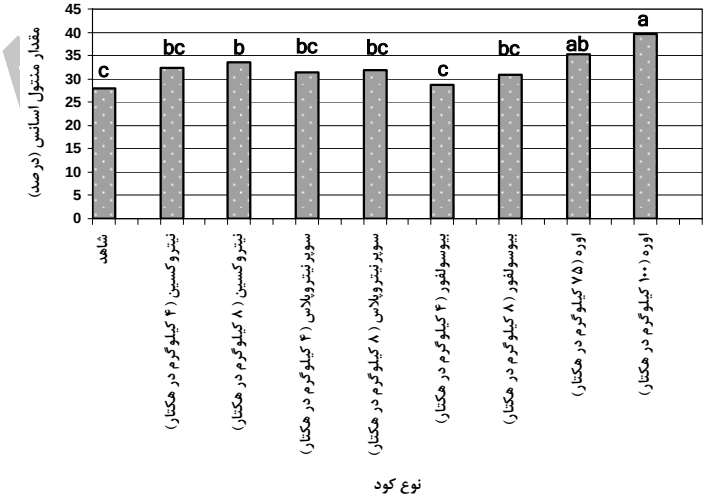
www.SID.ir



شکل شماره ۸- مقایسه میانگین مقدار اسانس براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح ۱ درصد



شکل شماره ۹- مقایسه میانگین مقدار منتون اسانس براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح ۵ درصد



شکل شماره ۱۰- مقایسه میانگین مقدار منتول اسانس براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح ۱ درصد

www.SID.ir

هدف از کشت گیاه نعناع فلفلی، تولید اسانس آن به منظور مصارف مختلف دارویی و بهداشتی می‌باشد، بنابراین اندازه‌گیری صفات کیفی در این گیاه اهمیت ویژه‌ای دارد. نتایج این تحقیق نشان داد تیمارهای کودی بر عملکرد ترکیبات دارویی گیاه شامل میزان اسانس، منتون و منتول تاثیر معنی‌داری داشته و کودهای زیستی به طور معنی‌داری سبب افزایش میزان اسانس، منتون و منتون نسبت به تیمار شاهد شده‌اند (جدول شماره ۲ و شکل‌های شماره ۱۰ – ۸). به عبارت دیگر این تحقیق نشان داد که کودهای زیستی ضمن حفاظت از محیط زیست و تامین سلامت بشر و با هزینه کمتر قدرت رقابت با کودهای شیمیایی را دارا می‌باشند. در این راستا، قبلاً کالرا [٤٠] گزارش کرد که درصد اسانس در گیاه دارویی نعناع فلفلی در تیمار ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم با تیمار کاربرد کودهای شیمیایی برابری می‌کند. فلاحی و همکاران [٤١] اثر کودهای زیستی بر گیاه بابونه آلمانی را بررسی و گزارش کردند که بیشترین عملکرد اسانس و کامازولن در تیمارهای نیتروکسین و باکتری حل کننده فسفات به دست آمد. در پژوهش دیگری تاثیر مثبت باکتری‌های محرک رشد بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سنتز لیکوپن گوجه‌فرنگی تایید شده است [٤٢]. همچنین در تحقیقی بر روی گیاه زعفران مشخص شده است که کاربرد کودهای زیستی سبب افزایش عملکرد کیفی و کمی زعفران می‌شود [٤٣].

به طورکلی نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که کودهای زیستی می‌توانند در کشاورزی پایدار به عنوان جایگزینی مهم برای کودهای شیمیایی در تولید گیاه دارویی نعناع فلفلی مطرح باشند. استفاده از کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی ضمن کاهش هزینه‌های تولید ناشی از مصرف این قبیل کودها، از آسیب وارد کردن به محیط زیست و اکوسیستم‌های زراعی به ویژه در اثر کاربرد نیتروژن به شکل نیترات، جلوگیری می‌نماید.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت معاونت پژوهش و فناوری جهاددانشگاهی و گروه کشت و توسعه در پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی کرج انجام شده است.

منابع

1. Leung AY and Foster S. Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs & Cosmetic. John Wiley & Sons. 1996, pp: 369 - 70.

2. Bupesh G, Amutha C, Nandagopal S, Ganeshumar A, Sureshkumar P and Murali KS. Antibacterial activity of *Mentha piperita* L. (Peppermint) from leaf extracts – a medicinal plant. *Acta Agriculturae Slovenica* 2007; 89 (1): 73 – 9.

