



## تأثیر کودهای بیولوژیک نیتروکسین و تیوباسیلوس بر صفات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

عزیزاله خیری<sup>۱</sup>، رقیه باباخانی<sup>۲</sup>، محسن ثانی‌خانی<sup>۳</sup>، فرهنگ رضوی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۳۰

### چکیده

نعناع فلفلی یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی است که به صورت گسترده در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به منظور بررسی اثرات کودهای بیولوژیک نیتروکسین و تیوباسیلوس بر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی نعناع فلفلی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان با ۱۶ تیمار و ۳ تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل نیتروکسین در ۴ سطح ( $0$ ،  $2$ ،  $4$ ،  $6 \text{ L.ha}^{-1}$ ) و تیوباسیلوس نیز در ۴ سطح ( $0$ ،  $4$ ،  $6$ ،  $8 \text{ kg.ha}^{-1}$ ) به همراه کود گوگرد به میزان  $300 \text{ kg.ha}^{-1}$  بود. صفات مورد ارزیابی شامل عرض برگ، طول برگ، میزان کلروفیل، طول ساقه، تعداد شاخه‌ها، تعداد گل آذین، طول گل آذین، قطر ساقه، سطح برگ، غده‌های ترش‌چی، وزن تر و درصد اسانس بود. نتایج نشان داد که حداکثر شاخص سطح برگ، عرض برگ، طول برگ، تعداد شاخه، تعداد غده ترش‌چی و درصد اسانس در تیمار ۶ کیلوگرم در هکتار تیوباسیلوس و ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین به دست آمد. حداکثر تعداد گل آذین در تیمار ۴ لیتر در هکتار نیتروکسین و ارتفاع گل آذین در تیمار ۴ کیلوگرم در هکتار تیوباسیلوس به همراه ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین به دست آمد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق به نظر می‌رسد که تیمار ۶ کیلوگرم در هکتار تیوباسیلوس به همراه ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین می‌تواند برای افزایش عملکرد و میزان اسانس این گیاه دارویی پیشنهاد شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، عملکرد، کود زیستی، نعناع فلفلی

خیری، ع.، ر. باباخانی، م. ثانی‌خانی و ف. رضوی. ۱۳۹۷. تأثیر کودهای بیولوژیک نیتروکسین و تیوباسیلوس بر صفات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.). مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ۳۳-۴۲-۳۴.

۱- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران- مسئول مکاتبات. پست الکترونیک: [kheiry@znu.ac.ir](mailto:kheiry@znu.ac.ir)

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

## مقدمه

تیوباسیلوس نقش مهمی ایفا می‌کنند (تیت، ۱۹۹۵). بسیاری از محققین نیز گزارش کرده‌اند که بخش عمده‌ای از خاک‌های کشور ما با مشکل آهکی بودن و pH بالا مواجه می‌باشد، این باکتری‌ها با اکسیداسیون گوگرد و تولید اسید سولفوریک باعث کاهش pH خاک و افزایش دسترسی فسفر و عناصر کم‌مصرف می‌شوند (خاوازی و همکاران، ۲۰۰۱). کوچکی و همکاران (۲۰۰۸) در آزمایشی روی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*)، در مجموع نشان دادند که کاربرد کودهای بیولوژیک نقش مفید و مؤثری در بهبود ویژگی‌های رشد، عملکرد اندام‌های هوایی و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا دارد. در برخی منابع به تأثیر مثبت کودهای بیولوژیک در رشد گیاه دارویی آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) (ویتال و همکاران، ۲۰۰۲) و اکلیل کوهی (*Rosmarinus officinalis*) (عبدالعزیز و همکاران، ۲۰۰۷) اشاره شده است. لذا هدف از این پژوهش بررسی برهمکنش دو کود زیستی نیتروکسین و تیوباسیلوس و همچنین یافتن تلفیقی مناسب از این کودها بر جذب عناصر غذایی به منظور افزایش عملکرد و اسانس گیاه دارویی نعنای فلفلی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۶ تیمار و ۳ تکرار در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان با ارتفاع ۱۶۶۳ متر از سطح دریا، عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۲۵ دقیقه و طول جغرافیایی ۴۷ درجه و یک دقیقه انجام شد. قبل از انجام آزمایش، از خاک زمین نمونه برداری تصادفی انجام گرفت که نتایج آنالیز این خاک در جدول ۱ آمده است.

نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. از خانواده نعنائیان و جزء گیاهان دارویی ارزشمندی است که در طب گیاهی، صنایع غذایی، دارویی و همچنین در صنعت آرایشی و بهداشتی، به دلیل داشتن مواد مؤثره ارزشمند، از اهمیت خاصی برخوردار است (امید بیگی، ۱۳۸۸). با توجه به اهمیت نقش گیاهان دارویی در صنایع مختلف، نکته حائز اهمیت در تولید و پرورش این گونه‌های ارزشمند، افزایش تولید زیست توده آن‌ها بدون کاربرد نهاده‌های مضر شیمیایی می‌باشد (عبدالجلیل و همکاران، ۲۰۰۷). استفاده از ریز جانداران مؤثر در خاک به شکل کودهای بیولوژیک می‌تواند جایگزینی برای این نهاده‌های شیمیایی باشد (آزتورک و همکاران، ۲۰۰۳). کودهای بیولوژیک شامل میکروارگانیسم‌ها و متابولیت آن‌ها می‌باشند که قادر به بالا بردن حاصلخیزی خاک، افزایش رشد گیاه و عملکرد محصول هستند. همچنین این میکروارگانیسم‌ها قادر به آماده سازی عناصر مغذی از حالت غیر قابل جذب به قابل جذب در طی فرآیند بیولوژیک می‌باشند (شارما، ۲۰۰۲). این باکتری‌ها از طریق تولید مواد شبه هورمونی، مواد غذایی را برای گیاه فراهم می‌کنند (ویولنت و پوتوگل، ۲۰۰۷). کود زیستی نیتروکسین از جمله کودهای زیستی است که حاوی باکتری‌های محرک رشد و تثبیت کننده نیتروژن از جنس ازوتوباکتر و آزوسپریلیوم می‌باشد. ازتوباکتر و آزوسپریلیوم در محیط ریشه گیاه توانایی ساخت و ترشح مواد بیولوژیکی فعال مانند اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتینیک، بیوتین، ویتامین‌های B، اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و غیره را داشته که در افزایش رشد ریشه نقش مفید و مؤثری دارند (اکبری و همکاران، ۱۳۸۹). از طرفی طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها قادر به اکسایش گوگرد در محیط هستند که از بین آن‌ها فقط باکتری‌های هتروتروف، به ویژه جنس

جدول ۱- خصوصیات خاک محل آزمایش

ماده آلی (%)	هدایت الکتریکی (ds/m)	pH	آهک (%)	رس (%)	سیلت (%)	شن (%)	نیتروژن (%)	فسفر (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)	منیزیم (meq/l)	کلسیم (meq/l)
۱/۲۸	۲	۸/۳۲	۷/۲	۳۳	۲۷	۴۰	۰/۰۹	۱۹/۶۶	۲۸۱	۱/۲	۲/۳

بجز تیمارهای کودی به زمین اعمال نشده و از مرحله کاشت تا برداشت هیچگونه آفات و بیماری در این گیاه مشاهده نشد. ۴۵

نشاهای نعنای فلفلی در ۱۴ خرداد ماه به زمین مورد نظر انتقال داده شده و آبیاری ۳ روز در میان انجام گرفت. هیچ کودی

افزایش توسعه ریشه و بیشتر بودن قابلیت دسترسی ریشه‌های گیاه به عناصر غذایی باشد (بادگاری و برزگر، ۱۳۸۹). محققین افزایش ارتفاع گیاه در نتیجه کاربرد کودهای بیولوژیکی را ناشی از سنتز و ترشح مواد محرک رشد گیاه نظیر انواع هورمون‌های تنظیم کننده رشد مانند اکسین‌ها، ترشح اسیدهای آمینه مختلف، انواع آنتی بیوتیک‌ها، سیانید هیدروژن و سیدروفور می‌دانند که با تحریک رشد گیاه و افزایش طول میانگره در نهایت باعث افزایش ارتفاع گیاه می‌شوند (تیلاک و همکاران، ۲۰۰۵). احمد و جابین (۲۰۰۹) افزایش معنی‌داری در صفات رویشی مانند ارتفاع بوته و قطر ساقه آفتابگردان در نتیجه‌ی کاربرد کودهای زیستی مشاهده کردند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

نتایج حاصل از جدول مقایسه میانگین مربوط به تیمارهای کودی نشان داد بیشترین طول برگ (۳/۹۲ سانتیمتر)، عرض برگ (۲/۲۴ سانتیمتر) و سطح برگ (۵۹۲/۸۳ سانتیمترمربع) در تیمارهای کودی ۶ کیلوگرم در هکتار تیوباسیلوس و ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین و کم‌ترین سطح برگ (۲۱۶/۱۳ سانتیمترمربع) در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۳). کم‌ترین و بیشترین وزن تر به ترتیب در تیمارهای شاهد (عدم مصرف کود) و ۴ کیلوگرم در هکتار تیوباسیلوس به همراه ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین مشاهده شد که با شاهد تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۳). افزایش سطح برگ و طول و عرض برگ را می‌توان چنین توجیه کرد که کودهای بیولوژیکی باعث افزایش جذب عناصری مانند نیتروژن می‌شوند که افزایش نیتروژن باعث افزایش پروتوپلاسم و تقسیم سلولی در نتیجه اندازه سلول و سطح برگ شده و در نهایت با بالا رفتن فعالیت فتوسنتزی، رشد رویشی را در گیاه تشدید می‌کند (ساکیا و همکاران، ۲۰۱۰) که به دنبال افزایش رشد رویشی وزن تر نیز بالا می‌رود (رضایی چپانه و همکاران، ۱۳۹۳).

