

## بررسی تأثیر ورمی کمپوست و کودهای زیستی بر ترکیب‌های اسانس بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) در شرایط تنش خشکی

ابوالفضل کاظمی نسب<sup>۱\*</sup>، مهرداد یارنیا<sup>۲</sup>، محمدحسین لباسچی<sup>۳</sup>، بهرام میرشکار<sup>۲</sup> و فرهاد رجالی<sup>۴</sup>

\* نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، ایران، پست الکترونیک: kazeminasab1357@gmail.com

۲- دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، ایران

۳- دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۴- دانشیار، مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۲

تاریخ اصلاح نهایی: شهریور ۱۳۹۴

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۵

### چکیده

تأثیر ورمی کمپوست و کودهای زیستی محرک رشد، بر ترکیب‌های اسانس بادرنبویه (*Melissa officinalis* L.) در شرایط مختلف آبیاری در آزمایشی به صورت کرت‌های دوبار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل آبیاری در دو سطح (۶۰ و ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی)، ورمی کمپوست در سه سطح (۰، ۵ و ۱۰ تن در هکتار) و کودهای زیستی محرک رشد گیاه در چهار سطح (سودوموناس فلورسنت، ازتوباکتر + آزوسپیریلیوم، ازتوباکتر + آزوسپیریلیوم + سودوموناس فلورسنت و شاهد) بود. ترکیب‌های مورد بررسی شامل سیترونال، نرال، ژرانیال، بتا-کاروفیلین و متیل سیترونالات بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل آبیاری × ورمی کمپوست بر سیترونال در سطح ۱٪ و بر ژرانیال و متیل سیترونالات در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تحت تنش خشکی (۶۰٪ ظرفیت زراعی) بیشترین مقدار سیترونال، ژرانیال، نرال و بتا-کاروفیلین تحت تنش خشکی (۶۰٪ ظرفیت زراعی) و کمترین میزان این ترکیب‌ها در شرایط بدون تنش خشکی (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) بدست آمد. اما بیشترین میزان متیل سیترونالات در ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی و کمترین مقدار آن تحت تنش خشکی مشاهده شد. همچنین، بیشترین مقدار سیترونال (۴۷/۷٪) با مصرف ۱۰ تن در هکتار ورمی کمپوست و کمترین میزان آن (۴۵٪) در تیمار شاهد حاصل گردید. بیشترین مقدار بتا-کاروفیلین (۶٪) نیز با مصرف ۵ تن در هکتار ورمی کمپوست بدست آمد. مقایسه میانگین اثر کودهای زیستی نشان داد که تلقیح ازتوباکتر + آزوسپیریلیوم + سودوموناس فلورسنت بیشترین سیترونال (۴۷/۲٪) و بتا-کاروفیلین (۵/۹٪) و کمترین سیترونال (۴۵/۶٪) و بتا-کاروفیلین (۵/۱٪) مربوط به تیمار شاهد بود. تنش خشکی باعث افزایش ترکیب‌های اسانس شد. اثر ورمی کمپوست تنها بر سیترونال تأثیر داشت. باکتری‌های محرک رشد نیز تنها بر سیترونال و بتا-کاروفیلین اثر مثبت داشتند.

واژه‌های کلیدی: بادرنبویه (*Melissa officinalis* L.)، سیترونال، کودهای زیستی، بتا-کاروفیلین.

### مقدمه

توجه به گیاهان دارویی که بخش عمده‌ای از طب سنتی ایران را تشکیل می‌دهد و ارائه اطلاعات درست و علمی درباره پرورش، نگهداری و استفاده از آنها بر پایه یافته‌های

جدید، روز به روز اهمیت ویژه‌ای می‌یابد (توکلی صابری و صداقت، ۱۳۷۹). بادرنبویه (*Melissa officinalis* L.) گیاهی از خانواده نعنائیان می‌باشد (زرگری، ۱۳۶۹). اسانس برگ‌های بادرنبویه دارای خواص ضدویروسی،

کودهای زیستی تأثیر مثبتی بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی انیسون داشتند. همچنین Banchio و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه کودهای زیستی بر گیاه مرزنجوش بیان کردند که کودهای زیستی در ارتفاع ساقه، وزن ساقه، تعداد برگ‌ها، تعداد گره‌ها و وزن خشک ریشه گیاه مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) اثر معنی‌دار داشت، اما در گیاهان تلقیح نشده اسانس افزایش یافته و ترکیب‌های اسانس بدون تغییر ماند.

