DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.2015.11935

دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۰، شماره ۶، صفحه ۱۰۱۱-۹۹۹ (۱۳۹۳)

ارزیابی عملکرد، کمّیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی به‌لیمو (*Lippia citriodora* H. B. et K.) تحت استفاده مصرف متعادل کود و پلیمر سوپرجاذب

علی‌اکبر زارع[۱]، محمدجعفر ملکوتی[۲*]، حسین‌علی بهرامی[۳]، فاطمه سفیدکن[۴]، رضا شاه‌حسینی[۵]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه خاکشناسی، دانشگاه تربیت مدرس

۲*- نویسنده مسئول، استاد، گروه خاکشناسی، دانشگاه تربیت مدرس، پست الکترونیک: mjmalakouti@modares.ac.ir

۳- دانشیار، گروه خاکشناسی، دانشگاه تربیت مدرس

۴- استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۵- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۱ تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۲

چکیده

به‌لیمو (*Lippia citriodora* H. B. et K.) از گیاهان دارویی ارزشمندی است که اسانس به‌عنوان عمده‌ترین ترکیب شیمیایی آن دارای ترکیب‌های مؤثره‌ای نظیر نرال و ژرانیال بوده و به‌صورت خام و فرآوری شده کاربرد وسیعی در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی دارد. در گیاهان دارویی تغذیه متناسب و بهینه با استفاده از نهاده‌های شیمیایی و زیستی تأثیر چشمگیری بر عملکرد و شاخص‌های فیتوشیمیایی مرتبط با عملکرد دارد. این پژوهش با هدف بررسی اثر مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج آزمون خاک) و پلیمر سوپرجاذب بر عملکرد و ترکیب‌های شیمیایی گیاه به‌لیمو در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با هفت تیمار و سه تکرار بشرح: T_1: بدون کوددهی (شاهد)، T_2: کوددهی براساس عرف زارع، T_3: کوددهی براساس مصرف متعادل کود یا همان تجزیه خاک، T_4: کود زیستی، T_5: تیمار دوم + کود زیستی، T_6: تیمار سوم + کود زیستی و T_7: تیمار سوم + کود زیستی + پلیمر سوپرجاذب در دانشگاه تربیت مدرس در شرایط گلخانه انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد که بین تیمارها از لحاظ کلیه پارامترها در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشت. کمترین و بیشترین عملکرد تر گیاه به‌ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد (۶۴۱۰ کیلوگرم در هکتار) و تیمار مصرف متعادل کود + کود زیستی + پلیمر سوپرجاذب (۱۵۴۳۵ کیلوگرم در هکتار) بود. به همین روال حداقل و حداکثر عملکرد برگ خشک در تیمارهای شاهد (۷۰۲ کیلوگرم در هکتار) و تیمار مصرف متعادل کود + کود زیستی + پلیمر سوپرجاذب (۱۵۰۳ کیلوگرم در هکتار) بدست آمد. البته کمترین و بیشترین میزان اسانس در تیمارهای شاهد (۷/۴ کیلوگرم در هکتار) و تیمار مصرف متعادل کود + کود زیستی (۲۰/۵ کیلوگرم در هکتار) حاصل شد. از نظر مجموع ترکیب‌های اصلی ژرانیال و نرال تیمارهای شاهد و مصرف متعادل کود + کود زیستی به‌ترتیب با کسب مقادیر ۴۱/۲٪ و ۵۲/۲۷٪ کمترین و بیشترین میزان را به خود اختصاص دادند.

واژه‌های کلیدی: به‌لیمو (*Lippia citriodora* H. B. et K.)، مصرف متعادل کود، سوپرجاذب، عملکرد، اسانس، ترکیب‌ها.

مقدمه

در حال حاضر حدود یک‌سوم داروهای مورد استفاده در جوامع انسانی دارای منشأ گیاهی هستند، از این رو صنایع داروسازی و گروه‌های تحقیقاتی وابسته در بسیاری از کشورها توجه خود را به کشت و تولید گیاهان دارویی معطوف داشته و هرساله هزاران هکتار از زمین‌های زراعی خود را به کشت و پرورش گیاهان دارویی اختصاص می‌دهند (Haq, 2004).

گیاه دارویی به‌لیمو با نام علمی (*Lippia citriodora*) از خانواده شاه پسند (Verbenaceae) (مظفریان، ۱۳۸۸؛

Meshkatalsadat *et al*., 2010)، درختچه‌ای است به ارتفاع ۱/۵ تا ۲ متر (Tutin, 1981)، در ایران مانند سایر کشورها این گیاه به دلیل خواص دارویی وارد شده و کشت می‌شود (امین، ۱۳۸۷). برگ به‌عنوان اندام مورد استفاده دارای خواص ضدتشنج، ضدانقباض، تب‌بر و آرام‌بخش بوده و دارای سابقه‌ای طولانی در درمان آسم، اسپاسم، سرماخوردگی، سردرد، تب، نفخ، اسهال، سوء هاضمه، بی‌خوابی و اضطراب می‌باشد (Meshkatalsadat *et al*., 2010). اسانس این گیاه دارای اثرات ضداسهالی، مدری (Abed & Benmerabet, 1981)، ضدمیکروبی علیه میکروفلور دندان (Torrent Martia, 1976)، آرام‌بخشی، ضدتب و مهار اثر تحریک‌کنندگی هیستامین می‌باشد (Nakamura *et al*., 1997). برگ به‌لیمو علاوه‌بر اسانس حاوی آلکالوئید، فلاونوئید، موسیلاژ، تانن و فنل‌های اسیدی می‌باشد (Torrent Martia, 1976؛ Skaltsa & Shammas, 1988). با وجود دارا بودن کلیه این ترکیب ها، مهمترین ماده مؤثره موجود در این گیاه اسانس می باشد. البته کاربرد اسانس در صنایع مختلف به ترکیب‌های شیمیایی موجود در آن بستگی دارد که خود تحت تأثیر عوامل محیطی، زمان برداشت، شرایط کشت، روش‌های زراعت و اندام مورد اسانس‌گیری می‌باشد (سلطانی‌پور و همکاران، ۱۳۸۲).

اسانس به‌لیمو دارای ترکیب‌های مختلفی می‌باشد که عمده‌ترین آنها ژرانیال، میرسنون، لیمونن، ژرانیول و سیترونلول می‌باشد (Montes *et al*., 1973). ترکیب‌های عمده اسانس گیاه به‌لیمو در سایر مطالعات ۸،۱-سینئول، ژرانیال و نرال (Bellakhdar *et al*., 1993)، ژرانیال، نرال و لیمونن (Gomes *et al*., 2006)، بتا-کاربوفیلن، ۸،۱-سینئول، سیترونلول، ایزومنتون، آلفا-برگاموتن و پارا-سیمن (Ali *et al*., 2008)، نرال، ژرانیال، ژرانیول، لیمونن، سیترونلول، نرول و ۸،۱-سینئول (Tutin, 1981)، میرسنون، آلفا-توجون و لیمونن (Zygadlo *et al*., 1994)، ژرانیول، نرول، نرال، ژرانیال، لیمونن و ۸،۱-سینئول (Mojab *et al*., 2002)، لیمونن، ۸،۱-سینئول، ژرانیال، نرال، بتاگوانین، اسپاتولنول و کاریوفیلن‌اکسید (رضایی و جایمند، ۱۳۸۰)، اسپاتولنول، کاریوفیلن‌اکسید، سیترال، بتا-کاریوفیلن و لیمونن (علوی و همکاران، ۱۳۸۷) گزارش شده‌است.