سخنگوی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که عملکرد بیولوژیکی گیاه شوید در تیمارهای از تو باکتر و آزوسپیریولوم افزایش یافت.

بر اساس جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴)، بیشترین تعداد گل‌آذین (۸۴/۹ عدد) در تیمار ۴ لیتر در هکتار نیتروکسین مشاهده شد و با افزایش سطح کودی به ۶ لیتر، میزان این شاخص کاهش پیدا کرد.

روز بعد از کشت و استقرار گیاه، تیمارها اعمال گردید. تیمارهای آزمایشی شامل نیتروکسین در چهار سطح ( $0, 2, 4, 6 \text{ L.ha}^{-1}$ ) و تیوباسیلوس ( $0, 4, 6, 8 \text{ kg.ha}^{-1}$ ) به همراه  $300 \text{ kg.ha}^{-1}$  گوگرد بود. در ابتدا کود تیوباسیلوس به توصیه شرکت سازنده، با گوگرد ( $300 \text{ kg.ha}^{-1}$ ) مخلوط شده و به صورت شیار پای بوته‌ها داده شد و بعد از ۱۰ روز کود نیتروکسین به صورت سرک اعمال گردید. برداشت نمونه‌های گیاهی در مرحله گلدهی گیاه (نیمه دوم شهریور ماه) صورت گرفت. شاخص‌های مورد ارزیابی شامل صفات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی بود. برای اندازه‌گیری درصد اسانس از هر تیمار ۱۰۰ گرم نمونه خشک در دستگاه کلونجر<sup>۱</sup> قرار گرفت و به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب انجام شد (جایمند و رضایی، ۱۳۸۳). اندازه‌گیری ارتفاع گیاه، ارتفاع گل‌آذین، عرض و طول برگ و قطر ساقه توسط دستگاه کولیس و وزن تر توسط ترازوی دیجیتالی انجام شد. برای شمارش تعداد غده‌های ترشحی یک سانتی‌متر مربع از قسمت میانی برگ جدا کرده و در زیر میکروسکوپ OLYMPUS-مدل CX31-RBCFA مشاهده و ثبت گردید. سطح برگ توسط دستگاه (Leaf area meter) مدل VM-900E/K بر حسب سانتی‌متر مربع اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل نیز از روش آرنون (آرنون، ۱۹۶۷) استفاده گردید. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS V9 انجام شد. میانگین صفات مورد مطالعه نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد مقایسه قرار گرفت.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱ و ۲) نشان داد که اثرات متقابل بین تیمارهای کودی (نیتروکسین و تیوباسیلوس) در تمام شاخص‌های مورد مطالعه در نعنای فلفلی معنی‌دار بود. به طوری که بیشترین مقدار ارتفاع بوته با میانگین ۸۸ سانتیمتر در تیمار ۴ کیلوگرم در هکتار کود تیوباسیلوس به همراه ۲ لیتر در هکتار کود نیتروکسین و کم‌ترین ارتفاع بوته با میانگین  $63/52$  سانتیمتر (جدول ۳) بیشترین قطر ساقه با میانگین  $4/46$  میلی‌متر در تیمار ۴ کیلوگرم در هکتار تیوباسیلوس به دست آمد و کم‌ترین قطر ساقه با میانگین  $2/35$  میلی‌متر در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۴). بنابراین کودهای زیستی به طور معنی‌داری باعث افزایش طول بوته و قطر ساقه نسبت به تیمار شاهد شده‌اند. علت بالا بودن ارتفاع بوته در تیمارهای تلفیقی می‌تواند به دلیل

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات تیوباسیلوس و نیتروکسین بر برخی صفات گیاه نمناع فلفلی