ورمی‌کمپوست منبع غنی از عناصر پرمصرف، کم‌مصرف، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها و هورمون‌های محرک رشد گیاه است. از این‌رو، استفاده از آن در کشاورزی پایدار علاوه‌بر افزایش جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید خاک، سبب رشد زیاد و سریع گیاهان از جمله گیاهان دارویی می‌گردد (Prabha et al., 2007). Kalra (2003) در بررسی تیمارهای مختلف کودی بر درصد اسانس در گیاه دارویی نعناع فلفلی مشاهده کرد که عملکرد اسانس در تیمارهای ورمی‌کمپوست، کود گاوی، ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم با تیمار شاهد (استفاده از کودهای شیمیایی) برابری می‌کرد. تأثیر ورمی‌کمپوست بر کمیّت و کیفیت ماده مؤثره مشاهده شده که مصرف کود ورمی‌کمپوست سبب بهبود معنی‌دار مقدار اسانس و کیفیت آن در گیاه دارویی ریحان شد، به‌نحوی که میزان لینالول و متیل‌کاوایکول موجود در اسانس بیشتر از تیمار شاهد بود (Anwar et al., 2005). هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر کود ورمی‌کمپوست و زیستی در شرایط مختلف آبیاری بر ترکیب‌های مهم اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه بود.

### مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر کود ورمی‌کمپوست و کود زیستی بر ترکیب‌های گیاه بادرنجبویه تحت تنش خشکی، آزمایشی به‌صورت کرت‌های دو بار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار، در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، مجتمع تحقیقاتی البرز واقع در ۵ کیلومتری

ایمنی‌بخشی، اثرات اکسپکتورانت (خلط‌آور) و اثرات دارویی برطرف‌کننده خلط است (Bajaj, 1993). در واقع ترکیب‌های ترینوئیدی و موسیلاژی گیاه باعث بروز خواص ضدانقباض و گرفتگی، ضدنفخ، معرق، جلو انداختن قاعدگی و ویژگی تحریک جنسی می‌شود (Morelli, 1977). همچنین، از آن برای درمان برونشیت و آسم (Mamedov & Craker, 2001)، سرفه، تب، فشار خون، استرس، میگرن، شوک، سرگیجه (Duke, 2002)، نقرس (Grieve, 1931)، نیش و گاز گرفتگی حشرات (Bown, 2001)، نیش مار و بیماری‌های پوستی (Duke, 2002) استفاده می‌شود. در بین تنش‌های غیرزنده، خشکی مهمترین مشکل زراعی است که باعث کاهش عملکرد در محصولاتی می‌شود که به‌صورت دائم یا دوره‌ای در معرض آن قرار می‌گیرند (Reddy et al., 2008). معمولاً تنش خشکی، وقتی که آب قابل دسترس در خاک کاهش می‌یابد و شرایط اتمسفری باعث ادامه کاهش آب به‌وسیله تبخیر یا تعرق می‌شود، اتفاق می‌افتد (Jaleel et al, 2009). تنش خشکی، رشد و باروری گیاهان زراعی را به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک محدود می‌کند (Yang et al, 2009). مختاری و همکاران (۱۳۹۰)، در بررسی اثر سه رژیم آبیاری (۷، ۱۰ و ۱۴ روز) بر گیاه آویشن باغی گزارش کردند که بین صفات ارتفاع بوته، تعداد گل، وزن تر گل و عملکرد بذر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و کمبود آب و تغییر رژیم آبیاری اثر خود را بر درصد اسانس و مقدار ترکیب‌های آن نشان داد.

Babae و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی اثر تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک و میزان ترکیب‌های اسانس گیاه آویشن گزارش کردند که تنش خشکی باعث افزایش میزان پرولین و درصد ترکیب‌های گیاه آویشن شد.

کود زیستی عبارت از مواد نگهدارنده‌ای با انبوه یک یا چند نوع موجود زنده مفید خاکزی و یا فرآورده متابولیک آنها می‌باشد که به‌منظور تأمین عناصر غذایی گیاهان استفاده می‌شوند. Zand و همکاران (۲۰۱۳) مشاهده کردند که

آب و به وسیله دستگاه کلونجر اقدام به استخراج اسانس گیاه شد. مدت زمان استخراج اسانس برای تمامی نمونه‌ها به‌طور یکسان ۲/۵ ساعت بود. اسانس این گیاه به رنگ زرد روشن بود. سپس برای رطوبت‌گیری اسانس از ماده رطوبت‌گیر سولفات سدیم استفاده شد و به‌منظور تعیین درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس اقدام به تزریق اسانس‌ها به دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. ترکیب‌های اندازه‌گیری شده شامل سیترونال، ژرانیال، نرال، بتا-کاروفیلین و متیل سیترونالات بود. داده‌های بدست‌آمده با نرم‌افزار SAS آنالیز و نمودارها با استفاده از Excel و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام شد.