در صورتی که غلظت هر عنصر غذایی در گیاه پایین‌تر از حد بهینه آن برای متابولیسم سلولی باشد، کمبود اولیه این عنصر غذایی معمولاً در گیاه به‌صورت پنهان بوده و نشانه های ظاهری آن با چشم قابل تشخیص نمی باشد، اما در نهایت آثار آن در کاهش عملکرد نمایان می شود. عملکرد گیاه تابع عاملی است که در حداقل است. اگر کلیه عوامل به‌زراعی و محیطی (آب، خاک، نور و غیره) به سطوح بهینه برسند ولی یکی از عوامل بیش از حد افزایش یابد (مثل نیتروژن)، نه تنها باعث افزایش عملکرد نمی گردد بلکه ممکن است علاوه‌بر کاهش تولید، سبب اُفت کیفیت محصول نیز گردد. بر همین اساس مصرف کود در گیاهان دارویی باید براساس آزمون خاک صورت گیرد. در بسیاری از طرح‌های تحقیقاتی داخل کشور این امر مهم نادیده گرفته شده، بنابراین نتایج حاصل از طرح‌های پژوهشی را غیرواقعی می نماید (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷).

یکی از عملیاتی که امروزه مطابق با اصول کشاورزی پایدار در راستای حاصلخیزی خاک رایج شده‌است، استفاده از کودهای زیستی است؛ کودهای زیستی شامل مواد متراکم یک یا چند نوع ارگانیسم مفید خاکزی و یا به‌صورت فرآورده متابولیکی این موجودات می‌باشد که به‌منظور تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه (Sharma, 2002؛ Mena-Violent & Olalde-Portugal, 2007)، افزایش کارایی کودهای نیتروژن و فسفر (Mena-Violent & Olalde-Portugal, 2007)، تولید و ترشح سیتوکینین، اکسین‌ها، جیبرلین‌ها، سیدروفورها، افزایش تحرک عناصر غذایی و قابلیت جذب آنها (Zaied *et al*., 2003) در یک اکوسیستم زراعی بکار می‌روند.

قسمت بیشتری از کشور ما در اقلیم خشک و نیمه‌خشک واقع شده‌است (الهدادی، ۱۳۸۱). در بیشتر نقاط کشور ما نزولات جوی بسیار کم و اندک است. به‌طور کلی میانگین بارش‌های سالیانه در این مناطق ۲۰۰ تا ۲۵۰ میلی‌متر می‌باشد و بیشتر آنها در فصول غیرزارعی اتفاق می‌افتد (عابدی کوپایی و سهراب، ۱۳۸۳). در این شرایط استفاده از موادی مانند سوپرجاذب‌ها که توانایی کاهش اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را داشته و سبب افزایش تأثیر کودها و آفت‌کش‌ها باشند، دارای اهمیت است. سوپرجاذب

به‌صورت ماده خشکی توصیف می‌شود که چند صد برابر وزن خود آب و محلول آبی جذب کند. این پلیمرها کاربرد متنوعی دارند و مهمترین موارد مصرف آنها در صنایع کشاورزی است (کبیری، ۱۳۸۴).

تاکنون در مورد اثر کودهای شیمیایی، زیستی و ماده سوپرجاذب به‌صورت همزمان بر عملکرد و خصوصیات کمّی و کیفی گیاهان دارویی تحقیقات چندانی در داخل کشور انجام نشده، باوجوداین تحقیقات انجام شده بر روی سایر گیاهان دارویی، به‌ویژه در مورد کودهای زیستی و نتایج حاصل از آنها، نشان‌دهنده اثرات مفید این مواد بر گیاهان دارویی می باشد. طی یک آزمایش که به‌منظور تأثیر انواع مختلف کود بر درصد اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) انجام شد، نتایج نشان داد که عملکرد اسانس در حالت‌های استفاده از کودهای شیمیایی و کود زیستی ازتوباکتر یکسان می‌باشد (Kalra, 2003). در یک پژوهش اثر کودهای زیستی روی دو گیاه دارویی بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) و همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که کاربرد این مواد در همیشه‌بهار سبب افزایش عملکرد گل و بهبود کیفیت اسانس گردید، اما در بابونه تنها باعث افزایش عملکرد گل شد و بر کیفیت اسانس مؤثر نبود (Sanches Govin *et al*., 2005). در آزمایشی بر روی گیاه *Majorana hortensis* نتایج نشان داد که تأثیرات کودهای زیستی شامل ازتوباکتر، آزوسپریلیوم و باکتری‌های حل‌کننده فسفات روی شاخص های رشدی، میزان اسانس و همچنین اثرات آن بر باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی، قارچ‌ها و مخمرها قابل توجه بوده‌است (Fatma *et al*., 2006). Darzi و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که استفاده از کود زیستی بیوفسفات روی ارتفاع و عملکرد بیولوژیکی رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) اثر معنی‌داری دارد. نتایج کار آنان نشان داد که اثرات متقابل بین میکوریزا و بیوفسفات روی وزن هزاردانه معنی‌دار بود. محققان در آزمایشی با کاربرد ۰/۳٪ وزنی پلیمر PR۳۰۰۵A، موفق شدند میزان درصد رطوبت وزنی خاک‌های لومی و لومی‌شنی را به‌ترتیب ۴/۶٪ و ۷/۲۴٪ افزایش دهند (عابدی کوپایی و سهراب،۱۳۸۳).

البته در کلیه گزارش‌هایی که در داخل و حتی خارج از کشور روی این گیاه وجود دارد، هیچ‌گونه اشاره‌ای به نحوه تغذیه این گیاه نشده‌است و از آن‌جا که یکی از مهمترین عوامل تأثیرگذار در افزایش کمّی و کیفی عملکرد، توجیه اقتصادی و استانداردهای گیاهان دارویی، و آگاهی از وضعیت تغذیه‌ای آن می‌باشد؛ این پژوهش به‌منظور بررسی اثر مصرف متعادل کود و پلیمر سوپرجاذب بر عملکرد و ترکیب های شیمیایی گیاه دارویی به‌لیمو در شرایط کشت گلخانه انجام شده است.

مواد و روشها

این پژوهش در سال‌های ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ در گلخانه‌های تحقیقاتی دانشگاه تربیت مدرس با میانگین دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد و به ابعاد ۴۰۰ مترمربع و مجهز به سیستم خنک‌کننده و گرم‌کننده انجام شد. ابتدا قلمه های نیمه‌خشبی این گیاه در بستر ماسه‌بادی در شرایط گلخانه پس از گذشت حدود ۲ ماه ریشه‌دار شدند. سپس در مرحله بعد قلمه‌های ریشه‌دار شده به‌منظور استقرار دائمی و کشت (با فواصل ۶۰ در ۵۰ سانتی‌متر) به کرت‌هایی با ابعاد ۱/۲۰ در ۳ متر به گلخانه مورد نظر منتقل شدند. قبل از کشت و به‌منظور تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، خاک محل اجرای طرح آنالیز گردید (جدول ۱). توصیه‌های کودی در این آزمایش با توجه به حدود بحرانی عناصر در خاک انجام شد. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با هفت تیمار در سه تکرار بشرح T_1: بدون کوددهی (شاهد)، T_2: کوددهی براساس عرف زارع، T_3: کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک (کوددهی متعادل)، T_4: کود زیستی، T_5: کوددهی براساس عرف زارع + کود زیستی، T_6: کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک + کود زیستی و T_7: کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک + کود زیستی + پلیمر سوپرجاذب انجام شد. نوع و مقادیر کودهای مورد استفاده در تیمار عرف زارع، ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار سوپرفسفات تریپل و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره بود که سوپرفسفات در یک نوبت و به‌صورت اصلی و قبل از کشت و اوره در دو نوبت (نیمی همزمان با کشت به‌صورت اصلی و نیمی دیگر به‌صورت سرک دو ماه پس از کشت) به خاک اضافه شد. در تیمار مصرف متعادل کود، ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کلریدپتاسیم (نیمی به‌صورت اصلی در زمان کشت و نیمی دیگر به‌صورت سرک سه ماه