3. Singh R, Shushni AM, Belkheir A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian J. Chem*. 2011; 1: 1 - 5.

4. Verma RS, Rahman L, Verma RK, Chauhan A, Yadav A K and Singh A. Essential oil composition of Menthol mint (*Mentha arvensis* L.) and Peppermint (*Mentha piperita* L.) cultivars at different stages of plant growth from Kumaon Region of Western Himalaya. *J. Medicinal and Aromatic Plants* 2010; 1 (1): 13 - 8.

5. Galeottia N, Di Cesare Mannellia L, Mazzantib G, Bartolinia A and Ghelardini C. Menthol: a natural analgesic compound. *Neuroscience Letters* 2002; 322: 145 – 8.

6. Sydney de Sousa A, Soares PMG, Saldanha de Almeida A N, Rufino Maia A, Prata de Souza E and Sampaio Assreuy AN. Antispasmodic effect of *Mentha piperita* essential oil on tracheal smooth muscle of rats. *J. Ethnopharmacol*. 2010; 130: 433 – 6.

7. Akdogan M, Ozguner M, Kocak A, Oncu M and Cicek. Effects of peppermint teas on plasma testosterone, follicle-stimulating hormone, and

Archive of SID
www.SID.ir

luteinizing hormone levels and testicular tissue in rats. *Urology* 2004; 64 (2): 394 - 8.

8. Mimica-Dukic N and Bozin B,. Mentha L. species (*Lamiaceae*) as promising sources of bioactive secondary metabolites. *Curr. Pharm. Des*. 2008; 14: 3141 – 50.

9. Capecka E, Mareczek A, Leja M. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. *Food Chem*. 2005; 93: 223 – 6.

10. Kumar A, Samarth, R. M and Yasmeen S. Anticancer and radioprotective potentials of *Mentha piperita* L. *BioFactors*. 2004; 22 (1-4): 87 - 91.

11. Tarhan S, Telci I, Tuncay M T and Polatci H. Product quality and energy consumption when drying peppermint by rotary drum dryer. *Industrial Crops and Products* 2010; 32: 420 – 7.

12. Maffei M and Mucciarelli M. Essential oil yield in peppermint/soybean strip intercropping. *Field Crops Res*. 2003; 84: 229 – 40.

13. Valmorbida J and Boaro CSF. Growth and development of *Mentha piperita* L. in nutrient solution as affected by rates of potassium. *Brazilian Archives of Biology and Technol*. 2007; 50 (3): 379 - 84.

14. Yazdani D, Jamshidi AH and Mogab F. Comparison on menthol content of cultivated peppermint at different regions of Iran. *J. Medicinal Plants* 2002; 1 (3): 73 - 7.

15. McKay DL and Blumberg JB. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Res*. 2006; 20 (8): 619 - 33.

16. Schmidt E, Bail S, Buchbauer G, Stoilova I, Atanasova T, Stoyanova A, Krastanov A, and Jirovetz L. Chemical composition, olfactory evaluation and antioxidant effects of essential oil from *Mentha piperita* L. *Nat Prod Commun* 2009; 4 (8): 1107 - 12.

17. Dai J, Orsat V, Raghavan GS V and Yaylayan V. Investigation of various factors for the extraction of peppermint (*Mentha piperita* L.) leaves. *J. Food Engineering* 2010; 96: 540 – 3.

18. Vessey JK. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*. 2003; 255: 571 - 86.

19. Han H, Supanjani K, and Lee D. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant Soil Environ* 2006; 52 (3): 130 - 6.

20. Hayat R, Ali S, Amara U, Khalid R and Ahmed I. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiol*. 2010; 60 (4): 579 - 98.

21. Eid RA, Abo-Sedera SA and Attia M. Influence of Nitrogen Fixing Bacteria Incorporation with Organic and/or Inorganic Nitrogen Fertilizers on Growth, Flower Yield and Chemical Composition of *Celosia argenta* . *World J. Agriculture Sci*. 2006; 2 (4): 450 - 8.

22. Das K, Dang R and Shivananda TN. Influence of bio-fertilizers on the availability of nutrients (N, P and K) in soil in relation to growth and yield of *Stevia rebaudiana* grown in South India. *International Journal of Applied Research in Natural Products* 2008; 1 (1): 20 – 4.

23. Rouzbeh R, Daneshian J and Aliabadi Farahani H. Super nitro plus influence on yield and yield components of two wheat cultivars under NPK fertilizer application. *J. Plant Breeding and Crop Sci*. 2009; 1 (8): 293 - 7.