## نتایج

### سیترونال

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر آبیاری بر سیترونال در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. اثر کود ورمی کمپوست بر صفت فوق در سطح ۱٪، اثر کود زیستی در سطح ۵٪ و اثر متقابل آبیاری × کود ورمی کمپوست در سطح ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر آبیاری نشان داد که تنش خشکی با میانگین ۴۹/۴٪ بیشترین و تیمار آبیاری نرمال با میانگین ۴۴/۱٪ کمترین مقدار سیترونال را داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر کود ورمی کمپوست بر صفت مذکور نشان داد که مصرف ۱۰ تن و ۵ تن در هکتار به ترتیب با میانگین ۴۷/۷ و ۴۷/۵٪ بیشترین و تیمار عدم مصرف با میانگین ۴۵/۰۵٪ کمترین میزان سیترونال را داشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر کودهای زیستی بر میزان سیترونال نشان داد که تلقیح ازتوباکتر + آزوسپیریلیوم + سودوموناس فلورسنت و ازتوباکتر + آزوسپیریلیوم به ترتیب با میانگین ۴۷/۲ و ۴۷/۱٪ بیشترین و تیمار شاهد با میانگین ۴۵/۶٪ کمترین مقدار سیترونال را در اسانس داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری × کود ورمی کمپوست

جنوب شرقی شهرستان کرج، در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی و ۵۱ درجه شرقی و در ارتفاع ۱۳۲۰ از سطح دریا در سال زراعی ۹۰-۸۹ اجرا شد (جدول ۱). فاکتورهای آزمایشی شامل آبیاری در دو سطح (آبیاری نرمال و تنش خشکی (ظرفیت زراعی در حد ۶۰٪))، کود ورمی کمپوست در سه سطح (۰، ۵ و ۱۰ تن در هکتار) و کود زیستی در چهار سطح (سودوموناس فلورسنت (*Pseudomonas fluorescens*)، ازتوباکتر (*Azotobacter chroococcum*) + آزوسپیریلیوم (*Azospirillum lipoferum*)، ازتوباکتر + آزوسپیریلیوم + سودوموناس و شاهد) بود. لازم به توضیح است که جمعیت باکتری‌ها در هر یک از مایه تلقیح  $1 \times 10^8 \text{ cell/ml}$  بود. ابعاد هر کرت فرعی ۸ متر مربع، فاصله پشته‌ها از یکدیگر ۵۰ سانتی‌متر و فاصله دو بوته روی هر خط ۴۰ سانتی‌متر بود. فاصله بلوک‌ها از یکدیگر ۳ متر و فاصله کرت‌های فرعی از هم یک متر بود. برای اجرای طرح در اواخر بهمن ۸۹ زمین آماده‌سازی و شخم زده شد و به مقدار ۳۰ تن در هکتار کود دامی پوسیده به زمین داده شد. سپس با توجه به نقشه طرح، ورمی کمپوست به زمین اضافه شد. بذرهاى بادرنجوبیه از بخش تحقیقات گیاهان دارویی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تأمین و اواسط اسفندماه در بستر کشت در گلخانه کاشته شده و هنگامی که گیاه به مرحله ۶ برگگی و به ارتفاع ۱۰-۸ سانتی‌متری رسید از بستر کشت خارج شده و ریشه کاملاً شسته شده و به مدت ۲۴ ساعت در داخل مایه تلقیح باکتری‌های محرک رشد قرار گرفت، سپس گیاهان به زمین آماده منتقل و در هنگام آبیاری و مشخص شدن محل داغ آب در زمین نشاء زده شدند. پس از استقرار گیاه و انجام عملیات تک و وجین در مراحل بعدی آبیاری، تیمار تنش براساس رطوبت ظرفیت زراعی در مرحله گلدهی کامل اعمال شد. از سرشاخه‌هایی که در مجاورت جریان هوای آزاد و سایه خشک شده‌اند، ۱۰۰ گرم انتخاب کرده و پس از خرد کردن نمونه‌ها با استفاده از روش تقطیر با

ورمی کمپوست در سطح ۱٪ و اثر کود زیستی در سطح ۵٪ معنی دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد که تنش خشکی با میانگین ۶/۳٪ بیشترین و آبیاری نرمال با میانگین ۴/۹٪ کمترین مقدار بتا-کاربوفیلن را داشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر کود ورمی کمپوست نشان داد که مصرف ۵ و ۱۰ تن در هکتار به ترتیب با میانگین ۵٪ و ۵/۸٪ بیشترین تیمار شاهد با میانگین ۵٪ کمترین میزان را داشتند (جدول ۳). همچنین نتایج مقایسه میانگین اثر کود زیستی بر صفت فوق نشان داد که تلقیح ازتوباکتر + آزوسپیریلیوم + سودوموناس فلورسنت و سودوموناس فلورسنت به ترتیب با میانگین ۵/۹٪ و ۵/۸٪ بیشترین مقدار بتا-کاربوفیلن را داشت و کمترین مقدار این ترکیب با میانگین ۵/۱٪ مربوط به تیمار عدم مصرف کود زیستی بود (جدول ۳).

#### متیل سیترونات

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر آبیاری در سطح ۱٪ و اثر متقابل آبیاری × ورمی کمپوست در سطح ۵٪ معنی دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد که آبیاری نرمال با میانگین ۴/۹٪ بیشترین و تنش خشکی با میانگین ۴/۱٪ کمترین مقدار متیل سیترونات را داشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری × ورمی کمپوست بر صفت مذکور نشان داد که آبیاری نرمال × مصرف ۱۰ تن در هکتار ورمی کمپوست با میانگین ۵٪ بیشترین و تنش خشکی × مصرف ۱۰ تن در هکتار با میانگین ۳/۸٪ کمترین مقدار متیل سیترونات را دارا بودند (جدول ۴).