پس از کشت) و ۶۰ کیلوگرم در هکتار کلات آهن از منبع سکوسترین ۱۳۸ در زمان کشت به‌صورت خاکی به خاک اضافه شد. همچنین در این تیمار ۳۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره که در سه نوبت (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به‌صورت اصلی در زمان کشت و دو نوبت دیگر به‌صورت سرک دو و سه ماه پس از کشت) و ۲۰ کیلوگرم سولفات منگنز در هکتار و به‌صورت خاکی قبل از کشت به خاک اضافه شد. کود زیستی شامل نیتروکسین و فسفاتین (تهیه شده از شرکت شیمی کود زنجان) (با توجه به توصیه شرکت سازنده) بود که به نسبت ۱ به ۵ با آب آبیاری مخلوط و با ریشه تلقیح شد. همچنین در طول دوره رشد (۴۰ روز پس از رشد) به همراه آب آبیاری نیز مصرف شدند. سوپرجاذب مصرفی از نوع A-200 (جدول ۲) بود که قبل از کشت با خاک منطقه ریشه مخلوط گردید. میزان مصرفی سوپرجاذب ۳ گرم به ازای هر بوته بود.

در طول فصل رشد مبارزه با علف هرز که عمدتاً شامل پیچک (*Convolulus* spp.) بود، به‌صورت دستی انجام شد و از مصرف هر گونه سموم و علف‌کش خودداری گردید. برداشت گیاهان در مرحله تمام گل انجام شد و پس از ارزیابی پیکره رویشی تر، گیاهان برداشت شده برای خشک شدن به سایه و دمای معمولی منتقل شدند. خشک کردن به دور از هر گونه نور مستقیمی انجام گردید. پس از گذشت ۲ هفته برگ‌ها با حداکثر دقت از ساقه جدا شده و پس از ارزیابی وزن خشک، برای استخراج و آنالیز اسانس به آزمایشگاه استخراج مواد مؤثره و آنالیز دستگاهی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور انتقال داده شدند. کلیه نمونه‌ها به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر اسانس گیری شد و با استفاده از سولفات‌سدیم خشک آب گیری گردید. اسانس حاصل با روش تجزیه دستگاهی توسط دستگاه کروماتوگراف گازی و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌نگار جرمی در این مؤسسه آنالیز گردید.

گاز کروماتوگراف (Thermo-UFM) مجهز به ستون DB-5 به طول ۱۰ متر و قطر ۰/۱ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۴ میکرومتر بود، مورد استفاده قرار گرفت. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شده و بتدریج به ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای محفظه تزریق و دتکتور در دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. دتکتور از نوع FID بوده و از گاز هلیم به‌عنوان گاز حامل استفاده شد که با سرعت ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه در طول ستون عبور می‌کرد. از گاز کروماتوگراف متصل‌شده با طیف‌سنج جرمی مدل Varian-3400 از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون مشابه با برنامه‌ریزی ستون در دستگاه GC بود. گاز حامل هلیوم بوده که با سرعت ۳۲ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود. شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس با استفاده از اندیس‌های بازداری و پیشنهادهای کتابخانه‌ای رایانه دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی و قیاس آنها با ترکیب‌های استاندارد انجام شد (Shibamoto, 1987؛ Davies, 1990).

نتایج

نتایج تجزیه واریانس صفات مختلف گیاه دارویی به‌لیمو در جدول ۳ ذکر شده است. همان‌طور که مشاهده می‌گردد نتایج تجزیه واریانس، برای کلیه صفات مورد مطالعه در سطح آماری ۱٪ معنادار شد. براساس مقایسه میانگین صفات، تیمار مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک) دارای بیشترین ارتفاع و تیمار شاهد (بدون کوددهی) دارای کمترین ارتفاع می‌باشد (شکل ۱).

نتایج این پژوهش نشان داد که از نظر عملکرد پیکره رویشی تر و برگ خشک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ بین تیمارهای مختلف وجود دارد (شکل ۲ و ۳). بر این اساس عملکرد پیکره رویشی تازه در تیمار شاهد (بدون کوددهی) به مقدار ۶۴۱۰ کیلوگرم در هکتار حاصل شد. به‌طور کلی ترکیب پلیمرهای سوپرجاذب و مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک) و کود زیستی نسبت به سایر تیمارها دارای بیشترین عملکرد تر بودند. پلیمرهای سوپرجاذب می‌توانند آب حاصل از آبیاری را جذب کرده، از فرونشست عمقی آن جلوگیری کنند و کارایی مصرف آب را افزایش دهند.

جدول ۱- ویژگی‌های خاک محل اجرای آزمایش

بافت	pH	EC (dS/m)	N (%)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Mg (mg/kg)	Zn (mg/kg)	B (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Mn (mg/kg)
لومی-شنی	۷/۴	۱/۷	۰/۰۶	۲۳/۱۶	۱۳۴/۸	۷۲۰	۲/۰۸۲	۲/۱۲	۰/۹۵۴	۰/۷۵۸	۲/۱۶۲

جدول ۲- مشخصات پلیمر سوپرجادب مورد استفاده

ویژگی	میزان یا کیفیت ویژگی
ظاهر	دانه درشت و سفید
مقدار رطوبت (٪)	۵-۳
بو و سمّیت	ندارد
دانسیته (g/cm^3)	۱/۵-۱/۴
pH محلول آبی	۷-۶
حلالیت در آب	نامحلول
اندازه ذرات (µm)	۱۵۰-۵۰
حداکثر پایداری (سال)	۷
حداکثر جزء قابل حل (درصد وزنی)	۲-۱
ظرفیت عملی جذب آب شهر (g/g)	۱۹۰
ظرفیت عملی جذب آب مقطر (g/g)	۲۲۰
ظرفیت عملی جذب محلول ٪۰/۹ (۰/۱۵ مولار) نمک سدیم کلرید (g/g)	۴۵
ظرفیت عملی جذب محلول ۰/۱۵ مولار کلسیم کلرید (g/g)	۱۷
ظرفیت عملی جذب محلول ۰/۱۵ مولار منیزیم کلرید (g/g)	۱۶

براساس نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف، بالاترین میزان اسانس در تیمار مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک) + کود زیستی (۲۰/۵ کیلوگرم در هکتار) و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد (۷/۴ کیلوگرم در هکتار) بدست آمد. میزان اسانس در تیمارهای دوم ۱۰/۶، سوم ۱۹/۲، چهارم ۱۳/۸، پنجم ۱۰/۲، ششم ۲۰/۵ و هفتم ۱۵/۱ کیلوگرم در هکتار حاصل شد. همان‌گونه که ملاحظه می‌گردد، در ارزیابی عملکرد اسانس کلیه تیمارهای حاوی مصرف متعادل کود (T_3، T_6 و T_7) دارای میزان حداکثری عملکرد اسانس بودند (شکل ۴).

در ارزیابی کیفیت اسانس پس از آنالیز دستگاهی و تفسیر نتایج آن، تعداد ۱۵ ترکیب در اسانس به‌لیمو شناسایی شدند که در مجموع بیش از ۹۰٪ از کل اجزا را به خود اختصاص دادند (جدول ۴). ترکیب ها با میزان حداکثر در تمام تیمارها شامل ژرانیال، نرال، لیمونن و ۸،۱-سینئول بودند. هرچند این چهار ترکیب دارای ارزش دارویی و صنعتی هستند، اما نرال و ژانیال به‌عنوان ترکیب‌های اصلی دارای کاربرد گسترده‌ای در صنایع مختلف هستند و شاخص و ارزش دارویی و صنعتی این گیاه وابسته به این دو ترکیب است. به‌طور کلی، آنچه در رابطه با اجزای تشکیل‌دهنده یک اسانس دارای اهمیت بوده و در واقع ارزش کیفی اسانس را تبیین می‌سازند، ترکیب‌های اصلی (main compounds) می‌باشند. ترکیب های اصلی در واقع بیشترین درصد اسانس را شامل می‌شوند.