24. Azzaz NA, Hassan EA and Hamad EH. 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 Sci*. 2009; 3 (2): 579 - 87.

25. Mahfouz S A and Sharaf-Eldin M A. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Int. Agrophysics*. 2007; 21: 361 - 6.

26. Koochaki A, Tabrizi L and Ghorbani R. Effect of biofertilizers on agronomic and quality criteria of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *J. Iranian Field Crop Res*. 1387; 1 (6): 588 - 91.

Archive of SID
www.SID.ir

27. Abd El-Hadi N I M, Abo El-Ala H K and Abd El-Azim W M. Response Of Some Mentha Species To Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) Isolated From Soil Rhizosphere. *Australian J. Basic and Applied Sci*. 2009; 3 (4): 4437 - 48.

28. Swaefy Hend MF, Sake Weaam RA, Sabh AZ and Ragab AA. Effect of some chemical and bio-fertilizers on peppermint plants grown in sandy soil. *Annals Agric. Sci. Ain Shams Univ. Cairo*. 2007; 52 (2): 451 - 63.

29. Omid baigi R. Approaches to Production and Processing of Medicinal Plants. Tarahan nashr. Iran. pp: 179 - 80.

30. Research and Development unite of Mehr Asia Biotechnology. Biofertilizers in fields. Mehr Asia Biotechnology Co. 2011. Available on line in www.asiabiotechnology.org.

31. British Pharmacopoeia. HMSO, London, 1988, pp: 2, A137 – A138.

32. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing. Carol Stream, IL, USA; 2001, pp: 469.

33. Saikia SP, Dutta SP, Goswami A, Bhau BS and Kanjilal PB. Role of Azospirillum in the Improvement of Legumes. *Microbes for Legume Improvement*, 2010; 389 - 408.

34. Badran FS and Safwat MS. Response of fennel plants to organic manure and bio-fertilizers in replacement of chemical fertilization. *Egypt. J. Agric. Res*. 2004; 82 (2): 247 - 56.

35. Gharib FA, Moussa LA and Massoud. Effect of Compost and Bio-fertilizers on Growth, Yield and Essential Oil of Sweet Marjoram (*Majorana hortensis*) Plant. *Int. J. Agri. Biol*. 2008; 10 (4).

36. Suliman R and Bajwa R. Appraisal of two Pseudomonas species as a biofertilizer for sunflower (*Helianthus annuus* L.). *International Journal of Biology and Biotechnol*. 2010; 7 (1, 2): 49 - 52.

37. Umar I, Wali VK, Rehman MU, Mir MM, Banday SA and Bisati IA. Effect of Subabul (Leucaena Leucocephala), Urea and Biofertilizer Application on Growth, Yield and Quality of Strawberry cv. Chandler. *Applied Biological Res*. 2010; 12 (2): 121 - 91.

38. Ordookhani K, Sharafzadeh Sh and Zare M. Influence of PGPR on Growth, Essential Oil and Nutrients Uptake of Sweet Basil. *Advances in Environmental Biol*. 2011; 5 (4): 672 - 7.

39. Abo-Baker AA and Mostafa GG. Effect of Bio-and Chemical Fertilizers on Growth, Sepals Yield and Chemical Composition of *Hibiscus sabdariffa* at New Reclaimed Soil of South Valley Area. *Asian J. Crop Sci*. 2011; 3 (1): 16 - 25.

40. Kalra, A. Organic cultivation of Medicinal and aromatic plants. A hope for sustainability and quality enhancement. *J. Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye-Yielding Plants* (*MADPs*). FAO. 2003, pp: 198.

41. Fallahi J, Koocheki A and Rezvani Moghaddam P. Effects of biofertilizers on quantitative and qualitative yield of chamomile (*Matricaria recutita*) as a medicinal plant. *Iranian J. Field Crops Res*. 2009; 7 (1): 127 - 35.

42. Ordookhani K, Khavazi K, Moezzi A and Rejali F. Influence of PGPR and AMF on antioxidant activity, lycopene and potassium contents in tomato. *African J. Agricultural Res*. 2010; 5 (10): 1108 - 16.

43. Omidi H, NaghdiBadi H, Golzad A, Torabi H, and Footoukian MH. The effect of chemical and bio-fertilizer source of nitrogen on qualitative and quantitative yield of Saffron (*Crocus sativus* L.). *J. Medicinal Plants* 2009; 8 (30): 98 - 109.

Archive of SID

www.SID.ir