منابع تغییرات	درجه آزادی	سطح برگ	قطرساقه	ارتفاع بوته	عرض برگ	طول برگ	تعداد شاخه	وزن تر
تکرار	۲	۷/۶۴ns	ns۰/۰۰۷	*۲/۸۵	ns۰/۰۰۱	ns۰/۰۰۹	ns۰/۱	ns۴۱۴/۲۵
تیوباسیلوس	۳	۶۸۵۰۷/۶۵**	*۱/۴۳	**۲۵۱/۷۸	**۰/۰۲	*۰/۱۵	**۱۶/۲۱	**۸۳۹۰۶/۵
نیتروکسین	۳	۹۳۵۹/۵۱ **	**۰/۱۶	**۹۳/۶۶	**۰/۱۴	*۰/۱۳	**۱/۵۸	**۷۵۹۹۴/۵
نیتروکسین * تیوباسیلوس	۹	**۲۴۴۰۱/۰۳	**۰/۷۱	**۱۴۲/۶	**۰/۰۸	*۰/۰۸	**۳/۳۸	**۳۰۳۶۸۰۳
خطا	۴۷	۱۰۵/۵۴	۰/۰۰۷	۰/۸۳	۰/۰۰۱	۰/۰۳	۰/۰۴	۲۵۲/۴
ضریب تغییرات	-	۲/۳۶	۲/۵۶	۱/۲	۲/۱۳	۵/۳۵	۳/۹	۲/۷۲

\*\* معنی دار در سطح ۱ درصد \* معنی دار در سطح ۵ درصد ns عدم معنی داری

جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات تیوباسیلوس و نیتروکسین بر برخی صفات گیاه نمناع فلفلی

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع گل آذین	تعداد گل آذین	غده ترشخی	درصد اسانس	محتوای کلروفیل
تکرار	۲	ns۰/۱۳	ns۰/۰۰۸	ns۸۰/۵۸	*۰/۰۶	ns۰/۰۰۹
تیوباسیلوس	۳	**۰/۵۱	**۲۸/۳۹	**۱۱۳۵/۲۰	**۱/۴۸	**۰/۹۸
نیتروکسین	۳	**۰/۹۴	**۱۳۳۸/۲۸	**۱۲۳۰/۵۶	**۱/۱۳	**۰/۱۷
نیتروکسین x تیوباسیلوس	۹	**۱/۰۴	**۵۹۰/۴۷	**۴۰۷/۲۹	**۰/۲۵	**۰/۱۳
خطا	۴۷	۰/۰۶	۰/۳۱	۷۸/۲۷	۰/۰۲	۰/۰۱
ضریب تغییرات	-	۶/۳۱	۱/۱۹	۱۰/۱۲	۵/۰۴	۱/۲۷

\*\* معنی دار در سطح ۱ درصد \* معنی دار در سطح ۵ درصد ns عدم معنی داری

ضعیف‌تر یکی از عوامل کاهش در تولید اجزای رشد زایشی است. بنابراین کودهای زیستی با افزایش جذب نیتروژن و افزایش کارایی این عنصر در فرآیند فتوسنتز و تولید سطح سبز نقش به‌سزایی ایفاء می‌نمایند که سبب افزایش رشد و گل‌دهی و در نتیجه افزایش تعداد گل آذین می‌شود (رضایی چیاپانه و همکاران، ۱۳۹۳).

نتایج حاصل از جدول مقایسه میانگین مربوط به تیمارهای کودی نشان داد بیشترین تعداد غده (۱۱۹/۸۳ عدد) در تیمار ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین به همراه ۶ کیلوگرم در هکتار تیوباسیلوس مشاهده شد. با توجه به نتایج مقایسات میانگین درصد اسانس با افزایش سطوح کودی افزایش پیدا کرده و تحت تیمار ۸ کیلوگرم در هکتار تیوباسیلوس به همراه ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین حداکثر مقدار (۳/۶۹ درصد) را داشت. ضمن اینکه

بیشترین ارتفاع گل آذین (۴/۸۷ سانتی‌متر) در تیمار ۴ کیلوگرم در هکتار تیوباسیلوس مشاهده شد و کم‌ترین تعداد گل-آذین و ارتفاع گل‌آذین در تیمار شاهد مشاهده شد. تیمارهای کودی بر تعداد شاخه‌های جانبی در سطح آماری ۱٪ تاثیر معنی‌داری داشتند (جدول ۱). کم‌ترین و بیشترین تعداد شاخه‌های جانبی به ترتیب در تیمارهای شاهد و ۶ کیلوگرم در هکتار تیوباسیلوس به همراه ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین مشاهده شد که سطوح این دو کود با ۶ کیلوگرم در هکتار تیوباسیلوس تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳). بنابراین کود بیولوژیک تیوباسیلوس مؤثرترین کود در افزایش شاخه‌های جانبی بود. گزارش شده تعداد شاخه جانبی در گیاه بادرنجبویه تحت تاثیر گوگرد و تیوباسیلوس افزایش یافت (یادگاری و برزگر، ۱۳۸۹). عبدالعزیز و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که رشد رویشی

شکل ۱ مشاهده می‌شود تعداد غده‌های ترش‌چی در تیمارهای کودی زیاد بوده که باعث افزایش مقدار اسانس می‌شود.