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) پارامترهای مختلف گیاه دارویی به‌لیمو تیمارشده با کودهای زیستی و شیمیایی

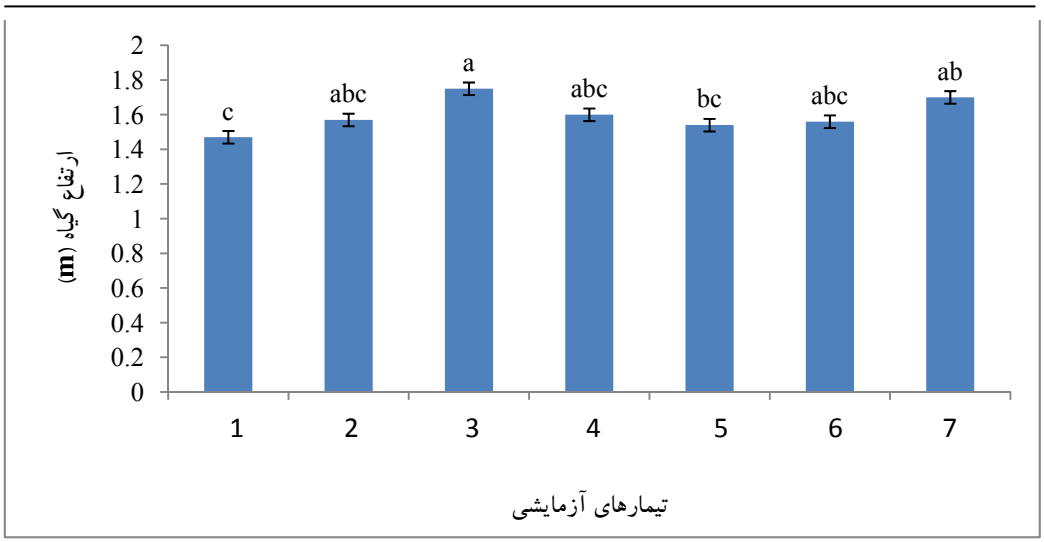
منبع تغییرات	درجه آزادی	MS			
		ارتفاع	عملکرد شاخساره تر	عملکرد برگ خشک	عملکرد اسانس
تکرار	۲	۰/۰۰۶۱۰۰ ns	۱۳۷۳۲۲۷۹۶ ns	۳۲۶۴۴ ns	۱۶/۶۸ ns
تیمار	۶	۰/۰۴۵۰۳۲ **	۵۰۹۳۹۵۹۲۸ **	۲۷۵۵۲۵ **	۶۹/۵۸ **
خطای آزمایشی	۱۲	۰/۰۰۵۳۲۲	۵۹۰۸۴۳۸۸	۴۳۰۳۱	۱۰/۸۷

**: معنی‌داری در سطح ۱٪

ns: عدم معنی‌داری

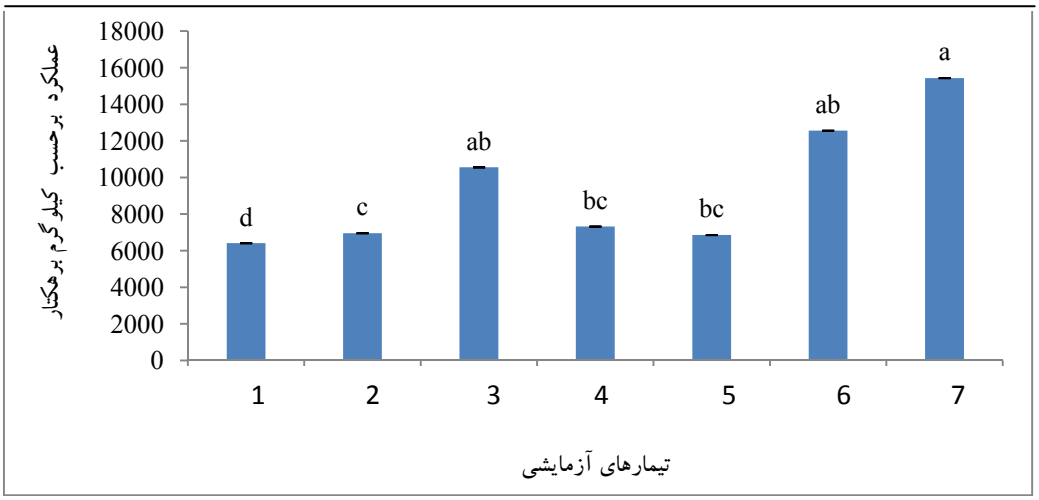
جدول ۴- ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس گیاه دارویی به‌لیمو (*Lippia citriodora*)، تیمارشده با کودهای زیستی و شیمیایی

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6	T_7
۱	α-pinene	۹۵۹	۰/۸	۰/۹	۰/۴	۰/۷	۰/۶	۰/۶	۰/۸
۲	sabinen	۹۸۷	۰/۴	۰/۵	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۳
۳	β-pinene	۹۹۶	۵/۸	۵/۹	۳	۴/۶	۴/۴	۳/۶	۵/۴
۴	limonene	۱۰۴۷	۱۷	۱۷/۲	۱۲/۲	۱۵/۷	۱۳/۴	۱۳/۶	۱۴/۷
۵	1,8-cineol	۱۰۵۵	۱۱/۶	۱۰/۶	۶/۶	۹/۵	۷/۱	۶/۹	۹/۷
۶	Linalool	۱۱۱۱	۰/۷	۰/۵	۰/۴	۰/۴	۰/۸	۰/۴	۰/۸
۷	terpin-4-ol	۱۱۹۰	۲/۲	۲/۲	۱/۸	۱/۸	۱/۳	۱/۶	۱/۹
۸	neral	۱۲۵۵	۱۷/۶	۱۸/۹	۲۲/۱	۲۰	۱۹	۲۲/۹	۲۰/۴
۹	geranial	۱۲۷۷	۲۳	۲۲/۳	۲۷/۸	۲۵	۲۳/۱	۲۹/۴	۲۳/۱
۱۰	Z-β-caryophyllene	۱۴۷۱	۰/۱	–	۰/۲	۰/۲	۰/۳	۰/۲	–
۱۱	E-β-caryophyllene	۱۲۸۲	۲/۲	۳/۶	۴/۸	۳/۹	۵/۷	۳/۸	۳/۲
۱۲	allo-aromadendrene	۱۵۱۹	۴	۴/۴	۵/۱	۴/۳	۵/۷	۴/۱	۴/۲
۱۳	β–Guaiene	۱۵۳۸	۰/۶	۰/۳	۱/۱	۰/۲	۱/۲	۰/۷	–
۱۴	spathulenol	۱۶۴۸	۲/۴	۲/۶	۲/۶	۲/۶	۲/۸	۲	۳
۱۵	caryophyllene oxide	۱۶۵۹	۳/۱	۲/۷	۳	۴/۳	۴/۲	۲/۹	۵/۴
	مجموع	–	۹۱/۵	۹۲/۶	۹۱/۳	۹۳/۴	۸۹/۸	۹۲/۹	۹۲/۹