نشان داد که تنش خشکی × مصرف ۵ تن در هکتار ورمی کمپوست با میانگین ۵/۱٪ بیشترین و تیمار آبیاری نرمال × عدم مصرف ورمی کمپوست با میانگین ۴۳/۱٪ کمترین مقدار سیترونال را داشت (جدول ۴).

#### ژرانیال

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر آبیاری در سطح ۱٪ و اثر متقابل آبیاری × کود ورمی کمپوست در سطح ۵٪ بر ترکیب ژرانیال معنی دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه اثر آبیاری بر ژرانیال نشان داد که تنش خشکی با میانگین ۲۱/۴٪ دارای بیشترین و آبیاری نرمال با میانگین ۱۹/۹٪ دارای کمترین میزان بود (جدول ۲). همچنین مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری × ورمی کمپوست نشان داد که تنش خشکی × مصرف ۱۰ تن در هکتار با میانگین ۲۲/۴٪ بیشترین و آبیاری نرمال × مصرف ۱۰ تن در هکتار با میانگین ۱۹/۵٪ کمترین درصد ژرانیال را در گیاه داشتند (جدول ۴).

#### نرال

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر آبیاری بر صفت نرال در سطح ۱٪ معنی دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین نیز نشان داد که تنش خشکی با میانگین ۱۴/۹٪ بیشترین و آبیاری نرمال با میانگین ۱۳/۴٪ کمترین میزان نرال را داشت. تنش خشکی نسبت به آبیاری نرمال ۱۰/۸٪ افزایش را نشان داد (جدول ۳).

#### بتا-کاربوفیلن

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر آبیاری و کود

جدول ۱- مشخصات تجزیه خاک مورد آزمایش مزرعه از عمق ۳۰-۰ سانتی متر در سال ۱۳۸۹

بافت	رس (%)	سیلت (%)	شن (%)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	ازت کل (%)	pH
لومی	۱۶	۴۰	۴۴	۱۴/۴	۱۷۸/۴	۰/۰۸	۷/۳۶
مواد خنثی شونده (% T.N.V)	کربن آلی (%)	هدایت الکتریکی (ds/m)	اهن (ppm)	روی (ppm)	مس (ppm)	بر (ppm)	
۱۰/۱	۰/۷۹	۱/۳۳	۷/۷۲	۰/۵	۱/۳۴	۰/۴۶۴	

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر آبیاری، کود ورمی کمپوست و کود زیستی بر ترکیب‌های اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه

متیل سیترونات	بتا-کاروفیلین	نرال	ژرانیول	سیترونال	df	
۰/۰۹ ns	۲/۷۴ *	۵/۱۵ ns	۰/۰۹ ns	۳۹/۷۲ **	۲	تکرار
۹/۶۶ **	۴۰/۰۵ **	۳۷/۷۷ **	۴۰/۱۱ **	۴۹۳/۳۴ **	۱	آبیاری
۳۸/۶	۵۵/۲۸	۲۳/۸۸۸	۱۵۶/۷۴	۱۷۵/۷۹	۲	خطای آبیاری
۰/۱۴ ns	۶/۲۰ **	۲/۷۷ ns	۲/۳۷ ns	۵۳/۹۴ **	۲	ورمی کمپوست
۱/۲۷ *	۱/۴۳ ns	۱/۱۳ ns	۹/۶۱ *	۲۴/۸۳ **	۲	آبیاری × ورمی کمپوست
۱/۰۲	۳/۷۵	۶/۰۳	۷/۸۶	۵۱/۱۷	۸	خطای آبیاری × ورمی کمپوست
۰/۲۵ ns	۱/۹۸ *	۱/۲۲ ns	۰/۸۴ ns	۱۰/۸۷ *	۳	کود زیستی
۰/۳۱ ns	۱/۴۸ ns	۰/۳۴ ns	۳/۶۱ ns	۰/۶ ns	۳	آبیاری × کود زیستی
۰/۳۸ ns	۰/۲۵ ns	۰/۱۱ ns	۰/۷۱ ns	۱/۲۱ ns	۶	ورمی کمپوست × زیستی
۰/۱۱ ns	۰/۶۶ ns	۰/۴۹ ns	۱/۲۳ ns	۳/۸ ns	۶	آبیاری × ورمی کمپوست × زیستی
۰/۲۹	۰/۶۵	۲/۱۷۶	۲/۱۲۴	۲/۶۴	۲/۶۴	خطای کل
۱۱/۹۲	۱۴/۳۵	۱۰/۳۹	۷/۰۵	۳/۴۷		ضریب تغییرات (CV%)

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

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر آبیاری، ورمی کمپوست و کود زیستی بر ترکیب‌های اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه

متیل سیترونات (%)	بتا-کاروفیلین (%)	نرال (%)	ژرانیول (%)	سیترونال (%)	A
۴/۹ a	۴/۹ b	۱۳/۴ b	۱۹/۹ b	۴۴/۱ b	آبیاری نرمال
۴/۱ b	۶/۳ a	۱۴/۹ a	۲۱/۴ a	۴۹/۴ a	تنش خشکی
ورمی کمپوست					
۴/۵ a	۵ b	۱۳/۸ a	۲۰/۳ a	۴۵ b	شاهد
۴/۵ a	۶ a	۱۴/۴ a	۲۰/۶ a	۴۷/۵ a	مصرف ۵ تن در هکتار
۴/۴ a	۵/۸ a	۱۴/۲ a	۲۰/۹ a	۴۷/۷ a	مصرف ۱۰ تن در هکتار
کود زیستی					
۴/۷ a	۵/۱ b	۱۳/۸ a	۲۰/۳ a	۴۵/۶ b	شاهد
۴/۴ a	۵/۸ a	۱۴/۲ a	۲۰/۷ a	۴۷ a	سودوموناس فلورسنت
۴/۵ a	۵/۶ ab	۱۴/۲ a	۲۰/۷ a	۴۷/۱ a	ازتوباکتر + آزوسپیریلیوم
۴/۴ a	۵/۹ a	۱۴/۴ a	۲۰/۷ a	۴۷/۲ a	ازتوباکتر + آزوسپیریلیوم + سودوموناس

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف در بین میانگین مناطق مورد ارزیابی می‌باشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری × کود ورمی کمپوست بر صفات مورفولوژیکی گیاه دارویی بادرنجبویه

آبیاری × ورمی کمپوست	سیترونلالت (%)	ژرانیول (%)	نرال (%)	بتا-کاروفیلین (%)	متیل سیترونلالت (%)
a1b1	۴۳/۱ e	۲۰ bc	۱۳/۳ b	۴/۶ c	۴/۸ ab
a1b2	۴۳/۸ e	۲۰/۱ bc	۱۳/۶ b	۵/۱ bc	۴/۷ ab
a1b3	۴۵/۵ d	۱۹/۵ c	۱۳/۳ b	۴/۹ bc	۵ a
a2b1	۴۶/۹ c	۲۰/۶ bc	۱۴/۲ ab	۵/۵ b	۴/۲ cd
a2b2	۵۱/۳ a	۲۱/۱ b	۱۵/۲ a	۶/۹ a	۴/۴ bc
a2b3	۴۹/۹ b	۲۲/۴ a	۱۵/۲ a	۶/۷ a	۳/۸ d

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف در بین میانگین مناطق مورد ارزیابی می‌باشد.

a1 = آبیاری نرمال، a2 = تنش خشکی

b1 = عدم مصرف کود ورمی کمپوست (شاهد)، b2 = کود ورمی کمپوست ۵ تن در هکتار، b3 = کود ورمی کمپوست ۱۰ تن در هکتار

## بحث

در مورد اثر آبیاری بر ترکیب‌های اسانس (جدول ۳) مشاهده شد که تنش خشکی باعث افزایش سیترونلالت، ژرانیول، نرال و بتا-کاروفیلین گردید و تنها ترکیب متیل سیترونلالت در آبیاری نرمال افزایش یافت، بنابراین تولیدکننده می‌تواند با توجه به نوع ماده مؤثره مورد نیاز نسبت به اعمال تنش یا عدم تنش اقدام کند. Loomis و Corteau (۱۹۹۷) بیان کردند که تنش آبی ممکن است سنتز و تغییرات داخلی ترکیب‌های اسانس را در گیاه نعنای تحت تأثیر قرار دهد. Penka (۱۹۷۸) گزارش کرد که هیچگونه اختلاف معنی‌داری در محتوی اسانس گیاهان آبیاری شده و آبیاری نشده وجود نداشت. مختاری و همکاران (۱۳۹۰)، در بررسی اثر سه رژیم کم آبیاری (۷، ۱۰ و ۱۴ روز) بر گیاه آویشن باغی گزارش کردند که بین صفات ارتفاع بوته، تعداد گل، وزن تر گل و عملکرد بذر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما کمبود آب و تغییر رژیم آبیاری اثر خود را بر درصد اسانس و مقدار ترکیب‌های آن نشان داد. Baher Nik و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی تأثیر تیمارهای مختلف آبیاری شامل آبیاری کامل در حد ظرفیت زراعی، تنش‌های ملایم (۷۵٪ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۵٪ ظرفیت زراعی) بر روی ترکیب شیمیایی و خواص