کم‌ترین مقدار اسانس (۱/۹۵ درصد) و غده‌های ترش‌چی (۵۵ عدد) در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۴). همانطور که در

جدول ۳- مقایسات میانگین اثرات متقابل نیتروکسین و تیوباسیلوس بر برخی صفات نعناع فلفلی

تعداد شاخه	عرض برگ طول برگ (cm)	عرض برگ طول برگ (cm)	طول بوته (mm)	قطر ساقه (mm)	وزن تر بوته (gr)	نیتروکسین سطح برگ (kg/ha)	تیوباسیلوس (L/ha)
h۲/۳۳	bcde۳/۴۶	fg۱/۶۳	j۶۲/۵۳	h۲/۳۵	h۳۰۳/۳۳	j۲۱۶/۱۳	۰
f۴/۰۶	abc۳/۷۰	c۱/۸۸	i۶۸/۵	ef۳/۳۵	f۵۴۹/۳۳	g۳۶۳/۴۰۷	۲
ef۴/۴	bcde۳/۵۴	c۱/۸۵	e۷۷/۸۳	g۳/۱۳	d۶۲۱/۶۷	e۴۲۳/۹۹	۴
c۵/۴۳	abc۳/۷۰	de۱/۷۲	fg۷۳/۲۲	de۳/۴۶	f۵۵۱/۶۷	i۳۱۸/۴۲	۶
g۳/۰۶	abcde۳/۵۸	ef۱/۶۶	b۸۵/۶۱	a۴/۴۶	g۴۷۵	bc۵۰۱/۰۱	۰
d۴/۹۹	bcde۳/۵۰	fg۱/۶۳	a۸۸	b۴/۱۷	bc۶۸۸/۳۳	g۳۷۸/۰۴۷	۲
cd۵/۲۳	abcd۳/۶۶	d۱/۷۶	i۶۸/۴۴	d۳/۵۳	b۶۹۷/۶۷	f۳۹۷/۰۳۰	۴
e۴/۵۲	cde۳/۴۰	d۱/۷۳	gh۷۲/۴۴	de۳/۴۹	a۹۰۵	c۴۸۳/۰۶۳	۶
av/۳۰	de۳/۳۳	h۱/۵۳	e۷۸/۵	c۳/۹۴	d۶۲۱/۶۷	b۵۱۴/۲۳۳	۰
b۶/۳۱	ab۳/۷۸	g۱/۵۹	f۷۴/۴۴	g۳/۰۴	f۵۲۲/۳۳	c۴۹۲/۸۵۳	۲
c۵/۴۳	bcde۳/۴۲	c۱/۸۵	h۷۱	def۳/۴۳	de۵۹۴	d۴۵۵/۸۰۰	۴
av/۶	a۳/۹۲	a۲/۲۴	h۷۰/۸	def۳/۴	c۶۶۸	a۵۹۲/۸۳۲	۶
b۶/۲۳	e۳/۲۵	de۱/۷۳	b۸۵/۸۹	g۳/۰۱	f۵۲۸/۳۳	h۳۴۵/۹۰۲	۰
c۵/۵۲	abcde۳/۵۶	d۱/۷۵	c۸۲/۳۳	c۳/۹۲	g۴۷۱	a۵۷۶/۳۵۳	۲
cd۵/۲	cde۳/۳۴	b۱/۹۴	fg۷۳/۹۴	f۳/۲۸	f۵۳۴/۶۷	b۵۱۸/۵۶۳	۴
d۴/۸۸	de۳/۳۲	d۱/۷۷	d۸۰/۱۱	def۳/۴	e۵۸۱	g۳۷۹/۳۴	۶

\* میانگین‌هایی که با حروف مشترک در هر ستون نشان داده شده‌اند، از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشند.



شکل ۱- غده‌های اپیدرمی گیاه دارویی نعناع فلفلی الف- تیمارهای کودی (نیتروکسین و تیوباسیلوس) ب- تیمار شاهد (عدم استفاده از کود)

بیولوژیک را می‌توان چنین توجیه کرد که اسانس‌ها ترکیبات ترپنوئیدی هستند و واحدهای سازنده آنها نیاز مبرم به ATP و NADPH دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری

در خانواده نعناعیان، ترین‌ها در دامنه وسیعی در غده‌های ترش‌چی تجمع می‌یابند که تجمع آنها باعث افزایش مقدار اسانس گیاه می‌شود. علت افزایش درصد اسانس توسط کودهای