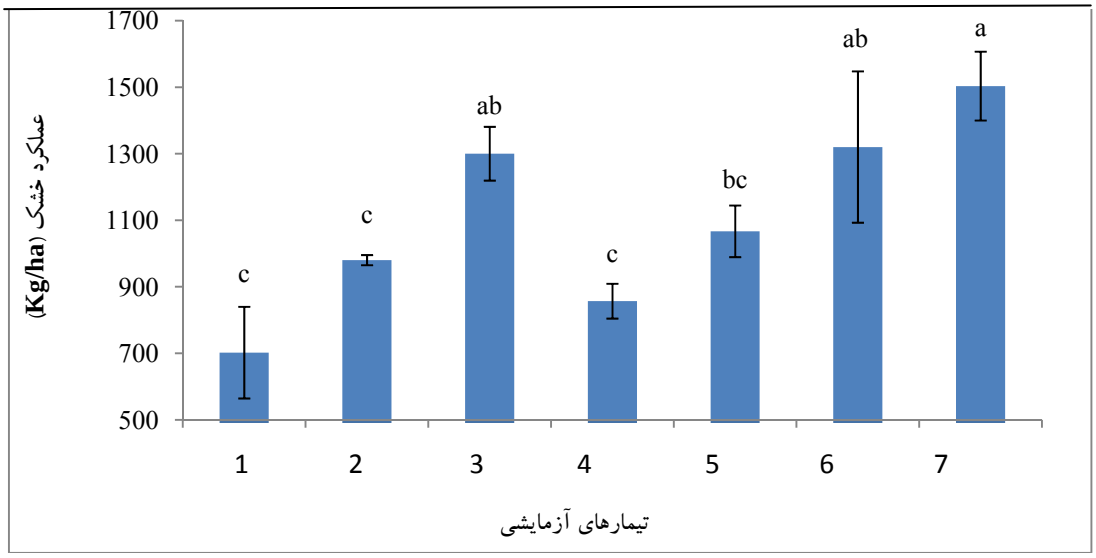
شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف کودی بر ارتفاع گیاه دارویی به‌لیمو

۱: شاهد (بدون کوددهی)؛ ۲: کوددهی سنتی (براساس عرف زارع)؛ ۳: مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک)؛
۴: کود زیستی؛ ۵: کوددهی سنتی (براساس عرف زارع) همراه با کود زیستی؛ ۶: مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی؛
۷: مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی و پلیمر سوپرجاذب



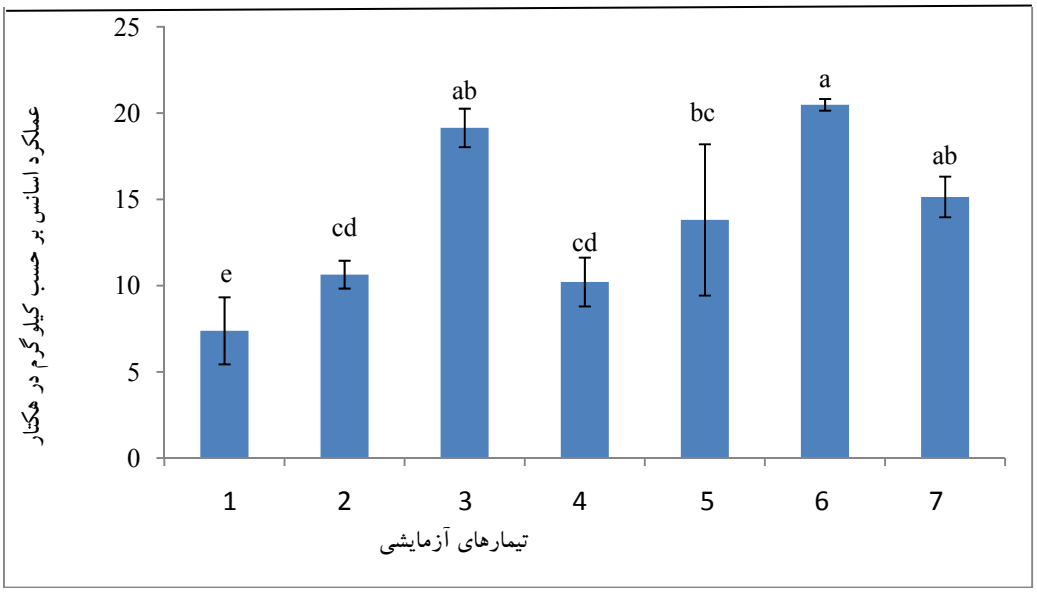
شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف کودی بر عملکرد پیکره رویشی تر گیاه دارویی به‌لیمو

۱: شاهد (بدون کوددهی)؛ ۲: کوددهی سنتی (براساس عرف زارع)؛ ۳: مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک)؛
۴: کود زیستی؛ ۵: کوددهی سنتی (براساس عرف زارع) همراه با کود زیستی؛ ۶: مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی؛
۷: مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی و پلیمر سوپرجاذب



شکل ۳- اثر تیمارهای مختلف کودی بر عملکرد برگ خشک گیاه دارویی به‌لیمو

۱: شاهد (بدون کوددهی)؛ ۲: کوددهی سنتی (براساس عرف زارع)؛ ۳: مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک)؛
۴: کود زیستی؛ ۵: کوددهی سنتی (براساس عرف زارع) همراه با کود زیستی؛ ۶: مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی؛
۷: مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی و پلیمر سوپرجاذب



شکل ۴- اثر تیمارهای مختلف کودی بر عملکرد اسانس در گیاه دارویی به‌لیمو

۱: شاهد (بدون کوددهی)؛ ۲: کوددهی سنتی (براساس عرف زارع)؛ ۳: مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک)؛
۴: کود زیستی؛ ۵: کوددهی سنتی (براساس عرف زارع) همراه با کود زیستی؛ ۶: مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی؛
۷: مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی و پلیمر سوپرجاذب

بحث

گزارش‌های متفاوتی درباره تأثیر کاربرد کودهای شیمیایی و زیستی بر ارتفاع گیاهان وجود دارد. سعیدنژاد و رضوانی‌مقدم (۱۳۸۸) طی پژوهشی که به ارزیابی اثر کودهای شیمیایی بر خصوصیات مورفولوژیکی، عملکرد، اجزای عملکرد و درصد اسانس گیاه دارویی زیره سبز (*Cuminum cyminum*) پرداختند؛ چنین گزارش کردند که بین تمامی تیمارهای مورد مطالعه و تیمار شاهد (بدون کوددهی) از نظر ارتفاع بوته اختلاف معناداری وجود داشت. در حالی‌که بین تیمارهای ازتوباکتر، ازتوباکتر و کود شیمیایی اختلاف معناداری وجود نداشت. بیشترین ارتفاع بوته در تیمار تلقیح با ازتوباکتر و سودوموناس حاصل شد و پس از آن تیمارهای ازتوباکتر، کود شیمیایی و سودوموناس بیشترین ارتفاع را نسبت به تیمار شاهد داشتند. در بررسی اثر همزیستی قارچ اندومیکوریزایی *Glomus etunicatum* بر شاخص‌های مورفولوژیک گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) مشخص گردید که این قارچ تأثیر معناداری بر روی ارتفاع گیاه نداشت (Sharifi *et al*., 2011). کاربرد کودهای زیستی (ازتوباکتر، آزسپیریلوم و میکوریزا) باعث افزایش ارتفاع گیاه، شاخص سطح برگ، تجمع ماده خشک و سرعت رشد محصول در مقایسه با گیاهان شاهد در سیاهدانه (*Majorana hortensis* L.) گردید (Fatma *et al*., 2006). استفاده از کود زیستی بیوفسفات بر ارتفاع و عملکرد بیولوژیکی رازیانه اثر معناداری داشته است (Darzi *et al*., 2006). به‌طوری که بهبود شاخص‌های رشدی و عملکردی رازیانه ازجمله ارتفاع، تعداد شاخه اصلی و فرعی، تعداد چترک در چتر، وزن دانه در چترک و عملکرد دانه در اثر استفاده از کودهای زیستی و آلی گزارش شده‌است (Darzi *et al*., 2006). همچنین کاربرد کودهای بیولوژیک منجر به افزایش ارتفاع و قطر بوته، وزن تر و خشک بوته و عملکرد اسانس گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*) گردیده است (Koocheki *et al*., 2008). آن‌چه مسلم بوده این است که ارتفاع گیاه بیشتر تحت تأثیر شرایط محیطی و اقلیم محل رویش قرار می‌گیرد. البته در دسترس بودن آب و عناصر غذایی ضروری گیاه از طریق افزایش تعداد گره‌ها و طول میان‌گره‌ها، ارتفاع گیاه را تا حدی تحت تأثیر قرار می‌دهد. واکنش‌پذیری متفاوت گیاهان نسبت به این نهاده‌ها و همچنین نوع و ترکیب کود استفاده شده می‌تواند ازجمله عوامل مؤثر در این زمینه باشد.