ضدباکتریایی اسانس گل گیاه وایول (*Parthenium argentatum* A. Gray) بیان کردند که نه تنها کمیت اسانس بلکه کیفیت آن نیز تحت تأثیر قرار گرفته و میزان ترکیب‌های آلفا-پینن، بتا-پینن و نیز گاما-اودسمول و بتا-اودسمول نیز تغییر یافته است. در پونه کوهی (*Organum majornana*) در اثر تنش رطوبت مقدار اسانس افزایش یافت؛ اما در نعنای باعث افزایش بازده اسانس و سسکویی‌ترین‌ها ولی میزان منتول ثابت ماند. در مرزه کوهی از ۳ ترکیب اصلی اسانس، کارواکرول کاهش اما پارا-سیمن و گاما-ترینین افزایش یافت (امیدیگی، ۱۳۷۴). Letchamo و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کرده‌اند که رژیم‌های رطوبتی باعث ایجاد تغییرات عمده‌ای در مقادیر فنول‌ها و هیدروکربن‌های مونوترپنی موجود در اسانس شد، به طوری که بالاترین میزان تیمول موجود در اسانس در ۷۰٪ رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای حاصل شد. همچنین یافته‌های دیگر محققان با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. آنان در تحقیقات خود افزایش سطوح متابولیت‌های ثانویه در اثر تنش کم آبی را نتیجه پاسخ گیاه به تنش عنوان کردند. محققان نشان دادند که تنش‌های محیطی باعث افزایش محتوی اسانس در گلرنگ (Hamrouni et al., 2001)، در گیاه دارویی *Bupleurum chinense* (Zhu et

میزان در گیاه ریحان می‌شود.

در مورد مصرف کودهای زیستی بر ترکیب‌ها مشاهده شد که کاربرد کودهای زیستی باعث افزایش ترکیب‌های سیترونلال و بتا-کاربوفیلین در گیاه شد. *Azospirillum* و *Azotobacter* هر دو یا به تنهایی در محیط ریشه گیاه توانایی ساخت و ترشح مقداری مواد بیولوژیکی فعال مانند ویتامین B، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتینیک، بیوتین، و با تولید مقادیر قابل ملاحظه‌ای هورمون‌های تحریک‌کننده رشد به‌ویژه اکسین، سیتوکینین و جیبرلین، باعث افزایش رشد و نمو عملکرد گیاهان زراعی و رشد ریشه نقش مفید و مؤثری دارند (Kader, 2002).

Saedi Farkoosh و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که همزیستی مایکوریزا و تلقیح مؤثر با باکتری حل‌کننده فسفات و کاربرد سوپر فسفات تریپل بر بابونه آلمانی با مقادیر مناسب (۵۰ kg/ha) به افزایش اسانس محصول و ترکیب‌های آن (کامازولن و بیسابولول) می‌انجامد.

Zand و همکاران (۲۰۱۳) اذعان کرده‌اند که میکروارگانیزم‌های حل‌کننده فسفات تأثیر مثبتی بر تعداد چتر، ارتفاع گیاه، عملکرد دانه و ترکیب‌های اسانس انیسون دارد، به ویژه زمانی که در ۲ مرحله (تلقیح دانه + اسپری کردن گیاه) از آن استفاده شود. از بین سویه‌های *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* تنها *Sinorhizobium meliloti* و *Bradyrhizobium sp.* در ارتفاع *P. fluorescens* و *Bradyrhizobium sp.* در ارتفاع ساقه، وزن ساقه، تعداد برگ‌ها، تعداد گره‌ها و وزن خشک ریشه بر مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) اثر معنی‌دار داشت، اما در گیاهان تلقیح نشده اسانس افزایش یافته و ترکیب‌های اسانس بدون تغییر باقی ماند (Banchio et al., 2008). نتایج این تحقیق با گزارش (Ratti et al., 2001) بر پالمارزا (*Cymbopogon martini*) کاملاً همخوانی داشت.

(al., 2008) و در گیاه دارویی مریم گلی (Bettaieb et al., 2009) می‌شود.

در مورد مصرف کود ورمی کمپوست مشاهده شد که مصرف ۵ و ۱۰ تن در هکتار تنها موجب افزایش سیترونلال و بتا-کاربوفیلین گردید و تأثیری بر دیگر ترکیب‌ها نداشت. ورمی کمپوست دارای تخلخل زیاد، قدرت جذب و نگهداری بالای عناصر معدنی، تهویه و زهکشی مناسب، ظرفیت زیاد نگهداری آب و بدون بوی نامطبوع و عوامل بیماری‌زا می‌باشد (حسن‌زاده، ۱۳۸۶). Arancon و همکاران (۲۰۰۴) بیان کردند که استفاده از آن در کشاورزی پایدار، علاوه بر افزایش جمعیت و فعالیت میکروارگانیزم‌های مفید خاک (نظیر قارچ‌های میکوریزا و میکروارگانیزم‌های حل‌کننده فسفات)، در جهت فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم محلول عمل کرده و سبب بهبود رشد و عملکرد گیاهان زراعی می‌شود. با توجه به تأکیدی که کشاورزی پایدار بر افزایش کیفیت و پایداری عملکرد دارد، گیاهان دارویی که محصولاتی کیفی می‌باشند، گزینه مناسبی برای این سیستم محسوب می‌شوند و به نظر می‌رسد که در چنین شرایطی، حداکثر رشد و عملکرد از آنها حاصل گردد (Gupta et al., 2002).

Anwar و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی سطوح مختلف ورمی کمپوست بر روی گیاه دارویی ریحان نشان دادند که مصرف ۵ تن ورمی کمپوست همراه با کود شیمیایی برتری محسوسی از نظر کمیت و کیفیت اسانس نسبت به تیمار شاهد داشت. آنان بیان کردند که افزودن ورمی کمپوست به خاک نه تنها فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را افزایش داده، بلکه با بهبود شرایط فیزیکی و فرایندهای حیاتی خاک، ضمن ایجاد بستر مناسب برای رشد ریشه، موجبات افزایش دسترسی به عناصر معدنی و در نهایت بهبود میزان اسانس را نیز فراهم آورده است. عزیزی و همکاران (۱۳۸۳) بیان کردند که مصرف سطوح مختلف ورمی کمپوست سبب بهبود

## منابع مورد استفاده

- Bettaieb, I., Zakhama, N., Aidi Wannes, W., Kchouk, M.E. and Marzouk, B., 2009. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Scientia Horticulturae*, 120(2): 271-275.
- Bown, D., 2001. *New Encyclopedia of Herbs and Their Uses*. New York, DK, 448p.
- Duke, J.A., 2002. *Handbook of Medicinal Herbs*. CRC Press, 896p.
- Grieve, M., 1931. *A Modern Herbal: the Medicinal, Culinary, Cosmetic and Economic Properties, Cultivation and Folk-Lore of Herbs, Grasses, Fungi, Shrubs and Trees with all their Modern Scientific Uses*. New York: Harcourt, Brace and Company, 888p.
- Gupta, M.L., Prasad, A., Ram, M. and Kumar, S., 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technology*, 81: 77-79.
- Hamrouni, I., Salah, H. and Marzouk, B., 2001. Effects of water-deficit on oil of coriander aerial parts. *INRST, Laboratoire d'Adaptation et d'Amelioration des Plantes*, BP 95 2050, Hammam-Lif, Tunisia, 95: 21-52.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H.J., Somasundarm, R. and Panneerselvam, R., 2009. Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture & Biology*, 11(1): 100-105.
- Kader, M.A., 2002. Effects of *Azotobacter* inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. *Journal of Biological Sciences*, 2: 259-261.
- 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.
- Letchamo, W., Marquard, R., Holzl, J. and Gosselin, A., 1994. Effects of water supply and light intensity on growth and essential oil of two *Thymus vulgaris* selections. *Angewandte Botanik*, 68: 83-88.
- Loomis, W.D. and Corteau, R., 1977. Essential oil biosynthesis. *Revista Brasileira de Plantas Medicinales*. 6: 147-185.
- Mamedov, N. and Craker, E.L., 2001. Medicinal plants used for the treatment of bronchial asthma in Russia and Central Asia. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 8(2/3): 91-117.
- امیدبگی، ر.، ۱۳۷۴. رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد اول). انتشارات فکر روز، ۲۸۳ صفحه.
- توکلی صابری، م.ر. و صداقت، م.ر.، ۱۳۷۹. گیاهان دارویی (ترجمه). انتشارات روز جهان، تهران، ۲۶۴ صفحه.
- حسن‌زاده، ب.، ۱۳۸۶. بررسی اثر ورمی‌کمیوست بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی بابونه آلمانی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد باغبانی، دانشگاه کشاورزی گیلان، ۱۷۰ صفحه.
- زرگری، ع.، ۱۳۶۹. گیاهان دارویی (جلد ۳). انتشارات دانشگاه تهران، ۹۲۳ صفحه.
- عزیزی، م.، لکزیان، م. و باغانی، م.، ۱۳۸۳. بررسی تأثیر مقادیر متفاوت ورمی‌کمیوست بر شاخصهای رشد و میزان اسانس ریحان اصلاح شده. چکیده مقالات دومین همایش گیاهان دارویی، تهران، دانشگاه شاهد تهران، ۸-۷ بهمن: ۳۹.
- مختاری، ط.، باقری، ا. و حسین‌زاده، س.س.، ۱۳۹۰. بررسی اثر رژیم آبیاری بر گیاه آویشن باغی. چکیده مقالات ششمین همایش ایده‌های نوین در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، ۱۱-۹ اسفندماه: ۱۷۷.
- Anwar, M., Patra, D.D., Chand, S., Alpesh, K., Naqvi, A.A. and Khanuja, S.P.S., 2005. Effect of organic manures and inorganic fertilizer on growth, herb and oil yield, nutrient accumulation and oil quality of French basil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 36(13-14): 1737-1746.
- Arancon, N.Q., Edwards, C.A., Bierman, P., Welch, C. and Metzger, J.D., 2004. Influences of vermicomposts on field strawberries: 1. effects on growth and yields. *Bioresource Technology*, 93(2): 145-153.
- Babaei, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S.A.M. and Jabbari, R., 2010. Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 26(2): 239-251.
- Baher Nik, Z., Mirza, M., Abbaszadeh, B. and Naderi Hajy Bagher Candy, M., 2007. The effect of metabolism in response to water stress in *Parthenium argentatum* Gray. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(2): 315-322.
- Bajaj, Y.P.S., 1993. *Biotechnology in Agriculture and Forestry: Medicinal and Aromatic Plants* V. Springer-Verlag, 545p.
- Banchio, E., Pablo, C., Bogino, Zygadlo, J. and Giordano, W., 2008. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(10): 766-771.