میزان کلروفیل به ترتیب در تیمارهای شاهد (عدم مصرف کود) و ۶ کیلوگرم در هکتار تیوباسیلوس به همراه ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین مشاهده شد که با شاهد تفاوت معنی داری داشت (جدول ۴). در مورد افزایش میزان کلروفیل تحت تأثیر کودهای بیولوژیک نیز می توان گفت که با توجه به این که عناصری مانند نیتروژن نقش اساسی را در ساختار کلروفیل ایفا می کنند بنابراین کودهای بیولوژیک این عناصر را در اختیار گیاه قرار داده و موجب افزایش کلروفیل در گیاه می شوند (اجاقلو و همکاران، ۱۳۸۶). همچنین با توجه به تأثیری که کودهای بیولوژیک در افزایش جذب عناصر غذایی دارند موجب افزایش سطح برگ شده و به دنبال آن میزان کلروفیل و فتوسنتز در گیاه افزایش می یابد. فراهمی عناصر معدنی نظیر آهن، گوگرد، منیزیم و منگنز با کاربرد کودهای بیولوژیک از دیگر دلایل افزایش کلروفیل در برگ می باشد (دینگ و همکاران، ۲۰۰۵، داماتا و همکاران، ۲۰۰۲).

مانند نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب های اخیر ضروری می باشد، از این رو، باکتری های تثبیت کننده نیتروژن در کنار باکتری تیوباسیلوس از طریق کاهش اسیدپته خاک و فراهم نمودن شرایط مناسب جذب عناصر غذایی به خصوص نیتروژن، فسفر و عناصر کم مصرف (آهن، منگنز، روی و مس) موجب افزایش اسانس در گیاهان دارویی می شود (سالار دینی ۱۳۷۴). گیاه یزاده و همکاران (۲۰۱۳) در تحقیق خود دریافتند که درصد اسانس زینان در اثر تلقیح بذر با ازتوباکتر و آزوسپیریوم و محلول پاشی با باکتری مذکور افزایش یافت. همچنین ویسانی و همکاران (۱۳۹۱) گزارش کردند که بیشترین میزان اسانس ریحان از تیمار نیتروکسین به همراه فسفات بارور ۲ حاصل شد. حسین پور و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند که بیشترین عملکرد اسانس آنیسون با کاربرد ۳ لیتر در هکتار ازتوباکتر به دست آمد.

تیمارهای کودی بر میزان کلروفیل در سطح آماری یک درصد تأثیر معنی داری داشتند (جدول ۲) و کم ترین و بیشترین

جدول ۴- مقایسات میانگین اثرات متقابل نیتروکسین و تیوباسیلوس بر برخی صفات نمناع فلفلی

تیوباسیلوس (kg/ha)	نیتروکسین (L/ha)	تعداد گل آذین	غدد ترشچی	درصد اسانس	میزان کلروفیل (mg/grdf)	ارتفاع گل آذین (cm)
۰	۰	m1۵/۵۶	f۵۵	k1۷/۹۵	e۷/۵	g۲/۹
۲	۲	c۵۴/۵۶	de۷۶	j۲/۲۱	e۷/۶	ef۳/۷۳۳
۴	۴	a۸۴/۹	bcda۹	gh۲/۷۶	d۷/۹۲	ab۴/۷۳
۶	۶	k۳۷/۰۳	bc۹۶/۸۳	efg۲/۹۵	cd۸/۰۷	ab۴/۷۵
۰	۰	l۳۲/۸۳	ef۳۳/۳۳	ji۲/۳۷	c۸/۱	a۴/۸۷
۲	۲	d۵۲/۴۶	bc۹۵/۳۳	def۳/۰۳	c۸/۱	bcd۴/۲۸۶
۴	۴	f۴۹/۲۶	cd۸۲/۱۶	hi۲/۶۱	c۸/۱	ef۳/۸۱
۶	۶	g۴۶/۱۳	cd۸۱	gh۲/۷۳	c۸/۱	bcd۴/۳
۰	۰	e۵۰/۸۳	b۱۰۱/۱۶	gh۲/۷۵	c۸/۲	ef۳/۶۵۳
۲	۲	f۴۹/۳۱	cd۸۳/۶۶	ji۲/۴۲	ab۸/۶	ef۳/۵۹
۴	۴	h۴۴/۵۶	bc۹۶	cd۳/۲۳	cd۸/۰۶	abc۴/۵۲
۶	۶	j۳۸/۵	a۱۱۹/۸۳	ab۳/۴۹	a۸/۷	f۳/۵
۰	۰	i۴۲/۶۶	cd۸۳/۸۳	fgh۲/۸۷	c۸/۱	ef۳/۶۵
۲	۲	h۴۳/۶۶	cd۸۳/۱۶	bc۳/۳۶	b۸/۵	cde۴/۰۷
۴	۴	b۶۰/۸۳	bcd۸۹	cde۳/۱۹	b۸/۵	ab۴/۵۹
۶	۶	g۴۵/۶۶	b۱۰۳	a۳/۶۹	c۸/۲	de۴/۰۴

\* میانگین هایی که با حروف مشترک در هر ستون نشان داده شده اند، از نظر آماری معنی دار نمی باشند