در ارزیابی وزن تر هر چند با اضافه کردن کود زیستی اختلاف نسبت به تیمار مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک) معنی‌دار نشد، اما شواهد در سایر مطالعات حکایت از آن داشت که کودهای زیستی با اعمال تغییرات و مکانیسم‌هایی نظیر تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و رهاسازی مواد ارتقاءدهنده رشد مانند ایندول‌استیک‌اسید و جیبرلین (Fayaz *et al*., 1985)، همچنین با افزایش حلالیت فسفر توسط باکتری‌های حل‌کننده فسفات؛ علاوه‌بر آن‌که سبب حلالیت بیشتر فسفر شده، بلکه باعث افزایش جذب عناصر کم‌مصرف نیز می‌گردند (Mahfouz & Sharaf-Eldin, 2007).

در یک آزمایش که به‌منظور مقایسه اثر کودهای شیمیایی (NPK) و زیستی بر روی گیاه دارویی بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.) انجام شد، بیشترین عملکرد ماده خشک برگ، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک، به تیمار کود شیمیایی (NPK) تعلق داشت (Rahimzadeh *et al*., 2011). طی پژوهشی توسط شاه‌حسینی و همکاران (۱۳۹۱) مشخص گردید که کاربرد سوپرجاذب به همراه کودهای زیستی نیتروکسین و بیوسولفور سبب افزایش عملکرد وزن خشک در گیاه دارویی ریحان گردید. همچنین مشخص شد که تیمار حاوی نیتروکسین و بیوسولفور که فاقد پلیمر سوپرجاذب بود از عملکرد کمتری نسبت به تیمار حاوی سوپرجاذب به همراه نیتروکسین و بیوسولفور برخوردار بود.

ترکیب پلیمرهای سوپرجاذب و مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک) و کود زیستی نسبت به سایر تیمارها دارای بیشترین عملکرد تر را تولید نمودند. پلیمرهای سوپرجاذب می‌توانند آب حاصل از آبیاری را جذب کرده، از فرونشست عمقی آن جلوگیری کنند و کارایی مصرف آب را افزایش دهند. تحقیقات نشان داده این مواد با نگهداری آب در شرایط تنش خشکی باعث بهبود عملکرد و اجزای عملکرد در ذرت (فاضلی و همکاران، ۱۳۸۹) و افزایش شاخص‌های کیفی و رشدی در گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium*) شدند (قاسمی و خوشخوی، ۱۳۸۶) .

یک گیاه سه‌کربنه نظیر به‌لیمو، در فرایند فتوسنتز به ازای

هر مولکول CO_2، به‌طور متوسط ۵۰۰ مولکول آب از دست می‌دهد. بر اثر تنش آبی و بسته شدن روزنه‌ها میزان فتوسنتز در برگ‌ها کاهش می‌یابد (Bunce, 1991) که متعاقباً با کاهش میزان فتوسنتز، تولید ترکیب‌های هیدروکربن در گیاه کاهش یافته و با رقابت بین ریشه و سایر اندام‌های گیاهی سبب کاهش تولید در عملکرد اندام هوایی گیاه می‌گردد. بر این اساس می‌توان اظهار داشت که پلیمر سوپرجاذب با حفظ آب و جلوگیری از تنش، سبب افزایش عملکرد پیکره رویشی در گیاه به‌لیمو شده است. در عملکرد برگ خشک این گیاه تیمارهای مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک) + کود زیستی + پلیمر سوپرجاذب، مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک) + کود زیستی و مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک) بیشترین مقادیر را به خود اختصاص دادند. البته در این تیمارها اثرات کود زیستی در رابطه با در دسترس قرار دادن سایر عناصر و افزایش عملکرد مشهود است (Marschner, 1995).

در مورد نتایج حاصل از این تحقیق در مورد بازده اسانس می‌توان گفت به‌طور کلی سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاه متأثر از متابولیت‌های اولیه می‌باشد و هر عاملی که سبب تقویت فتوسنتز و متابولیت‌های اولیه در گیاه گردد، افزایش مقادیر متابولیت‌های ثانویه را نیز درپی دارد. بیوسنتز اسانس‌ها وابسته به ترکیب‌هایی مانند ATP و NADPH (فرآورده‌های فتوسنتز) می‌باشد و از آن‌جا که حضور فسفر و سایر عناصر غذایی و در دسترس قرارگرفتن آنها برای تشکیل ترکیب‌های اخیر ضروری می‌باشد، بنابراین می‌توان اظهار داشت که مصرف کودهای شیمیایی و زیستی با فراهم نمودن بستر فتوسنتز و تولید این ترکیب‌ها، موجب افزایش اسانس در گیاه نسبت به تیمار شاهد شده است.

شاه‌حسینی و همکاران (۱۳۹۱) در پژوهش خود روی گیاه دارویی ریحان گزارش کردند که استفاده از پلیمر سوپرجاذب به همراه کود زیستی بیوسولفور و نیتروکسین باعث افزایش میزان اسانس تولیدی گردید که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. Rahimzadeh و همکاران (۲۰۱۱)، در آزمایشی که به بررسی تأثیر کاربرد کودهای شیمیایی و زیستی بر عملکرد و درصد اسانس گیاه دارویی بادرشبی پرداختند؛ نشان دادند که بین تیمار کود زیستی و کود شیمیایی از نظر عملکرد اسانس تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. در آزمایش مذکور نوع کود شیمیایی بدون در نظر گرفتن تجزیه خاک انتخاب گردیده که یکی از دلایل تفاوت میان نتایج حاصل از این تحقیق با نتیجه پژوهش حاضر، می‌تواند این موضوع باشد.

ترکیب‌های اصلی اسانس یعنی نرال و ژرانیال به‌عنوان طعم‌دهنده داروها و همچنین در صنایع عطر و ادکلن‌سازی کاربرد فراوانی دارند (Abbaszadeh *et al*., 2006؛ Habashi *et al*., 2009؛ Ghannadnia *et al*., 2011). از نظر مجموع این دو ترکیب به‌عنوان ترکیب‌های اصلی، تیمارهای شاهد (بدون کوددهی) و مصرف متعادل کود (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک) + کود زیستی به‌ترتیب با کسب مقادیر ۴۱/۲٪ و ۵۲/۲۷٪، کمترین و بیشترین میزان را به خود اختصاص دادند. البته در قیاس با شاهد (بدون کوددهی) تأثیر نهاده‌های زیستی و شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش بر افزایش این ترکیب‌ها مشهود است.