- analysis of subtracted expressed sequence tags. *Plant Science*, 175: 372-384.
- Saedi Farkoosh, S., Ardakani, M.R., Rejali, F., Darzi, M.T. and Faregh, A.M., 2011. Effect of mycorrhizal symbiosis and *Bacillus coagulans* on qualitative and quantitative traits of *Matricaria chamomilla* under different levels of phosphorus. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 8(1): 1-9.
  - Yang, J., Kloepper, J.W. and Ryu, C.M., 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science*, 14(1): 1-4.
  - Zhu, Z.B., Liang, Z.S., Han, R.L. and Dong, J.E., 2008. Growth and saikosaponin production of the medicinal herb *Bupleurum chinense* DC. under different levels of nitrogen and phosphorus. *Industrial Crops and Products*, 29(1): 96-101.
  - Zand, A., Darzi, M.T. and Haj Seyed Hadi, M.R., 2013. Effects of phosphate solubilizing microorganisms and plant density on seed yield and essential oil content of anise (*Pimpinella anisum*). *Middle-East Journal of Scientific Research*, 14(3): 340-346.
  - Morelli, I., 1977. Constituents and use of *Melissa officinalis*. *Bollettino chimico farmaceutico*, 116(6): 334-340.
  - Penka, M., 1978. Influence of irrigation on the contents of effective substances in officinalis plants. *Acta Horticulturae*, 73: 181-198.
  - Prabha, M.L., Jayraaj, I.A., Jayraaj, R. and Rao, D.S., 2007. Effectiveness of vermicompost on growth parameters of selected vegetable and medicinal plants. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*, 9: 321-326.
  - Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N. and Gautam, S.P., 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. *motia* by rhizobacteria, AMF and azospirillum inoculation. *Microbiological Research*, 156(2): 145-149.
  - Reddy, P.C.O., Sairanganayakulu, G., Thippeswamy, M., Reddy, P.S., Reddy, M.K. and Sudhakar, C., 2008. Identification of stress-induced genes from the drought tolerant semi-arid legume crop horsegram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) through

## Effects of vermicompost and biofertilizers on essential oil composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under drought stress

A. Kazeminasab<sup>1\*</sup>, M. Yarnia<sup>2</sup>, M.H. Lebaschi<sup>3</sup>, B. Mirshekar<sup>2</sup> and F. Rajali<sup>4</sup>

1\*- Corresponding author, Ph.D. Student, Islamic Azad University, Tabriz Unit, Tabriz, Iran, E-mail: kazeminasab1357@gmail.com

2- Islamic Azad University, Tabriz Unit, Tabriz, Iran

3- Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

4- Soil and Water Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

April: February 2014

Revised: June 2015

Accepted: June 2016

### Abstract

Effects of vermicompost and plant growth promoting biofertilizers on the essential oil composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) were studied under different irrigation conditions. The study was conducted in a split-split plot experiment based on a randomized complete block design with three replications, at Research Institute of Forests and Rangelands. Treatments included irrigation in two levels (100 and 60% FC drought stress), vermicompost in three levels (0, 5 and 10t/ha) and plant growth promoting biofertilizers in four levels (*Pseudomonas fluorescense*, *Azotobacter* + *Azospirillum*, *Azotobacter* + *Azospirillum* + *P. fluorescense*, and the control). The essential oil components including citronellal, geraniol, neral,  $\beta$ -caryophyllene and methyl citronellat were studied. The interaction of irrigation  $\times$  vermicompost showed significant effect on citronellal at  $P \leq 0.01$  and on geraniol and methyl citronellat at  $P \leq 0.05$ . Mean comparison of irrigation indicated that the highest and lowest citronellal, geraniol, neral and  $\beta$ -caryophyllene, were obtained for drought stress and normal irrigation (100% FC), respectively. The highest and lowest methyl citronellat were recorded for the normal irrigation and drought stress (60% FC), respectively. Mean comparison of the effect of vermicompost showed that the highest (47.7%) and lowest (45%) citronellal were obtained for 10 t/ha vermicompost and control treatments, respectively. Application of 5 t/ha vermicompost resulted in the highest  $\beta$ -caryophyllene (6%). Mean comparison of the biofertilizers indicated that *Azotobacter* + *Azospirillum* + *P. fluorescense* had the highest citronellal (47.2%) and  $\beta$ -caryophyllene (5.9%); the lowest citronellal (45.6%) and  $\beta$ -caryophyllene (5.1%) were achieved in the control. Drought stress increased the essential oil compounds. Vermicompost just affected the citronellal. In addition, PGPR had a positive effect only on citronellal and  $\beta$ -caryophyllene.

**Keywords:** Lemon balm (*Melissa officinalis* L.), citronellal, biofertilizer,  $\beta$ -caryophyllene.