بهبود عملکرد و افزایش متابولیت دارویی یعنی اسانس این گیاه شد، علاوه بر این کودهای بیولوژیک مورد استفاده اثرات هم-افزایی بر روی یکدیگر داشته و موجب افزایش عملکرد گیاه نعنای فلفلی در تیمارهای ترکیبی شد. لذا با توجه به اینکه در اکثر زمین‌های کشاورزی با مشکل آهکی بودن خاک مواجه هستیم چنین به نظر می‌رسد که استفاده از کودهای بیولوژیک همراه با گوگرد از طریق کاهش pH خاک توانسته به افزایش جذب مواد غذایی کمک نماید. لذا می‌توان در راستای رسیدن به کشاورزی پایدار و تولید ارگانیک و سالم این گیاه دارویی ارزشمند به جای استفاده از کودهای شیمیایی، از کودهای بیولوژیک سازگار با محیط زیست استفاده نمود.

تیوباسیلوس با استفاده از گوگرد و تبدیل آن به سولفات موجب افزایش دسترسی به گوگرد و دیگر عناصر غذایی وابسته به pH مانند فسفر و آهن می‌شود که در تشکیل کلروفیل سهیم هستند (خاوازی و همکاران، ۲۰۰۱). عبدالعزیز و همکاران (۲۰۰۷) در گیاه رزماری نشان دادند که کاربرد این کودها موجب افزایش میزان کلروفیل و فتوسنتز در این گیاه شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

#### نتیجه گیری

به طور کلی نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از کودهای بیولوژیک در گیاه دارویی نعنای فلفلی موجب

#### منابع

- اکبری، پ.، ا. قلاوند و س. ع. م. مدرس ثانی. ۱۳۸۹. تأثیر کاربرد سیستم‌های مختلف تغذیه‌ای (آلی، شیمیایی و تلفیقی) و کود زیستی بر عملکرد دانه و سایر صفات زراعی آفتابگردان، مجله دانش کشاورزی پایدار. ۱(۱): ۹۳-۸۳.
- امیدیگی، ر. ۱۳۸۸. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد دوم. چاپ پنجم، انتشارات آستان قدس رضوی. صفحات ۱۷۰ تا ۲۳۴.
- اوجاقلو، ف. ۱۳۸۶. تأثیر تلقیح با کودهای زیستی بر رشد و عملکرد و اجزای عملکرد گلرنگ، پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد تبریز.
- جامند، ک. و رضایی، م. ب. ۱۳۸۳. بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس اندام هوایی گیاه *Achillea millefolium* sub sp *millefolium* با روشهای تقطیر. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۰(۲): ۱۹۰-۱۸۱.
- حسین پور، م. ع.، ر. پیرزاد، ح. حبیبی و م. ح. فتوکیان. ۱۳۹۰. تأثیر کود بیولوژیک نیتروژن دار (آزتوباکتر) و تراکم بوته بر عملکرد و میزان اسانس آنیسون. نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار، ۲(۱): ۸۶-۶۹.
- رضایی چپانه، ا.، و. پیرزاد و ا. فرجامی. ۱۳۹۳. اثر باکتری‌های تأمین کننده نیتروژن، فسفر و گوگرد بر عملکرد دانه و اسانس زیره سبز. نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار، ۲(۱): ۷۵-۶۰.
- سالار دینی، ع. ۱۳۷۴. حاصلخیزی خاک. انتشارات دانشگاه تهران، ۴۴۰ صفحه.
- ویسانی، و.، ف. رحیم زاده خوبی و ی. سهرابی. ۱۳۹۱. تأثیر کودهای بیولوژیک بر صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و میزان اسانس گیاه دارویی ریحان. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۸(۱): ۸۷-۷۳.
- یادگاری، م. و. ر. برزگر. ۱۳۸۹. تأثیر گوگرد و تیوباسیلوس بر قابلیت جذب عناصر غذایی، رشد رویشی و تولید اسانس در بادرنجبویه. فصلنامه داروهای گیاهی. ۱: ۴۰-۳۵.
- Abdelaziz, M., R. Pokluda and M. M. Abdelwahab. 2007. Influence of compost, microorganisms and NPK fertilizer upon growth, chemical composition and essential oil production of *Rosmarinus officinalis* L. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici cluj- Napoca*, 35: 86-90.
- Abdul-Jaleel, C. P., B. Manivannan, A. Sankar, R. Kishorekumar, R. Gopi, G. Somasundaram and R. Panneerselvam. 2007. *Pseudomonas fluorescens*, enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.*, 60: 7-11.
- Ahmad, R. and Jabeen. N. 2009. Demonstration of growth improvement in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by the use of organic fertilizers under saline conditions. *Pak. J. Bot.*, 41(3): 1373-1384.
- Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23: 112-121.