با وجود آن‌که در این مطالعات به وضعیت تغذیه‌ای گیاه اشاره نشده‌است، اما از نظر وجود ترکیب‌های اصلی با پژوهش حاضر تا حد زیادی دارای تطابق هستند. اختلافات در اجزای اسانس بین مطالعات مختلف را می‌توان به شرایط حاکم بر پرورش گیاه ازجمله تغذیه آن نسبت داد. هرچند عملکرد، اجزای عملکرد، میزان و کیفیت ترکیب‌های مواد مؤثره گیاه دارویی تحت تأثیر ژنتیک و شرایط اقلیمی، تغذیه‌ای و ادافیکی آن می‌باشد (امیدبیگی، ۱۳۸۸)، اما نتایج این پژوهش به خوبی نشان داد که استفاده صحیح و اصولی از کودهای شیمیایی و زیستی متناسب با کمبود خاک و براساس آزمون خاک، سبب افزایش عملکرد رویشی و اعتلای کمّی و کیفی متابولیت‌های ثانویه در گیاه دارویی به‌لیمو می‌گردد. در تبیین تیمارهای برتر کودی در یک گیاه دارویی باید به برهم‌کنش کلیه پارامترهای مورد ارزیابی توجه گردد؛ بر این اساس در این پژوهش تیمارهای حاوی مصرف متعادل کود (T_3، T_6 و T_7) به‌عنوان تیمارهای برتر معرفی می‌شوند. در رابطه با استفاده همزمان کودهای زیستی و مصرف متعادل کودهای شیمیایی (کوددهی براساس نتایج تجزیه خاک) گذشته از افزایش عملکرد، به علت پویا شدن جمعیت میکروبی خاک و افزایش حاصلخیزی و باروری خاک تیمار مربوطه (T_6) قویاً توصیه می‌گردد. در تیمار حاوی سوپرجاذب (T_7) توصیه می‌گردد تحقیقاتی

تکمیلی پیرامون مقادیر متفاوت استفاده این ماده و مقادیر متفاوت آب آبیاری، دور آبیاری هم با توجه به ظرفیت زراعی خاک و آستانه‌های تنش خشکی انجام شود تا با توجیه تعادلی کاهش مصرف آب توسط سوپرجاذب و افزایش عملکرد و از سویی هزینه این ماده، با اطمینان کامل بتوان اِعمال آن را توصیه نمود.

سپاسگزاری

از مسئولان محترم شرکت شیمی کود زنجان به دلیل در اختیار قرار دادن کودهای شیمیایی و زیستی به‌صورت رایگان برای انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- امین، غ.، ۱۳۸۷. گیاهان دارویی سنتی ایران (جلد اول). انتشارات معاونت پژوهشی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، ۳۰۰ صفحه.
- الهدادی، ا.، ۱۳۸۱. مطالعه اثر پلیمرهای سوپرجاذب بر کاهش تنش خشکی گیاهان. دومین کارگاه آموزشی کاربرد کشاورزی و صنعتی هیدروژل‌های سوپرجاذب. پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، ۱۶ آبان.
- امیدبیگی، ر.، ۱۳۸۸. تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد ۱). انتشارات آستان قدس رضوی، ۳۴۸ صفحه.
- رضایی، م.ب. و جایمند، ک.، ۱۳۸۰. بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس به‌لیمو (*Lippia citrodora*). پژوهش و سازندگی، ۵۳(۳): ۱۳-۱۵.
- سعیدنژاد، ا.م. و رضوانی‌مقدم، پ.، ۱۳۸۸. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیک و شیمیایی بر خصوصیات مورفولوژیکی، عملکرد، اجزای عمکرد و درصد اسانس گیاه دارویی زیره سبز (*Cuminum cyminum*). علوم باغبانی، ۲۴(۱): ۴۴-۳۸.
- سلطانی‌پور، م.، مرادشاهی، ع.، رضایی، م.ب. و برازنده، م.م.، ۱۳۸۲. بررسی کمّی و کیفی اسانس گیاه مورخوش (*Zhumeria majdae*) در مراحل مختلف رشد رویشی. پژوهش و سازندگی، ۶۰: ۹۲-۸۰.
- شاه‌حسینی، ر.، امیدبیگی، ر. و کیانی، د.، ۱۳۹۱. بررسی اثر کودهای زیستی بیوسولفور و نیتروکسین و پلیمر سوپرجاذب بر رشد، عملکرد و کمّیت اسانس گیاه دارویی ریحان. علوم باغبانی، ۲۶(۴): ۲۵۴-۲۴۶.
- عابدی کوپایی، ج. و سهراب، ف.، ۱۳۸۳. ارزیابی اثر کاربرد پلیمرهای ابرجاذب بر ظرفیت نگهداشت و پتانسیل آب بر سه نوع خاک. علوم و تکنولوژی پلیمر، ۱۷(۳): ۱۷۳-۱۶۳.
- علوی، ل.، جباری، ا.، برزگر، م. و نقدی‌بادی، ح.، ۱۳۸۷. ترکیبات شیمیایی و اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس به‌لیمو و آویشن. هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ۲۶-۲۴ مهر: ۶-۱.
- فاضلی رستم‌پور، م.، ثقه‌الاسلامی، م.ج. و موسوی، غ.، ۱۳۸۹. بررسی تأثیر تنش خشکی و سوپرجاذب بر محتوی نسبی آب و شاخص کلروفیل برگ و رابطه آنها با عملکرد دانه در ذرت. فیزیولوژی گیاهان زراعی، ۶(۱): ۳۱-۱۹.
- قاسمی، م. و خوشخوی، م.، ۱۳۸۶. اثر پلیمر ابرجاذب بر دور آبیاری و رشد و نمو گیاه داودی. علوم و فنون باغبانی ایران، ۸(۲): ۸۲-۶۵.
- کبیری، ک.، ۱۳۸۴. هیدروژل‌های سوپرجاذب، معرفی و کاربردها. سومین دوره آموزشی و سمینار کاربرد کشاورزی هیدروژل‌های سوپرجاذب، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، ۱۶ آبان.
- مظفریان، و.، ۱۳۸۸. فرهنگ نام‌های گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، ۷۴۰ صفحه.
- ملکوتی، م.ج.، کشاورز، پ. و کریمیان، ن.، ۱۳۸۷. روش جامع تشخیص و توصیه بهینه کود برای کشاورزی پایدار. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس تهران. ۷۵۷ صفحه.
- Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, A., Ardakani, M.R., Lebaschi, M.H., Safikhani, F. and Naderi Hajibagher Kandi, M., 2006. Effect of application methods of nitrogen fertilizer on essential oil content and composition of balm (*Melissa officinalis* L.) under field condition. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 22(3): 220-223.
- Abed, L. and Benmerabet, K., 1981. Interred de 1'apport en potassium et sodium des infusions de plantes medicinales. Plantes Medicinales, Phytotherapie, 15(2): 92-98.
- Ali, H.F.M., El-Beltag, H.S. and Nasr, N.F., 2008. Assessment of volatile components, free radical-scavenging capacity and anti-microbial activity of Lemon Verbena leaves. Research Journal of Phytochemistry, 2(2): 84-92.
- Bellakhdar, J., Idrisi, A., Canigueral, S., Iglesias, J. and Vila, R., 1993. Analysis of the essential oil of the Odorant Vervain (*Lippia citriodora* H. B. K.). Plantes Medicinales, Phytotherapie, 26: 269-273.
- Bunce, J.A., 1991. Comparative response of leaf conductance to humidity in single attached leaves. Journal of Experimental Botany, 32(128): 629-634.
- 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(4): 276-292.

assisted with headspace solid phase microextraction coupled with GC-MS. Journal of Nanomaterials and Biostructures, 6: 319-323.
- Mojab, F., Zarghi, A., Yamohammadi, M. and Javidnia, K., 2002. Essential oil of *Lippia citriodora* H. B. K. (Verbenaceae). Journal of Medicinal Plants, 1(4): 41-45.
- Montes, M., Valenzuela, L., Wilkomirsky, T. and Arrive, M., 1973. Composition of the essential oil from *Aloysia triphylla* (Cedron). Planta Medica, 23(2): 119-124.
- Nakamura, T., Okuyama, E., Tsukada, A., Yamazaki, M., Satake, M., Nishibe, S., Deyama, T., Moriya, A., Maruno, M. and Nishimura, H., 1997. Acteside as the analgesic principle of cedron (*Lippia triphylla*), a Peruvian medicinal plant. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 45(3): 499-504.
- Rahimzadeh, S., Sohrabi, Y. Heidari, Gh., Eivazi, A.R. and Hoseini, T., 2011. Effect of bio and chemical fertilizers on yield and quality of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 27(1): 81-96.
- Sanches Govin, E., Rodrigues Gonzales, H., Carballo Guerra, C. and Milanés Figueredo, M., 2005. Influencia de los abonos organicos y biofertilizantes en la calidad de las species medicinales *Calendula officinalis* L. y *Matricaria recutita* L. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 10(1): 1-4.
- Sharifi, M., Mohtashamian, M., Riyahi, H. and Alavi, S.M., 2011. The effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) *Fungus glomus* etunicatum on growth and some physological parameters of basil. Journal of Medicinal Plants, 10(38): 85-94.
- Sharma, A.K., 2002. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios, India, 300p.
- Shibamoto, T., 1987. Retention indices in essential oil analysis: 259-275. In: Sandra, P. and Bicchi, C., (Eds.). Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis. Heuthig Verlag, New York, 435p.
- Skaltsa, H. and Shammas, G., 1988. Flavonoids from *Lippia citriodora*. Planta Medica, 54(5): 465-467.
- Torrent Martia, M.T., 1976. Some pharmacognostic and pharmacodynamic aspects of Lippia citriodora. Revista Brasileira de Farmacognosia, 14: 39-55.
- Zaied, K.A., Abd-El-Hady, A.H., Afify, A.H. and Nassef, M.A. 2003. Yield and nitrogen assimilation of winter wheat inoculated with new recombinant inoculants of rhizobacteria. Pakistan Journal of Biological Sciences, 6(4): 344-358.
- Zygadlo, J.A., Lanarque, A.L., Maserti, D.M., Guzman, C.A., Lucini, E.I., Grosso, N.R. and Ariza-Espinar, L., 1994. Volatile constituents of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. Journal of Essential Oil Research, 6(4): 407-409.
- Davies, N.W., 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes of methyl silicons and carbowax 20m phases. Journal of Chromatography A, 503: 1-24.
- Fayaz, M., Emam N.F. and Makboul H.E., 1985. The possible use of nitrogen fixing Azospirilum as biofertilizer for wheat plants. Egyptian Journal of Microbiology, 20(2): 199-206.
- Fatma, E.M., El-Zamik, I., Tomader, T., Hadidy, H.I. and Seham, H., 2006. Efficiency of biofertilizers, organic and inorganic amendments application on growth and essential oil of marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants growth in sandy and calcareous soils. Zagazig Journal of Agriculture, 33: 205-230.
- Ghannadnia, M., Haddad, R., Zarinkamar, F. and Sharifi, F., 2011. Different expression of limonene synthase gene in organs and developmental stages of cumin (*Cuminum cyminum* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 27(3): 495-508.
- Gomes, P.C.S., Oliveira, H.R.C., Vicente, A.M.S. and Ferreira, M.F., 2006. Production, transformation and essential oils composition of leaves and stems of Lemon Verbena [*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton] grown in Portugal. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 8: 130-135.
- Habashi, M., Mirza, M., Mostofi, Y. and Jaimand, K., 2009. Identification and comparison of the essential oil components from the peel of citron (*Citrus medica* L.) by using two extraction methods (hydrodistillation and cold press). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 24(4): 428-436.
- Haq, I., 2004. Safety of medicinal plants. Pakistan Journal of Medical Research, 43(4): 41-49.
- Kalra, A., 2003. Organic cultivation of medicinal and aromatic plant. A hope for sustainability and quality enhancement. Journal of Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye-Yielding Plants (MADPs). FAO, 198p
- Koocheki, A., Tabrizi, L. and Ghorbani, R., 2008. Effect of biofertilizers on agronomic and quality criteria of Hyssop (*Hyssopus officinalis*). Journal of Iranian Field Crop Research, 6(1): 127-137.
- Mahfouz, S.A. and Sharaf-Eldin, M.A., 2007. Effect of mineral, biofertilizer on growth, yield and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Egypt. International Agrophysics, 21: 361-366.
- Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plant. Academic Press, New York, 890p.
- Mena-Violent, H.G. and Olalde-Portugal, V., 2007. Alternation of tomato fruit quality by root inoculation with plant promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. Scientia Horticulture, 113: 103-106.
- Meshkatalsadat, M.H., Papzan, A.H. and Abdolhadi, A., 2010. Determination of bioactive volatile organic components of *Lippia citriodora* using ultrasonic

Effect of balanced fertilization, biofertilizers and superabsorbent polymer on the yield and chemical compound characteristics of lemon verbena (*Lippia citriodora* H. B. et K.)

A.A. Zarea[1], M.J. Malakouti[2*], H.A. Bahrami[3], F. Sefidkon[4] and R. Shahhosseini[5]

1- MSc. Gratuate, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modaress University, Tehran, Iran.
2*- Coressponding author, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modaress University, Tehran, Iran.
E-mail: mjmalakouti@modares.ac.ir
3- Researvh Division of Medicinal Plants, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran
4- MSc. Gratuate, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modaress University, Tehran, Iran
5- Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modaress University, Tehran, Iran

Received: February 2013 Revised: May 2013 Accepted: May 2013

Abstract

Lippia citriodora H. B. et K. is a valuable medicinal plant whose extract, as its main chemical composition, has active components such as Geranial and Limonene widely used in pharmaceutical, food, cosmetic and health industries. In medicinal plants, balanced fertilization using chemical and biological inputs has great effect on yield and phytochemicals related to yield production. This study was conducted in the greenhouse of Tarbiat Modares University. In this experiment, seven treatments were performed in a completely randomized block design with three replications. The aim of this study was to investigate the effects of balanced fertilization and super-absorbent polymer on the chemical components and yield of *Lippia citriodora*. After planting and harvesting operations and growth performance measurements, essential oil was dehydrated by distilled water method using Clevenger and Sodium sulfate. Using gas chromatography and gas chromatography connected to spectrum, 15 compounds were determined in essential oil, consisting more than 90% of essential oil components. Results showed that there was a significant difference among treatments ($p< 0.01$). The lowest and highest fresh yield were related to control (6410 $kg.ha^{-1}$) and balanced fertilization + bio-fertilizer + super-absorbent polymer (15435 kg. ha^{-1}) treatments, respectively. The lowest and highest dry leaf yield were obtained in control (702 $kg.ha^{-1}$) and balanced fertilization + bio-fertilizer + super-absorbent polymer (1503 kg. ha^{-1}) treatments, respectively. The lowest and highest essential oil content was achieved in control (7.4 $kg.ha^{-1}$) and balanced fertilization + bio-fertilizer + super-absorbent polymer (20.5 $kg.ha^{-1}$) treatments, respectively. In terms of overall essential oil components, the minimum and maximum contents of Neral and Geranial were obtained in control and balanced fertilization treatments with 41.2% and 52.27%, respectively.

Keywords: *Lippia citriodora* H. B. et K., balanced fertilization, super-absorbent polymer, yield, essential oil, components.