- DaMatta, F. M., R. A. Loos, E. A. Silva and M. E. Loureiro. 2002. Limitations to photosynthesis in *Coffea canephora* as a result of nitrogen and water availability. *J. Plant Physiol.* 159: 975-981.
- Ding, L., K. J. Wang, G. M. Jiang, D. K. Biswas, H. Xu, L. F. Li and Y. H. Li. 2005. Effects of nitrogen deficiency on photosynthetic traits of maize hybrids released in different years. *Ann Bot.* 96: 925-93
- Ghilavizadeh, A., M. Taghi Darzi, and M. Haj Seyed Hadi. 2013. Effects of biofertilizer and plant density on essential oil content and yield traits of Ajowan (*Carum copticum*). *MEJSR*, 14(11): 1508-1512.
- Khavazi, K., F. Nougholipour and M. J. Malakouti. 2001. Effect of *thiobacillus* and phosphate solubilizing bacteria on increasing P availability from rock phosphate for corn. *International Meeting on Direct Application of Rock Phosphate and related Tecnology, Kuala Lumpur, Malaysia.*
- Koocheki, A., L. Tabrizi and R. Ghorbani. 2008. Effect of biofertilizers on agronomic and quality criteria of Hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Iranian Journal of Field Crops Research*; 6: 127 - 37.
- Ozturk, A., O. Caglar and F. Sahin. 2003. Yield response of wheat and barley to inoculation of plant growth promoting *rhizobacteria* at various levels of nitrogen fertilization. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 166: 262-266.
- Saikia, S. P., S. P. Dutta, A. Goswami, B. S. Bhau and P. B. Kanjilal. 2010. Role of Azospirillum in the improvement of legumes. *Microbes for Legume Improvement*; 389 - 408.
- Sharma, A. K. 2002. A handbook of organic farming. Agrobios, India.
- Sokhangoy, S. H., K. H. Ansari and A. D. Eradatmand. 2012. Effect of bio-fertilizers on performance of Dill (*Anethum graveolens* L.). *IJPP*, 4 (2): 552-547.
- Tate III, R. L. 1995. The sulfur and related biogeochemical cycle, P. 359-372.
- Tilak, K., K. K. Ranganayaki, R. Pal, A. De, C. Saxena, N. Shekhar, A. Shilpi, J. K. Tripathi and B. Johri. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current Science.*, 89:136-150.
- Violent, H. and O. Portugal. 2007. Alternation of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting *rhizobacteria* (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. *Sci. Hortic.*, 113:103-106.
- Vital, W., R. Teixeira, A. Shigihara and F. M. Dias. 2002. Organic manuring with pig biosolids with applications of foliar biofertilizers in the cultivation of Thyme (*Thymus vulgaris* L. ). *Ecosystema.*, 27: 69-70.



## Effects of Nitroxine and Thiobacillus biofertilizers on morphological and phytochemical properties of *Mentha pipertita* L.

A. Kheiry<sup>1</sup>, R. Babakhani<sup>2</sup>, M. Sanikhani<sup>1</sup>, F. Razavi<sup>1</sup>

Received: 2016-6-9 Accepted: 2017-1-19

### Abstract

Peppermint is one of the most important medicinal plants that widely used in food, cosmetics and drug industries. In this investigation, the effects of biofertilizers (Nitroxine and Thiobacillus) on morphological and phytochemical properties of *Mentha pipertita* L. studied. An experiment including 16 treatments and 3 replications was conducted according to a completely randomized blocks in a factorial arrangement in the research field of University of Zanjan. The treatments were consisted of Nitroxine (0, 2, 4, 6 l/ha), and Thiobacillus (0, 4, 6, 8 kg/ha) incorporated with sulphur (300 kg/ha). The evaluated traits were including yield and yield parameters (fresh weight, dry weight, essential oil percent, stem length, shoot numbers, chlorophyll content, leaf length, leaf width, inflorescence numbers, inflorescence length, stem diameter, leaf relative density, leaf area index, Secretary glands, node numbers and internode length). The results showed that maximum leaf area, leaf length, leaf width, shoot numbers, number of Secretary glands and essential oils content in combination of 6 kg/ha Thiobacillus and 6 l/ha Nitroxine. Also the highest stem length and internode length was observed in 4 kg/ha Thiobacillus and 2 l/ha Nitroxine. The maximum number of inflorescence was recorded in 4 l/ha Nitroxine. However, the maximum inflorescence height was observed in 4 kg/ha Thiobacillus in combination with 6 l/ha Nitroxine. In conclusion, the combination of 6 kg/ha Thiobacillus and 6 l/ha Nitroxine can be recommended to obtain maximum yield and essential oils in this medicinal plant.

**Keywords:** Essential oils, yield, biofertilizer, mentha piperita

---

1- Assistant Professor, Department of Horticulture Sciences, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran

2- M. Sc Student in Department of Horticulture Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran