Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research
Vol. 40, No. 4, Page 751-769 (2024)

DOI: 10.22092/ijmapr.2024.363520.3374

Evaluation the effects of green manure, Bio- and organic fertilizers on the dry matter yield, essential oil content and composition of peppermint (*Mentha piperita* L.)

Mousa Jamali[1], Abdollah Javanmard[2*], Mohammadreza Morshedloo[3], Mojtaba Nouraein[4] and Mostafa Amani Machiani[4]

1- Ph.D. student of Agrotechnology-Crop Ecology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
2*- Corresponding author, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran, E-mail: a.javanmard@maragheh.ac.ir
3- Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
4- Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

Received: September 2023 Revised: May 2024 Accepted: July 2024

Abstract

Background and objectives: In recent years, green manure has received attention due to its positive effects on soil health and the quality and quantity of plants. It has been reported that intercropping legumes with cereal as green manures improves soil fertility and nutrient availability, increasing plant productivity. In addition to green manures, applying organic (vermicompost) and biofertilizers (arbuscular mycorrhizal fungi) can positively affect the plant's productivity and quality. Considering the adverse effects of chemical fertilizers on the bio-active compounds of medicinal and aromatic plants, improving the quantity and quality characteristics, especially in low-input conditions, has become a significant challenge in the agricultural sector. Therefore, the study aimed to investigate the effectiveness of green manures and bio- and organic fertilizers on the nutrient content and morphological and phytochemical characteristics of peppermint.

Methodology: The experiment was conducted as a randomized complete block design (RCBD) with 8 treatments and three replications at the Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran, in 2022. The treatments included green manures [barley monoculture, hairy vetch monoculture and replacement intercropping of 75% hairy vetch+ 25% barley, 50% hairy vetch+ 50% barley and 25% hairy vetch+ 75% barley], arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and vermicompost. Before harvesting, peppermint's growth characteristics, including plant height, number of leaves, number of nodes, and number of lateral branches, were randomly measured in 10 samples from each treatment. To measure the dry matter yield of peppermint, 3.2 m2 of each plot was harvested randomly after removing the marginal effects. The peppermint EO was extracted using a Clevenger by water distillation. Moreover, the EO constituents were analyzed using GC-MS (GC–MS; 5977A, Agilent) and GC-FID (Agilent 7990B). Data analysis was performed with SAS (version 9.3) software. Also, the significant differences among means were compared with the LSD test at $P< 0.05$.

Results: The results demonstrated that the highest N (18.05 g kg-1) and K (18.25 g kg-1) content was obtained by applying green manure as intercropping of 50% hairy vetch+50%

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

barley. However, the highest content of P (1.75 g kg-1) was achieved in the AMF application. The maximum dry yield of peppermint (292.67 g m-2) was observed when green manure was applied as an intercropping of 50% hairy vetch+50% barley, which had no significant difference from the AMF application. Additionally, the maximum essential oil content (1.84%) and essential oil yield (5.39 g m-2) was achieved by applying green manure as intercropping of 50% hairy vetch+50% barley. The essential oil analysis showed that the significant constituents of peppermint essential oil were menthol (32.74-38.06%), menthone (18.33-21.42%), and 1,8cineol (5.20-6.12%). The maximum content of menthol and cineol was obtained by applying green manure as intercropping of 50% hairy vetch+50% barley.
Conclusion: Generally, the study results demonstrated that applying green manure as intercropping of 50% hairy vetch+50% barley as a sustainable strategy can improve peppermint's essential oil quantity and quality.

Keywords: Mycorrhiza fungus, sustainable agriculture, essential oil quality, menthole, cineol.

ارزیابی اثر کودهای سبز، زیستی و آلی بر عملکرد ماده خشک، کمّیت و کیفیت اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

موسی جمالی[۱]، عبدالله جوانمرد[۲*]، محمدرضا مرشدلو[۳]، مجتبی نورآیین[۴] و مصطفی امانی ماچیانی[۵]

۱- دانشجوی دکتری اگروتکنولوژی- اکولوژی گیاهان زراعی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

۲*- نویسنده مسئول، استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، پست الکترونیک: a.javanmard@maragheh.ac.ir

۳- دانشیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

۴- دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

۵- استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۲ تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۳

چکیده

سابقه و هدف: امروزه، استفاده از کودهای سبز در سیستم‌های کشاورزی پایدار بدلیل تأثیر مثبت آنها در افزایش سلامت و حاصلخیزی خاک و بهبود کمّیت و کیفیت عملکرد گیاهان بسیار مورد توجه قرار گرفته است. نتایج مطالعات قبلی نشان‌دهنده این است که کشت مخلوط گیاهان و استفاده از آنها به‌عنوان کود سبز نقش مؤثری در بهبود عملکرد کمّی و کیفی گیاهان دارد. علاوه بر استفاده از کودهای سبز، کاربرد کودهای آلی (ورمی‌کمپوست) و زیستی (قارچ آربوسکولار میکوریزا) هم می‌تواند اثر مثبتی بر عملکرد و کیفیت گیاهان داشته باشد. با توجه به اثرهای منفی کودهای شیمیایی بر کیفیت گیاهان دارویی و معطر، بهبود ویژگی‌های کمّی و کیفی این گیاهان به‌ویژه در شرایط کم‌نهاده به یک چالش بزرگ در بخش کشاورزی تبدیل شده است. ازاین‌رو، پژوهشی با هدف بررسی اثر کودهای سبز (به‌صورت کشت خالص و مخلوط)، آلی و زیستی بر عملکرد ماده خشک، کمّیت و کیفیت اسانس نعناع فلفلی انجام شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با هشت تیمار و سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه در سال ۱۴۰۱ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل کاربرد کود سبز (کشت خالص ماشک گل‌خوشه‌ای، کشت خالص جو، کشت مخلوط ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو و ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو)، کود زیستی (قارچ آربوسکولار میکوریزا)، ورمی‌کمپوست (۱۰ تن در هکتار) و عدم مصرف کود به‌عنوان تیمار شاهد بودند. قبل از برداشت، نمونه‌برداری از ۱۰ بوته به‌صورت تصادفی برای اندازه‌گیری صفات مورفولوژی از قبیل ارتفاع بوته، تعداد گره در بوته، تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی در بوته انجام گردید. پس از آن، برداشت از خطوط میانی با حذف اثرهای حاشیه‌ای در سطحی معادل ۳/۲ مترمربع انجام شد. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر (مدل فارماکوپه بریتانیا) انجام شد. برای شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل شده به طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) مدل Agilent 5977A و دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 7990B با آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) استفاده شد. در نهایت بعد از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ورژن ۹/۴ و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام گردید. همچنین، مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج: نتایج نشان داد بیشترین نیتروژن (۱۸/۰۵ گرم بر کیلوگرم) و پتاسیم (۱۸/۲۵ گرم بر کیلوگرم) در برگ نعناع فلفلی با کاربرد کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو بدست آمد. در حالی که بالاترین میزان فسفر نعناع فلفلی (۱/۷۵ گرم بر کیلوگرم) با کاربرد قارچ میکوریزا بدست آمد. همچنین بیشترین عملکرد ماده خشک نعناع فلفلی (۲۹۲/۶۷ گرم در متر مربع) به کاربرد کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو مربوط بود که با کاربرد قارچ میکوریزا تفاوت معنی‌داری نداشت. علاوه بر این، بالاترین میزان درصد (۱/۸۴٪) و عملکرد

اسانس نعناع فلفلی (۵/۳۹ گرم در متر مربع) به تیمار کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو تعلق داشت. آنالیز شیمیایی اسانس نشان داد که ترکیبات غالب موجود در اسانس نعناع فلفلی به‌ترتیب شامل منتول (۳۸/۱–۳۲/۷٪)، منتون (۲۱/۴–۱۸/۳٪) و ۱،۸–سینئول (۶/۱–۵/۲٪) بودند. بالاترین میزان منتول و سینئول با کاربرد کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو بدست آمد.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که کاربرد کود سبز مخلوط ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو به بهبود کمّیت و کیفیت اسانس (ترکیبات غالب اسانس از قبیل منتول و منتون) نعناع فلفلی منجر گردید.

واژه‌های کلیدی: قارچ میکوریزا، کشاورزی پایدار، کیفیت اسانس، منتول، سینئول.

مقدمه

نعناع فلفلی (*Mentha Piperita* L.) به‌عنوان یک گیاه چندساله دارویی متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است که مقدار مصرف سالانه اسانس آن در جهان به حدود ۷۰۰۰ تن می‌رسد (Amani Machiani *et al.*, 2018). نعناع فلفلی یک گیاه هیبرید است که والدین آن را *Mentha aquatic* و *Mentha spicata* ذکر کرده‌اند (Ostadi *et al.*, 2023). طعم تند برگ‌های آن سبب معروفیت این گیاه به نام نعناع فلفلی شده است. عملکرد تر آن با توجه به شرایط محیطی مختلف بین ۱۲ تا ۲۰ تن در هکتار متغیر است که حاصل آن، ۶۰–۳۰ کیلوگرم اسانس و ۳ تن در هکتار محصول خشک می‌باشد. بیش از ۹۹٪ غده‌های تولیدکننده اسانس در برگ‌ها و سرشاخه‌های گلدار این گیاه می‌باشند و شامل ۲–۱٪ اسانس، تانن، فلاونوئید، کولین و یک ماده تلخ هستند. اسانس نعناع فلفلی دارای ترکیب‌های منتول (۶۰–۴۰٪)، منتوفوران، منتون، پیپریتون، پولگون و سینئول است (Amani Machiani *et al.*, 2018).

امروزه برای رسیدن به حداکثر رشد و عملکرد گیاهان زراعی در سیستم‌های کشاورزی فشرده نیاز به مصرف عناصر غذایی و در دسترس قرار دادن آنها از طریق افزودن کودهای شیمیایی می‌باشد. تا سال ۱۹۰۰ در جهان تقاضا برای افزایش تولیدات کشاورزی با به زیر کشت بردن اراضی جدید تأمین می‌شد ولی این روش دوام چندانی نداشت. ازاین‌رو، ایده افزایش تولید در واحد سطح با کاربرد کودهای شیمیایی بیشتر قوت گرفت. به‌طوری که برآوردها نشان‌دهنده این است که میزان مصرف کودهای شیمیایی تا سال ۲۰۵۰ به ۲۶۳ میلیون تن در سال برسد که این موضوع نیز مشکلاتی از قبیل کاهش ماده آلی خاک، افزایش هزینه‌های تولید، آلودگی منابع طبیعی، آب‌های سطحی و زیرزمینی، افزایش آفات و بیماری‌ها، فرسایش شدید خاک و در نهایت تخریب منابع طبیعی را ایجاد کرده است (Yadava & Komaraiah, 2023). به همین دلیل، امروزه با گذشت سال‌ها از وقوع انقلاب سبز و کاهش دوباره نسبت رشد عملکرد، استفاده از سیستم‌های زراعی کم‌نهاده و ابداع شیوه‌های نوین مدیریت بهره‌برداری از منابع به منظور دستیابی به اهداف کشاورزی پایدار اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. در این بین، استفاده از کودهای بیولوژیک به منظور کاهش مصرف کودهای شیمیایی و افزایش عملکرد گیاهان زراعی راهبرد مهمی در جهت حرکت به سمت کشاورزی پایدار است. استفاده از جانداران مفید خاکزی تحت عنوان کودهای زیستی به‌عنوان طبیعی‌ترین و مطلوب‌ترین راه‌حل برای زنده و فعال نگه‌داشتن سیستم حیاتی خاک مطرح می‌باشد (Demir *et al.*, 2023). کودهای زیستی شامل مواد نگهدارنده و جمعیت متراکمی از یک یا چند نوع ارگانیسم مفید خاکزی و یا فرآورده متابولیکی آنهاست که فقط به منظور تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه در یک اکوسیستم زراعی بکار می‌روند (Hafez *et al.*, 2021). قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار (Arbuscular Mycorrhizal Fungi)، یکی از عوامل بیولوژیک خاک‌های زراعی هستند که به دلیل افزایش سطح مؤثر ریشه و به دنبال آن سطح جذب و توانایی افزایش جذب فسفر از منابع غیر متحرک به دلیل فعالیت آنزیم فسفاتاز و ترکیبات آلی حل‌کننده فسفات

نامحلول، موجب استفاده تجاری از این قارچ‌ها به‌عنوان کودهای زیستی شده است (Battini *al*., 2017). تلقیح قارچ میکوریزا با ریشه گیاهان منجر به سنتز متابولیت‌های ثانویه از قبیل ترکیبات اسانسی، فلاونوئیدی و ... در گیاهان دارویی و معطر می‌گردد (Amani Machiani *et al*., 2022). Carreón-Abud و همکاران (۲۰۱۵) مشاهده کردند که درصد اسانس و کیفیت اسانس گیاه دارویی مرزه (*Satureja Macrostema* (Benth.))، با کاربرد قارچ میکوریزا افزایش یافت. Golubkina و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که کاربرد قارچ میکوریزا منجر به افزایش عملکرد ماده خشک و عملکرد اسانس در گیاهان ترخون (*Artemisia dracunculus*) و زوفا (*Hyssopus officinalis*) گردید.

امروزه با توجه به اهمیت کشاورزی پایدار به‌عنوان مجموعه‌ای از تفکرات و روش‌ها برای رفع نیاز فعلی و حفظ منابع برای تأمین نیاز نسل بعدی، استفاده از کودهای آلی به‌عنوان یکی از ارکان اصلی کشاورزی پایدار ضروری می‌باشد. عمده‌ترین منابع تأمین مواد آلی در خاک‌ها عبارتند از: فضولات دامی، بقایای گیاهی، کمپوست زباله و ورمی‌کمپوست که بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند (Tejada *et al*., 2009). استفاده از ورمی‌کمپوست در سیستم‌های کشاورزی پایدار علاوه بر افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید خاک مانند قارچ‌های میکوریز و میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات، با بهبود فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم محلول و افزایش جذب آن‌ها توسط گیاه موجب بهبود رشد و عملکرد گیاهان زراعی می‌گردد (Ebrahimi *et al*., 2021). بررسی‌ها نشان داده که ورمی‌کمپوست بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مانند هدایت الکتریکی، درصد مواد آلی، ظرفیت تبادل کاتیونی و اسیدیته خاک تأثیر مثبتی گذاشته و باعث بهبود آنها می‌شود (Yang *et al*., 2015). به‌طوری که Tejada و همکاران (۲۰۰۹) نتیجه گرفتند که ورمی‌کمپوست حاصل از منابع حیوانی در مقایسه با سایر کودهای شیمیایی، معمولاً حاوی مقادیر بیشتری عناصر معدنی بوده و بیشتر این عناصر نیز قابل جذب توسط گیاهان هستند. همچنین از ورمی‌کمپوست می‌توان به‌عنوان درمانگر زیستی در خاک‌های اسیدی استفاده کرد، به‌دلیل اینکه اسیدیته ورمی‌کمپوست خنثی و تا حدودی نزدیک به قلیایی است و می‌تواند آلومینیوم ناپایدار را مهار کند (Yang *et al*., 2015).

یکی دیگر از راه‌های افزایش ماده آلی خاک، استفاده از کود سبز در سیستم‌های زراعی می‌باشد. منظور از کود سبز برگرداندن و مخلوط کردن گیاه در خاک پس از رشد کافی و بدون برداشت محصول است. کود سبز عملاً مواد غذایی به خاک اضافه نمی‌کند، بلکه آنچه را که طی رشد خود از خاک جذب کرده و در خود ذخیره نموده است، به خاک برمی‌گرداند؛ اما در صورتی که از گیاهان تیره بقولات به‌عنوان کود سبز استفاده شود، تمام نیتروژن تثبیت شده را به خاک برمی‌گرداند (Lei *et al*., 2022). نتایج مطالعات قبلی نشان‌دهنده این است که کشت مخلوط گیاهان و استفاده از آنها به‌عنوان کود سبز نقش مؤثری در بهبود عملکرد کمّی و کیفی گیاهان دارد (Hwang *et al*., 2015). کشت مخلوط، کشت دو یا چند گیاه زراعی به‌صورت توأم بوده که امکان برقراری روابط متقابل بین گیاهان مختلف را فراهم کرده و موجب افزایش عملکرد در واحد سطح، بهبود بازدهی استفاده از منابع محیطی و کاهش آفات، بیماری و علف‌های هرز می‌شود. در بین الگوهای مختلف کشت مخلوط، کشت مخلوط گیاهان لگوم با غیرلگوم و استفاده از هر دو گیاه به‌عنوان کود سبز منجر به افزایش کمّیت و کیفیت گیاهان بعدی خواهد شد. Hwang و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که کود سبز مخلوط ماشک گل خوشه‌ای (*Vicia villosa*) و جو (*Hordeum vulgare* L.) به‌عنوان یک روش پایدار و جایگزین کودهای شیمیایی به بهبود عملکرد کمّی و کیفی گیاهان کشت شده بعدی منجر شد.

امروزه با توجه به رویکرد روزافزون به استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان گیاهان نقدی و نقش آنها در چرخه اقتصادی کشور و از سوی دیگر ضرورت استفاده از نظام‌های کشاورزی پایدار، پژوهشی با هدف بررسی اثر

منابع مختلف کودی (کودهای سبز، آلی و زیستی) بر عملکرد ماده خشک، کمّیت و کیفیت اسانس نعناع فلفلی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۴۰۱ در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه با طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۱۶ دقیقه شرقی و عرض ۳۷ درجه و ۲۳ دقیقه شمالی با ارتفاع ۱۴۸۵ متر از سطح دریا اجرا گردید. قبل از اجرای آزمایش سه نمونه خاک به‌صورت تصادفی از قسمت‌های مختلف محل اجرای آزمایش انتخاب و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی (به‌صورت میانگین) در جدول ۱ گزارش شده است.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Table 1. Soil physical and chemical properties of the experimental area

Soil texture	Organic matter (%)	pH	Total N (%)	K ($mg.kg^{-1}$)	P ($mg.kg^{-1}$)
Sandy clay loam	0.89	7.36	0.088	543	12.1

آزمایش بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با هشت تیمار و سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل کاربرد کود سبز (کشت خالص ماشک گل خوشه‌ای، کشت خالص جو، کشت مخلوط ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو و ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو)، کود زیستی (قارچ آربوسکولار میکوریزا)، ورمی‌کمپوست (۱۰ تن در هکتار) و عدم مصرف کود به‌عنوان تیمار شاهد بود. به‌منظور آماده‌سازی زمین برای کاشت، در پاییز ۱۳۹۹ شخم نیمه عمیق توسط گاوآهن برگردان‌دار انجام و در بهار ۱۴۰۰ پس از انجام شخم سطحی، برای نرم کردن خاک از دو نوبت دیسک عمود بر هم استفاده شد. سپس تیمارهای کود سبز در فروردین‌ماه سال ۱۴۰۰ کشت شدند. به‌طوری که ماشک و جو به‌ترتیب با تراکم ۲۵۰ و ۳۵۰ بوته در متر مربع کشت شدند. همچنین در الگوهای مختلف کشت مخلوط، تراکم کشت دو گیاه با توجه به درصد مورد استفاده از هر گیاه در این الگوهای کشت محاسبه و کشت شد. برای مثال، تراکم کشت برای دو گیاه ماشک و جو در الگوی کشت مخلوط ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو به‌ترتیب ۱۲۵ و ۱۷۵ بوته در متر مربع بود. در زمان گلدهی (اواخر تیرماه ۱۴۰۰)، اندام‌های هوایی ماشک و جو به قطعات ۵ تا ۱۰ سانتی‌متری خرد و به خاک برگردانده شد. همچنین قارچ میکوریزا (*Funneliformis mosseae*) مورد استفاده در این تحقیق از شرکت زیست فناور پیشتاز واریان کرج تهیه گردید. قبل از کاشت، از خاکی که حاوی هیف‌های قارچ میکوریزا، بقایای ریشه و اسپور (حدود ۱۰۰ اسپور در ۱۰ گرم خاک) بود، در داخل خطوط کاشت و زیر نشاءها به مقدار ۸۰ گرم در هر ردیف کاشت استفاده شد. همچنین، ورمی‌کمپوست (تولید شده از کود دامی، برگ چغندر و دیگر مواد آلی و گونه‌ای کرم خاکی به نام *Eisenia foetida* از شرکت تولیدی نوآوران کشت و صنعت ساینا تهیه گردید. خصوصیات شیمیایی ورمی‌کمپوست مورد استفاده در جدول ۲ بیان شده است.

جدول ۲- خصوصیات شیمیایی ورمی‌کمپوست مورد استفاده

Table 2. Chemical properties of vermicompost fertilizer used in the experiment

Total Nitrogen (%)	Available P ($mg.kg^{-1}$)	Available K ($mg.kg^{-1}$)	pH	EC ($dS.m^{-1}$)	Organic carbon (%)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Ca (ppm)
1.6	3.10	2.61	7.84	1.64	7.13	3.84	66.6	8.75

نشاءهای نعناع فلفلی در اواسط اردیبهشت ماه ۱۴۰۱ در عمق ۵ سانتی‌متری خاک کشت شدند. هر کرت شامل ۶ خط کشت به طول ۴ متر با فواصل ردیفی ۴۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. اولین نوبت آبیاری بلافاصله بعد از کاشت انجام گردید. همچنین مبارزه با علف‌های هرز به‌صورت منظم و به‌طور دستی انجام شد. برداشت نعناع فلفلی در مرحله گلدهی (نیمه اول مردادماه) انجام شد. قبل از برداشت، نمونه‌برداری از ۱۰ بوته به‌صورت تصادفی برای اندازه‌گیری صفات مورفولوژی از قبیل ارتفاع بوته، تعداد گره در بوته، تعداد شاخه جانبی در بوته و برگ در بوته انجام گردید. پس از آن، برداشت از خطوط میانی با حذف اثرهای حاشیه‌ای در سطحی معادل ۳/۲ متر مربع انجام شد. برای تعیین عملکرد ماده خشک در واحد سطح، نمونه‌های برداشت شده از هر کرت در محیط سایه تا ثابت شدن وزن نگهداری و بعد وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر (مدل فارماکوپه بریتانیا) انجام شد. اسانس‌گیری به‌مدت ۳ ساعت از اندام‌های هوایی خشک نعناع فلفلی انجام شد. سپس اسانس‌های استخراج شده با سولفات سدیم خشک آبگیری و داخل ویال شیشه‌ای در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری گردید. همچنین، پس از اسانس‌گیری، عملکرد اسانس از حاصل‌ضرب درصد اسانس در عملکرد ماده خشک تولید شده بدست آمد (Amani Machiani *et al*., 2018).

شناسایی ترکیب‌های اسانس

برای شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل شده به طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) مدل Agilent 5977A ساخت کشور آمریکا، با ستون HP-5 MS (۵٪ فنیل متیل پلی سیلوکسان، به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ماده جاذب ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد. در برنامه‌ریزی دمایی آون، ابتدا دما در عرض ۵ دقیقه به ۶۰ درجه سانتی‌گراد رسیده، سپس به‌تدریج دما با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت تا به دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد رسید. بعد از آن، به مدت ۲۰ دقیقه در این دما نگهداری شد. هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد. ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. محفظه تزریق در حالت تقسیم (نسبت تقسیم ۱:۳۰) تنظیم شده بود و محدوده جذب جرمی از ۴۰ تا ۴۰۰ *m/z* بود. برای جداسازی ترکیب‌ها از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 7990B ساخت کشور آمریکا با آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) و ستون VF-5MS استفاده شد. دمای تزریق و آشکارساز به‌ترتیب روی ۲۳۰ و ۲۴۰ سانتی‌گراد تنظیم شده بودند. در برنامه‌ریزی دمایی آون، ابتدا دما در عرض ۵ دقیقه به ۶۰ درجه سانتی‌گراد رسیده، سپس به‌تدریج دما با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت تا به دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد رسید. بعد از آن، به مدت ۲۰ دقیقه در این دما نگهداری شد. گاز هلیوم با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه و نسبت تقسیم ۱:۲۴ استفاده شده بود. نمونه‌های اسانس به نسبت ۱:۱۰۰ در هگزان رقیق‌سازی و به میزان یک میکرولیتر تزریق شدند. کمّی کردن ترکیب‌های اسانس با استفاده از نرمال‌سازی سطح پیک و بدون استفاده از ضرایب اصلاح انجام شد (Amani Machiani *et al*., 2018). نرم‌افزار مورد استفاده Chemstation بود. محاسبه و شناسایی ترکیب‌های اسانس به کمک شاخص‌های بازداری خطی آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع (Adams, 2007) و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه‌ای انجام شد.

به منظور تعیین غلظت عناصر غذایی موجود در برگ نعناع فلفلی از روش هضم خشک استفاده گردید (Ostadi *et al*., 2023). ابتدا دو گرم برگ خشک شده نعناع فلفلی توزین و بعد در داخل کروزه سیلیسی ریخته و در داخل

کوره حرارت داده شد. درجه حرارت کوره به‌تدریج و در عرض ۲ ساعت به ۵۵۰ درجه رسیده و ۶ ساعت در این دما نگه داشته شد. بعد از اتمام این مدت کوره را خاموش و کروزه‌ها از کوره خارج گردید. بعد از سرد شدن، خاکستر را با کمی آب خیس و با شیشه ساعت پوشانیده شد. در همان حال و به آرامی مقدار ۱۰ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک ۲ مولار به نمونه‌ها اضافه گردید. بعد از تمام شدن فعل و انفعالات، کروزه‌ها در داخل حمام آب گرم در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد تا زمانیکه اولین بخارهای سفید خارج شود، حرارت داده شد. در پایان، محتویات کروزه را از کاغذ صافی ریز به داخل بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری صاف و به حجم رسانیده شد. غلظت نیتروژن با روش کجلدال (Kalra, 1997)، غلظت فسفر با روش زرد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر (Tandon *et al*., 1968) و غلظت پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر اندازه‌گیری شدند (Jones, 1972).

در نهایت بعد از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ورژن ۹/۴ و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد. همچنین، مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام گردید.

نتایج

عناصر غذایی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین میزان نیتروژن (۱۸/۰۵ گرم بر کیلوگرم) با کاربرد ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو بدست آمد که تفاوت معنی‌داری با کاربرد تیمارهای قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست نداشت. همچنین بالاترین میزان فسفر (۱/۷۵ گرم بر کیلوگرم) با کاربرد قارچ میکوریزا بدست آمد که با تیمارهای ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو، ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو و ورمی‌کمپوست تفاوت معنی‌داری نداشت. علاوه بر این، بیشترین میزان پتاسیم (۱۸/۲۵ گرم بر کیلوگرم) نیز به‌ترتیب با کاربرد کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو و قارچ میکوریزا مشاهده شد. شایان ذکر است که کمترین غلظت عناصر غذایی ذکرشده در شرایط عدم مصرف کود حاصل گردید (جدول ۴). کاربرد کود سبز به‌صورت کشت خالص جو، کشت خالص ماشک، کشت مخلوط ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو، ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو و قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست به‌ترتیب منجر به افزایش ۱۲/۳، ۱۳/۷، ۱۵/۵، ۴۱/۸، ۲۲/۱، ۳۴/۶ و ۳۱/۳ درصدی غلظت نیتروژن و ۴/۳، ۱۲/۱، ۲۰/۷، ۳۸/۸، ۲۵، ۵۰/۹ و ۲۵ درصدی غلظت فسفر و ۴/۱، ۲۱، ۶/۵، ۴۳/۷، ۱۹/۸، ۳۹/۱ و ۳۰/۱ درصدی غلظت پتاسیم نسبت به عدم مصرف کود گردید (جدول ۴).

ارتفاع بوته

ارتفاع بوته نعناع فلفلی تحت تأثیر معنی‌دار منابع مختلف کودی در سطح احتمال ۵٪ قرار گرفت (جدول ۵). بیشترین ارتفاع بوته نعناع فلفلی (۵۸/۷۰ سانتی‌متر) به کاربرد کود سبز به‌صورت کشت مخلوط ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو مربوط بود که با سایر منابع کودی تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین، کمترین میزان صفت ذکر شده (۴۶/۴۳ سانتی‌متر) به عدم مصرف کود تعلق داشت. کاربرد کود سبز به‌صورت کشت خالص جو، کشت خالص ماشک، کشت مخلوط ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو، ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو و قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست منجر به افزایش ۶/۸، ۱۰/۳، ۹/۴، ۲۶/۴، ۱۱/۷، ۱۸/۱ و ۱۶/۲ درصدی ارتفاع بوته نعناع فلفلی نسبت به عدم مصرف کود گردید (جدول ۶).

جدول ۳- تجزیه واریانس عناصر غذایی نعناع فلفلی تحت تاثیر منابع مختلف کودی

Table 3. ANOVA of peppermint nutrients affected by different fertilizer sources

S.O.V.	d.f.	N	P	K
Repetition	2	0.93^{ns}	0.04^{ns}	2.52^{ns}
Treatment	7	9.81^{**}	0.12^{*}	15.88^{**}
Experimental error	14	14.71	0.43	31.46
C.V. (%)		6.63	12.44	9.72

$^{n.s.}$, *, and **: non-significant, significant at 5, and 1% probability levels, respectively.

جدول ۴- مقایسه میانگین عناصر غذایی نعناع فلفلی تحت تاثیر منابع مختلف کودی

Table 4. Means comparison of peppermint nutrients affected by different fertilizer sources

Treatment	N ($g.kg^{-1}$)	P ($g.kg^{-1}$)	K ($g.kg^{-1}$)
Control	12.73^{d}	1.16^{c}	12.70^{d}
Vicia villosa monoculture (Bm)	14.30^{cd}	1.21^{c}	13.21^{cd}
Hordeum vulgare monoculture (Hm)	14.47^{cd}	1.30^{bc}	15.37^{bc}
25% Hm + 75% Bm	14.70^{c}	1.40^{bc}	13.53^{cd}
50% Hm + 50% Bm	18.05^{a}	1.61^{ab}	18.25^{a}
75% Hm + 25% Bm	15.55^{bc}	1.45^{a-c}	15.21^{b-d}
AMF	17.13^{ab}	1.75^{a}	17.67^{ab}
Vermicompost	16.72^{ab}	1.45^{a-c}	16.53^{b}

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

جدول ۵- تجزیه واریانس اجزای عملکرد نعناع فلفلی تحت تاثیر منابع مختلف کودی

Table 5. ANOVA of peppermint yield components affected by different fertilizer sources

S.O.V.	d.f.	Plant height	Nodes per plant	Lateral branches	Leaves per plant	Leaf greenness (SPAD)
Repetition	2	149.72^{ns}	2.05^{ns}	2.19^{ns}	11791.48^{ns}	19.04^{ns}
Treatment	7	346.14^{*}	7.53^{*}	7.13^{*}	34897.03^{**}	38.26^{*}
Experimental error	14	758.61	30.95	17.76	74657.24	190.77
C.V. (%)		14.15	12.08	6.33	14.22	9.57

$^{n.s.}$, *, and **: non-significant, significant at 5, and 1% probability levels, respectively

جدول ۶- مقایسه میانگین اجزای عملکرد نعناع فلفلی تحت تاثیر منابع مختلف کودی

Table 6. Means comparison of peppermint yield components affected by different fertilizer sources

Treatment	Plant height (Cm)	Nodes per plant (NO.)	Lateral branches (NO.)	Leaves per plant (NO.)	Leaf greenness (SPAD)
Control	46.43^{b}	9.69^{d}	15.64^{e}	423.98^{c}	34.28^{c}
Vicia villosa monoculture (Bm)	49.57^{ab}	10.91^{cd}	$16.54d^{e}$	467.52^{bc}	35.92^{bc}
Hordeum vulgare monoculture (Hm)	51.22^{ab}	11.18^{b-d}	17.24^{cde}	484.74^{bc}	36.61^{bc}
25% Hm + 75% Bm	50.80^{ab}	12.63^{a-c}	16.93^{cde}	491.50^{bc}	38.71^{a-c}
50% Hm + 50% Bm	58.70^{a}	14.46^{a}	20.28^{a}	593.39^{a}	45.15^{a}
75% Hm + 25% Bm	51.86^{ab}	13.06^{a-c}	17.78^{b-d}	527.08^{a-c}	39.32^{a-c}
AMF	54.79^{ab}	13.69^{ab}	19.36^{ab}	555.27^{ab}	42.37^{ab}
Vermicompost	53.94^{ab}	12.82^{a-c}	18.61^{abc}	513.41^{a-c}	37.24^{bc}

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test)

تعداد گره در بوته

تعداد گره در بوته نعناع فلفلی تحت تأثیر معنی‌دار منابع مختلف کودی در سطح احتمال ۵٪ قرار گرفت (جدول ۵). بیشترین تعداد گره در بوته نعناع فلفلی (۱۴/۴۶ عدد) به کاربرد کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو مربوط بود که با ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو، قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین، کمترین تعداد گره در بوته (۹/۶۹ عدد) به عدم مصرف کود تعلق داشت. کاربرد کود سبز به‌صورت کشت خالص جو، کشت خالص ماشک، کشت مخلوط ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو، ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو و کاربرد قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست منجر به افزایش ۱۲/۶، ۱۵/۴، ۳۰/۳، ۴۹/۲، ۳۴/۸، ۴۱/۲ و ۳۲/۳ درصدی تعداد گره در بوته نعناع فلفلی نسبت به عدم مصرف کود گردید (جدول ۶).

تعداد شاخه جانبی

منابع مختلف کودی تأثیر معنی‌داری بر تعداد شاخه جانبی در بوته نعناع فلفلی داشتند (جدول ۵). بیشترین تعداد شاخه جانبی در بوته نعناع فلفلی (۲۰/۲۸ عدد) به کاربرد کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو تعلق داشت که با کاربرد قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین، کمترین تعداد شاخه جانبی در بوته (۱۵/۶۴ عدد) به عدم مصرف کود مربوط بود. کاربرد کود سبز به‌صورت کشت خالص جو، کشت خالص ماشک، کشت مخلوط ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو، ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو و کاربرد قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست منجر به افزایش ۵/۷، ۱۰/۲، ۸/۳، ۲۹/۷، ۱۳/۷، ۲۳/۸ و ۱۹ درصدی تعداد شاخه جانبی در بوته نعناع فلفلی نسبت به عدم مصرف کود گردید (جدول ۶).

تعداد برگ در بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تعداد برگ در بوته نعناع فلفلی تحت تأثیر معنی‌دار منابع مختلف کودی در سطح احتمال ۱٪ قرار گرفت (جدول ۵). بیشترین تعداد برگ در بوته نعناع فلفلی (۲۰/۲۸ عدد) به کاربرد کود سبز به‌صورت کشت مخلوط ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو تعلق داشت که با تیمارهای ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو و کاربرد قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست تفاوت معنی‌داری نداشت. کاربرد کود سبز به‌صورت کشت خالص جو، کشت خالص ماشک، کشت مخلوط ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو، ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو و کاربرد قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست منجر به افزایش ۱۰/۳، ۱۴/۳، ۱۵/۹، ۴۰، ۲۴/۳، ۳۰/۹ و ۲۱/۱ درصدی تعداد برگ در بوته نعناع فلفلی نسبت به عدم مصرف کود گردید (جدول ۶).

شاخص سبزینگی (اسپد)

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که شاخص سبزینگی (اسپد) نعناع فلفلی تحت تأثیر معنی‌دار منابع مختلف کودی در سطح احتمال ۵٪ قرار گرفت (جدول ۵). بالاترین شاخص سبزینگی نعناع فلفلی (۴۵/۱۵) در تیمار کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو مشاهده شد که با تیمارهای ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو و قارچ میکوریزا تفاوت معنی‌داری نداشت. کاربرد کود سبز به‌صورت کشت خالص جو، کشت خالص ماشک، کشت مخلوط ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو، ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو و کاربرد قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست منجر به افزایش ۴/۸، ۶/۸، ۱۲/۹، ۳۱/۷، ۱۴/۸، ۲۳/۶ و ۸/۷ درصدی شاخص سبزینگی نعناع فلفلی نسبت به عدم مصرف کود گردید (جدول ۶).

عملکرد ماده خشک

عملکرد ماده خشک نعناع فلفلی تحت تأثیر معنی‌دار منابع مختلف کودی در سطح احتمال ۱٪ قرار گرفت (جدول ۷). بیشترین عملکرد ماده خشک نعناع فلفلی (۲۹۲/۶۷ گرم در متر مربع) در تیمار کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو بدست آمد که با کاربرد قارچ میکوریزا تفاوت معنی‌داری نداشت. کاربرد کود سبز به‌صورت کشت خالص جو، کشت

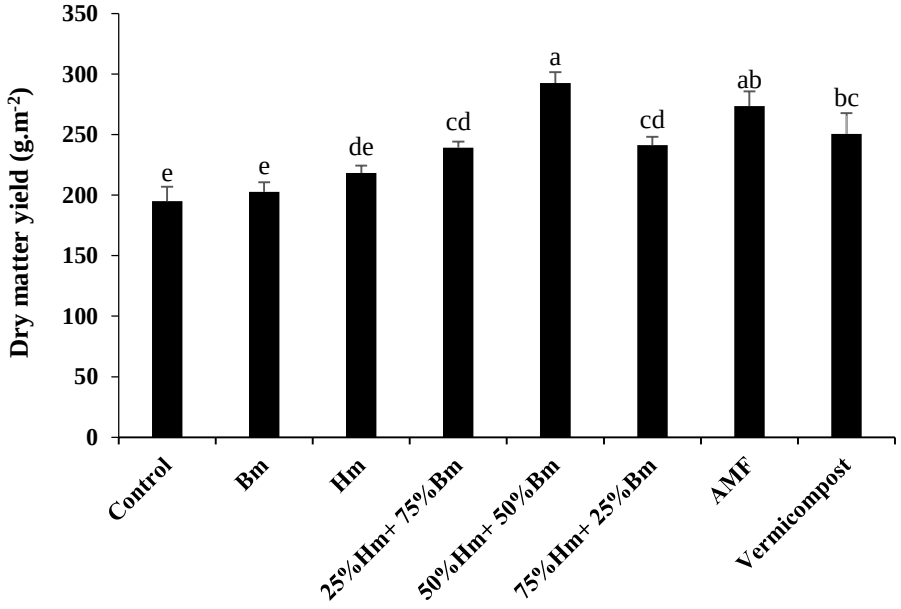
خالص ماشک، کشت مخلوط ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو، ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو و کاربرد قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست منجر به افزایش ۳/۹، ۱۲، ۲۲/۷، ۵۰/۱، ۲۳/۸، ۴۰/۳ و ۲۸/۶ درصدی عملکرد ماده خشک نعناع فلفلی نسبت به عدم مصرف کود گردید (شکل ۱).

جدول ۷- تجزیه واریانس عملکرد ماده خشک، درصد و عملکرد اسانس نعناع فلفلی تحت تاثیر منابع مختلف کودی

Table 7. ANOVA of dry yield, content and essential oil yield of peppermint affected by different fertilizer sources

S.O.V.	d.f.	Dry matter yield	Essential oil content	Essential oil yield
Repetition	2	706.78^{ns}	0.13^{ns}	0.30^{ns}
Treatment	7	3387.47^{**}	0.57^{*}	2.94^{**}
Experimental error	14	4311.08	0.05	0.35
C.V. (%)		7.33	11.04	14.08

n.s., *, and **: non-significant, significant at 5, and 1% probability levels, respectively.

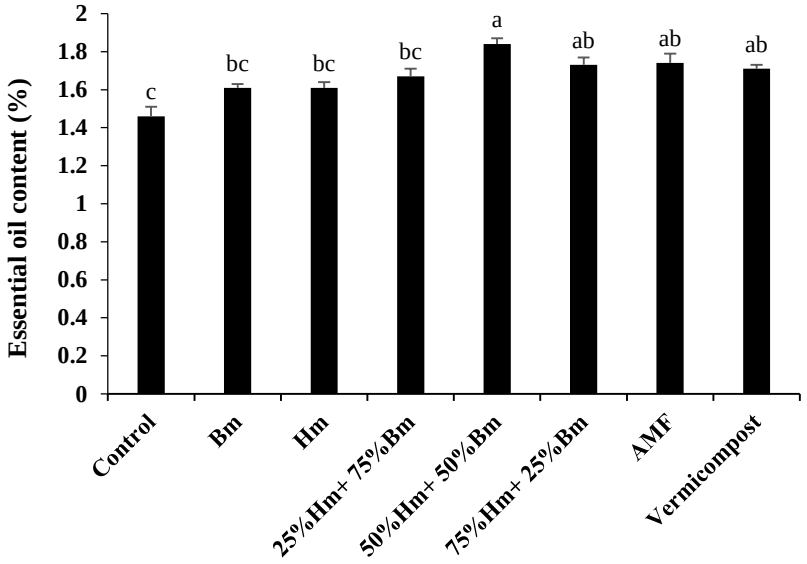


شکل ۱- مقایسه میانگین عملکرد ماده خشک نعناع فلفلی تحت تأثیر منابع مختلف کودی

Figure 1. Means comparison of peppermint dry matter yield affected by different fertilizer sources

Bm: ***Vicia villosa*** **monoculture; Hm:** ***Hordeum vulgare*** **monoculture; AMF: arbuscular mycorrhizal fungi.**

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).



شکل ۲- مقایسه میانگین درصد اسانس نعناع فلفلی تحت تأثیر منابع مختلف کودی

Figure 2. Means comparison of peppermint essential oil content affected by different fertilizer sources
Bm: *Vicia villosa* monoculture; Hm: *Hordeum vulgare* monoculture; AMF: arbuscular mycorrhizal fungi.
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

درصد اسانس

اثر تیمارهای آزمایشی بر بازده اسانس نعناع فلفلی در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۷). بالاترین بازده اسانس نعناع فلفلی (۱/۸۴٪) در تیمار کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو مشاهده شد که با تیمارهای ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو و کاربرد قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست تفاوت معنی‌داری نداشت. کاربرد کود سبز به‌صورت کشت خالص جو، کشت خالص ماشک، کشت مخلوط ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو، ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو و کاربرد قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست منجر به افزایش ۱۰/۳، ۱۰/۳، ۱۴/۴، ۲۶/۱، ۱۸/۵، ۱۹/۲ و ۱۷/۱ درصدی بازده اسانس نعناع فلفلی نسبت به عدم مصرف کود گردید (شکل ۲).

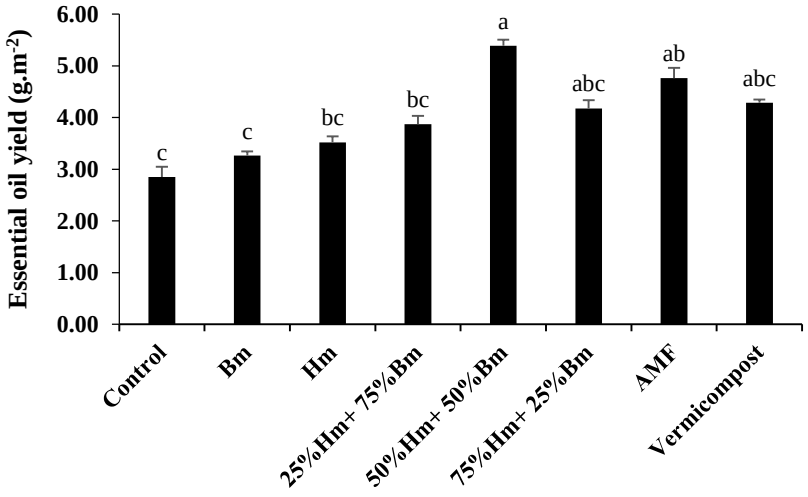
عملکرد اسانس

اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد اسانس نعناع فلفلی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۷). بالاترین عملکرد اسانس نعناع فلفلی (۵/۳۹ گرم در متر مربع) به کاربرد کود سبز به‌صورت کشت مخلوط ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو تعلق داشت که با کاربرد کود زیستی قارچ میکوریزا تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین، کمترین میزان درصد اسانس (۲/۸۵ گرم در متر مربع) به عدم مصرف کود متعلق بود. کاربرد کود سبز به‌صورت کشت خالص جو، کشت خالص ماشک، کشت مخلوط ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو، ۷۵٪ ماشک+ ۲۵٪ جو و کاربرد قارچ میکوریزا و ورمی کمپوست منجر به افزایش ۱۴/۴، ۲۳/۵، ۳۵/۸، ۸۹/۱، ۴۶/۷، ۶۷ و ۵۰/۵ درصدی عملکرد اسانس نعناع فلفلی نسبت به عدم مصرف کود گردید (شکل ۳).

ترکیبات اسانس

آنالیز شیمیایی اسانس نشان داد که ترکیبات غالب موجود در اسانس نعناع فلفلی به‌ترتیب شامل منتول (۳۸/۱-۳۲/۷٪)، منتون (۲۱/۴-۱۸/۳٪) و ۱،۸-سینئول (۶/۱-۵/۲٪) بودند. بالاترین میزان منتول و ۱،۸-سینئول با کاربرد کود سبز به‌صورت کشت مخلوط ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو بدست آمد. کاربرد کود سبز به‌صورت کشت خالص جو، کشت خالص ماشک، کشت مخلوط ۲۵٪ ماشک+ ۷۵٪ جو، ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو، ۷۵٪ ماشک+

۲۵٪ جو، کاربرد قارچ میکوریزا و ورمی‌کمپوست به‌ترتیب منجر به افزایش ۷/۶، ۱۰/۴، ۸/۵، ۱۶/۲، ۱۳/۷، ۱۱/۳ و ۹/۸ درصدی میزان منتول و افزایش ۲/۳، ۱۰، ۳/۲، ۱۷/۷، ۴/۶، ۱۳/۱ و ۱/۹ درصدی میزان سینئول نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین، بیشترین میزان منتون با کاربرد میکوریزا و کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو بدست آمد که به‌ترتیب ۱۶/۹ و ۱۵/۲٪ بیشتر از تیمار شاهد بود (جدول ۸).



شکل ۳- مقایسه میانگین عملکرد اسانس نعناع فلفلی تحت تأثیر منابع مختلف کودی

Figure 3. Means comparison of peppermint essential oil yield affected by different fertilizer sources.
Bm: ***Vicia villosa*** **monoculture; Hm:** ***Hordeum vulgare*** **monoculture; AMF: arbuscular mycorrhizal fungi.**
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

جدول ۸- ترکیبات اسانس نعناع فلفلی تحت تأثیر منابع کودی مختلف

Table 8. Essential oil compounds of peppermint affected by different fertilizer sources

				Treatment							
No.	**Component**	**RI**	**RI lit**	**C**	**Bm**	**HVm**	**25%HV+75% B**	**50%HV+50% B**	**75%HV+25% B**	**AMF**	**VC**
1	*α*-pinene	931	932	0.3	0.3	0.3	0.6	0.3	0.5	0.4	0.3
2	sabinene	970	969	0.6	0.3	0.5	0.5	0.1	0.3	0.4	0.4
3	*β*-pinene	975	974	0.8	0.5	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.9
4	myrcene	988	988	0.5	0.3	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.7
5	3-octanol	1000	998	0.2	0.1	0.2	0.5	0.1	0.5	0.1	0.9
6	*α*-terpinene	1017	1014	0.5	0.6	0.8	0.6	0.1	0.5	0.6	0.1
7	limonene	1026	1024	2.9	0.8	1.2	2.9	1.9	1.3	1.8	2.5
8	1,8-cineole	1029	1026	5.2	5.3	5.7	5.4	6.1	5.4	5.9	5.3
9	*γ*-terpinene	1058	1054	0.6	0	0.2	0.8	0.5	0.5	0.2	0.2
10	*cis*-sabinene hydrate	1066	1065	1.4	0.9	1	1.3	1.1	0.9	1.2	1.2
11	linalool	1103	1095	0.8	0.4	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
12	menthone	1152	1148	18.3	19.9	20.9	18.7	21.1	18.7	21.4	20.4
13	menthofuran	1161	1159	3.2	3.8	2.3	3.2	1.1	2.9	2.3	1.8
14	δ-terpineol	1162	1162	3.1	3.4	3.7	3.8	3.9	3.1	3.8	3.6
15	*neo*-menthol	1163	1161	3.1	3.2	3.7	3.4	3.8	3.7	3.5	3.2
16	menthol	1175	1167	32.7	35.2	36.2	35.5	38.1	37.2	36.4	36

17	terpinen-4-ol	1177	1177	0.1	0.2	0.2	0.8	0.2	0.8	0.2	0.1
18	*neo-iso*menthol	1184	1184	3.4	3.6	4	3.3	3.8	3.7	3.8	3.6
19	pulegone	1236	1233	3.1	2.3	2.2	2.2	2	2	2.1	2.1
20	piperitone	1252	1252	2.6	1.9	2.2	2.6	1.5	2.4	1.3	1.5
21	*neo*-menthyl acetate	1273	1271	0.9	0.7	0.6	1	0.4	0.5	0.4	0.5
22	*p*-menth-1-en-9-ol	1294	1294	2.4	1.9	1.4	1.5	1.1	1.9	2.1	1.6
23	*iso*-menthyl acetate	1307	1304	0.5	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3
24	*β*-bourbonene	1382	1387	0.9	0.4	0.3	0.4	0.1	0.4	0.1	0.6
25	(*E*)-caryophyllene	1416	1417	2.3	2.5	2.1	2	2.2	2.3	2.6	2.3
26	(*E*)-*β*-farnesene	1457	1454	0.7	0.1	0.3	0.4	0.4	0.5	0.9	0.5
27	germacrene D	1479	1484	3.1	3.4	3.2	3.3	3.2	3.3	3.3	3.1
28	elixene	1494	1492	1.5	1.3	1.1	0.9	0.9	1.1	0.4	1.1
29	viridiflorol	1589	1592	0.8	0.2	0.7	0.2	0.8	0.7	0.1	0.3
	Total identified (%)			96.6	94.1	97.2	97.7	96.8	97.1	97.2	95.3

RI: Retention index; RI lit: Retention index calculated in reference books (Adams, 2007).
C: control; Bm: *Vicia villosa* monoculture; HVm: *Hordeum vulgare* monoculture; AMF: arbuscular mycorrhizal fungi; VC: vermicompost.

بحث

عناصر غذایی

به‌طور کلی نتایج حاصل نشان داد که میزان جذب عناصر غذایی (نیتروژن و پتاسیم) نعناع فلفلی با کاربرد کود سبز افزایش یافت. افزایش جذب عناصر غذایی به‌دلیل کاربرد کودهای سبز به آزادسازی تدریجی در نتیجه تجزیه آهسته بقایای گیاهی نسبت داده می‌شود که این موضوع منجر به فراهم بودن مواد غذایی به‌صورت تدریجی و عدم آبشویی آنها خواهد شد (Qaswar *et al*., 2019). از سویی آزادسازی تدریجی عناصر غذایی موجود در بقایای گیاهان کشت شده به‌صورت کود سبز منجر به افزایش فعالیت جمعیت میکروبی مفید خاک شده و از این طریق نیز میزان حلالیت عناصر غذایی و متعاقب آن جذب مواد غذایی افزایش خواهد یافت (Yuan *et al*., 2023). شایان ذکر است میزان عناصر غذایی نعناع فلفلی با کاربرد مخلوطی از جو و ماشک به‌عنوان کود سبز بیشتر از سایر تیمارهای کود سبز بود. دلیل این موضوع به گسترش و تیپ رشدی متفاوت ریشه دو گیاه (ماشک و جو) نسبت داده می‌شود که در نهایت منجر به کاهش رقابت برون‌گونه‌ای بین دو گیاه و بهبود بازدهی استفاده از منابع محیطی (از قبیل عناصر غذایی، نور، رطوبت و ...) شد (Amani Machiani *et al*., 2021). Duchene و همکاران (۲۰۱۷) نتیجه گرفتند در کشت‌های مخلوط با حضور لگوم، جذب عناصر غذایی بدلیل تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و ترشح آنزیم‌های ریشه از قبیل فسفاتاز، کربوکسیلاز و کاهش pH خاک به دلیل تولید H^+ افزایش می‌یابد که می‌تواند منجر به فراهم کردن مواد غذایی برای گیاه بعدی گردد. علاوه بر این، نتایج نشان داد میزان فسفر با کاربرد قارچ میکوریزا نسبت به سایر منابع کودی و عدم مصرف کود افزایش یافت. دلیل بهبود جذب فسفر با کاربرد قارچ میکوریزا را می‌توان به افزایش سطح جذب و دسترسی ریشه به عناصر غذایی بر اثر ایجاد شبکه‌ای گسترده از رشد هیف‌های قارچی نسبت داد (Begum *et al*., 2019). علاوه بر این، pH رایزوسفر میکوریزا به دلیل جذب یون آمونیوم و آزادسازی یون H^+ پایین‌تر است. کاهش اسیدیته خاک موجب افزایش حلالیت عناصر غذایی به‌ویژه فسفر در دسترس ریشه خواهد شد (Nazeri *et al*., 2013). همچنین Mirseyedi و همکاران (۲۰۲۰) افزایش جذب مواد غذایی بر اثر مصرف کودهای آلی را به تغییرات مورفولوژیکی در ریشه گیاهان به‌ویژه افزایش تعداد، طول، ضخامت ریشه و ظرفیت تبادل کاتیونی بالای ریشه گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) نسبت دادند.

شاخص سبزینگی (اسپد)

کاربرد کود سبز به‌صورت کشت مخلوط ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو نسبت به سایر منابع کودی و عدم مصرف کود شاخص سبزینگی را افزایش داد. شایان ذکر است که شاخص سبزینگی رابطه مستقیمی با میزان کلروفیل و فتوسنتز گیاه دارد. مولکول کلروفیل از دو بخش (یک سر پورفیرین و یک هیدروکربن طویل با دنباله فیتول) تشکیل شده است. پورفیرین از چهار حلقه پیرول حاوی نیتروژن که به‌صورت حلقوی قرار گرفته‌اند، تشکیل شده است. کامل کننده مولکول کلروفیل یک یون منیزیم است که با چهار اتم نیتروژن در مرکز حلقه تشکیل کلات می‌دهد. ازاین‌رو، افزایش میزان شاخص سبزینگی را می‌توان به افزایش دسترسی عناصر غذایی با کاربرد کود سبز نسبت داد (DeAndrade *et al*., 2015). در تطابق با این پژوهش، Cunha Honorato و همکاران (۲۰۲۲) در نتیجه کاربرد کود سبز سان‌همپ (*Crotalaria juncea*) و کود آلی گاوی افزایش قابل‌توجهی را در کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها گیاه آویشن مشاهده کردند. همچنین Bilalis و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که کاربرد کودهای سبز متعلق به شبدر قرمز (*Trifolium pretense* cv. Nemaro) و ماشک (*Vicia sativa* cv. Alexandros) منجر به افزایش ۱۳۳/۶ و ۹۱/۱ درصدی شاخص سبزینگی در گیاه تنباکو (*Nicotiana tabaccum*) شده است.

صفات کمّی

نتایج نشان داد ارتفاع بوته نعناع فلفلی و سایر اجزای اثرگذار روی عملکرد از قبیل تعداد گره در بوته، شاخه جانبی و برگ در بوته با کاربرد منابع مختلف کودی به‌ویژه کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو نسبت به عدم مصرف کود افزایش یافت. بهبود صفات رشدی نعناع فلفلی به افزایش جذب میزان عناصر غذایی نسبت داده می‌شود که در نهایت منجر به افزایش تولید بیومولکول‌های حیاتی برای رشد و تمایز سلول‌های گیاهی و در نهایت بهبود صفات رشدی در گیاه خواهد شد. از سویی، کاربرد کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو به افزایش شاخص سبزینگی در گیاه نعناع فلفلی منجر شده که با افزایش فتوسنتز و میزان آسیمیلات‌های تولید شده، اجزای عملکرد و به‌تبع آن عملکرد نهایی نعناع فلفلی افزایش پیدا کرده است. در تطابق با این پژوهش، Marques و همکاران (۲۰۱۸) با کاربرد کود سبز لوبیا مخملی (*Mucuna aterrima* Holland) افزایش معنی‌داری در تولید برگ، ساقه و اندام هوایی گیاه دارویی به‌لیمو (*Lippia alba*) مشاهده کردند. به‌طوری که با کاربرد کود سبز ذکرشده وزن خشک ساقه به‌لیمو ۴۲٪ نسبت به کود سبز گیاهان خودرو و طبیعی افزایش یافت. همچنین وزن خشک بخش هوایی به‌لیمو با کاربرد کود سبز لوبیا مخملی افزایش ۲۹ و ۳۴ درصدی در مقایسه با تیمارهای کود سبز گیاهان خودرو و عدم کاربرد کود سبز پیدا کرد. همچنین Gama و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده کردند که استفاده از کود آلی به میزان ۱۰ تن در هکتار وزن خشک اندام هوایی، ریشه و کل گیاه به‌لیمو را به‌ترتیب ۱۲۵، ۱۱۵ و ۱۲۲ درصد افزایش داد.

عملکرد ماده خشک

نتایج نشان داد عملکرد ماده خشک نعناع فلفلی با کاربرد منابع مختلف کودی به‌ویژه کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو و کاربرد قارچ میکوریزا افزایش یافت. ازآنجایی که عملکرد ماده خشک در گیاهان دارویی برآیندی از صفات رشدی مختلف از قبیل ارتفاع بوته، تعداد گره در بوته و ... می‌باشد؛ بنابراین می‌توان بیان کرد که کاربرد کود سبز و رابطه همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه نعناع فلفلی با بهبود صفات رشدی گیاه از طریق افزایش جذب عناصر غذایی منجر به افزایش عملکرد ماده خشک شده است (Begum *et al*., 2019). در تطابق با این پژوهش، Cunha Honorato و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که کاربرد کود سبز سان‌همپ (*Crotalaria juncea*) به میزان ۹ کیلوگرم در متر مربع همراه با کود گاوی به افزایش ۱۰ برابری عملکرد ماده خشک گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris* L) نسبت به تیمار بدون کود منجر گردید.

درصد اسانس

بازده اسانس تولید شده توسط نعناع فلفلی با کاربرد کود سبز به‌صورت کشت مخلوط ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو افزایش یافت. بیشترین میزان اسانس گیاه نعناع فلفلی در برگ‌های این گیاه ذخیره می‌شود و با توجه به اینکه بیشترین تعداد برگ در بین تیمارهای مختلف با کاربرد کود سبز مخلوط ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو حاصل شد، ازاین‌رو افزایش بازده اسانس را می‌توان به افزایش تعداد برگ در تیمار مذکور نسبت داد. همچنین، به نظر می‌رسد کشت مخلوط دو گیاه ماشک و جو و کاربرد آنها به‌عنوان کود سبز از طریق فراهمی عناصر اصلی سازنده اسانس ازجمله نیتروژن موجب افزایش درصد اسانس شده است. زیرا نیتروژن یکی از عناصر مؤثر بر فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و میزان اسانس گیاهان است (Ostadi *et al*., 2023). بنابراین هر عاملی که باعث افزایش نیتروژن قابل دسترس گیاه گردد، در نهایت منجر به افزایش اسانس خواهد شد. از سویی، میزان اسانس تولید شده در گیاهان دارویی به تعداد غدد ترشح کننده اسانس نیز بستگی دارد. به نظر می‌رسد کاربرد کودهای سبز با افزایش جذب عناصر غذایی از طریق آزادسازی تدریجی این عناصر و افزایش حلالیت آنها با کاهش pH خاک به دلیل تولید H^+ منجر به بهبود صفات رشدی، میزان کلروفیل و در نهایت فتوسنتز گیاه شده و با افزایش تعداد غدد ترشح کننده اسانس میزان اسانس تولید شده توسط گیاه افزایش یافته است (Fernandes *et al*., 2021). به‌طور مشابه، Bidgoli و Mahdavi (۲۰۱۸) گزارش کردند که کاربرد کودهای زیستی میزان اسانس تولید شده توسط گیاه نعناع فلفلی را ۲۳٪ افزایش داد. همچنین بیشترین درصد تیمول (۶۵/۴۲٪) گیاه دارویی آویشن با ۹ کیلوگرم کود دامی و ۳ کیلوگرم کود سبز سان‌همپ بدست آمد. علاوه بر این، کاربرد کودهای آلی و سبز فعالیت آنتی‌اکسیدانی آویشن را هم افزایش داد (Cunha Honorato *et al*., 2022).

عملکرد اسانس

از آنجایی که عملکرد اسانس از حاصل‌ضرب عملکرد ماده خشک در میزان اسانس تولید شده توسط گیاه بدست می‌آید و با دو شاخص ذکرشده رابطه مستقیمی دارد. ازاین‌رو، هر عاملی که منجر به افزایش دو شاخص ذکرشده گردد، منجر به افزایش عملکرد اسانس نیز خواهد شد (Amani Machiani *et al*., 2018). بنابراین، افزایش عملکرد اسانس با کاربرد کودهای سبز به‌صورت مخلوط ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو به بیشتر بودن عملکرد ماده خشک و درصد اسانس تولید شده در این تیمار نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی نسبت داده می‌شود. Singh و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که کاربرد لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) به‌صورت کود سبز منجر به افزایش ۲۵/۲ درصدی عملکرد اسانس گیاه نعناع فلفلی گردید. همچنین کاربرد کودهای آلی از طریق تأمین مواد غذایی مورد نیاز در طول دوره رشد گیاهان دارویی با بهبود فتوسنتز و محتوای کلروفیل گیاه، افزایش فعالیت آنزیم رابیسکو، رشد و توسعه شاخص سطح برگ و بهبود ساختمان فیزیکی خاک و تعادل در بخش فیزیکی و شیمیایی خاک سبب بهبود عملکرد اسانس نعناع فلفلی شده‌اند (Al-Amri, 2021). در تطابق با این پژوهش، Marques و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده کردند که عملکرد اسانس گیاه دارویی به‌لیمو با کاربرد کود سبز لوبیا مخملی (*Mucuna aterrima* Holland)، سان‌همپ (*Crotalaria juncea* L.)، لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L. Walp) و گیاهان خودرو و طبیعی به‌ترتیب ۱۷/۷۸، ۲۹/۵۴، ۱۱/۱۹ و ۱۲/۱۴ درصد نسبت به عدم کاربرد کود سبز افزایش نشان داد.

ترکیبات اسانس

نتایج نشان داد ترکیبات غالب نعناع فلفلی با کاربرد کود سبز به‌صورت مخلوط ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو نسبت به سایر تیمارهای کودی و عدم مصرف کود افزایش معنی‌داری پیدا کرده است. اسانس‌ها ترکیب‌های ترپنوئیدی بوده و واحدهای سازنده آنها (ایزوپرنوئیدها) مانند ایزوپنتنیل

پیروفسفات و دی متیل آلیل پیروفسفات، نیاز به ترکیباتی از قبیل ATP و NADPH دارند. در دسترس بودن عناصری مانند نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های ذکرشده ضروریست (Amani Machiani *et al*., 2018). نیتروژن به‌طور غیرمستقیم هم از طریق افزایش سرعت انتقال الکترون و فتوسنتز برگ، ATP و سوبسترای مورد نیاز را برای سنتز ایزوپرنوئیدها تأمین می‌کند (Ormeno & Fernandez, 2012). علاوه بر این، Merlin و همکاران (۲۰۲۰) نتیجه گرفتند که در دسترس بودن فسفر از طریق افزایش ترکیبات پیش‌ساز اسانس از قبیل ایزوپنتنیل پیروفسفات منجر به تولید بیشتر ترکیبات اسانس و به‌تبع آن اسانس تولید شده توسط گیاهان دارویی خواهد شد. در تطابق با نتایج این پژوهش، Marques و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که کشت گیاه لوبیا مخملی (*Mucuna aterrima* Holland) به‌عنوان کود سبز منجر به بهبود کیفیت اسانس گیاه دارویی به‌لیمو (*Lippia alba* Mill.) گردید. این محققان گزارش کردند که کاربرد کود سبز لوبیا مخملی میزان β-*myrcene*، *limonene* و *carvone* را در اسانس به‌لیمو به ترتیب ۱/۳، ۴/۲ و ۶/۶ درصد افزایش داد. Cunha Honorato و همکاران (۲۰۲۲) در پژوهشی مشاهده کردند که تولید و ترکیبات اسانس گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris* L.) با کاربرد کودهای آلی بهبود پیدا کرد. به‌طوری که بیشترین درصد تیمول (۶۵/۴۲٪) با کاربرد ۹ کیلوگرم در متر مربع کود دامی و ۳ کیلوگرم در متر مربع کود سبز بدست آمد. همچنین کاربرد تلفیقی کود آلی دامی و کود سبز باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آویشن شد و این فعالیت با سطوح بالای کاروتنوئیدها در ارتباط بود. در نهایت از آنجایی که مدیریت عناصر غذایی در بوم‌نظام‌های کشاورزی رایج براساس کاربرد کودهای شیمیایی است؛ اما نظام‌های پایدار به جای تقویت گیاه به تقویت خاک وابسته هستند و سعی در بهبود روابط بیولوژیکی خاک دارند، زیرا سرمنشاء جریان مواد غذایی از میکروکلیمای خاک شروع می‌شود. بنابراین کاربرد کودهای طبیعت‌مدار به‌جای کودهای شیمیایی می‌تواند نقش مهمی در باروری و حفظ فعالیت‌های زیستی، مواد آلی خاک، سلامت بوم‌نظام زراعی و افزایش کیفیت محصولات کشاورزی داشته باشد. بنابراین برای توسعه سیستم‌های کشاورزی پایدار، به‌ویژه در تولید گیاهان دارویی به‌عنوان گیاهان نقدی (Cash crops) که با محدودیت ورود نهاده‌های خارجی روبرو هستند، کاربرد کودهای سبز، آلی و زیستی که در درازمدت شرایط بهینه‌ای را برای چرخش عناصر غذایی، استفاده بهینه از منابع و افزایش کمّی و کیفی این گیاهان را فراهم می‌کنند، ضرورت خواهد داشت. همچنین با توجه به پایین بودن ماده آلی در خاک‌های زراعی کشور و با توجه به پایین بودن سطح زیرکشت گیاهان دارویی نسبت به گیاهان زراعی، اختصاص قطعه‌ای از زمین‌های کشاورزی به کود سبز در تولید ارگانیک این گیاهان می‌تواند علاوه بر مزایای بی‌شمار اکولوژیکی از لحاظ اقتصادی هم برای کشاورز به صرفه باشد.

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت نتایج حاصل نشان داد که صفات رشدی و اجزای عملکرد نعناع فلفلی با کاربرد کود سبز به‌صورت کشت مخلوط نسبت به سایر منابع کودی و عدم مصرف کود افزایش معنی‌داری پیدا کردند. به‌طوری که عملکرد ماده خشک، درصد و عملکرد اسانس نعناع فلفلی با کاربرد کود سبز ۵۰٪ ماشک+ ۵۰٪ جو، به‌ترتیب ۵۰، ۲۶ و ۸۹ درصد نسبت به شاهد افزایش پیدا کردند. شایان ذکر است کاربرد تیمار مذکور به بهبود کیفیت اسانس نعناع فلفلی از طریق افزایش ترکیبات غالب مانند منتول، سینئول و منتون منجر گردید. ازاین‌رو، کاربرد کود سبز گیاهان جو و ماشک به‌صورت مخلوط آن هم با نسبت ۵۰٪ روشی ارزان برای افزایش عملکرد و اسانس نعناع فلفلی و تولید منتول و منتون است که می‌تواند در درازمدت مصرف کودهای شیمیایی را کاهش داده که از نظر اکولوژیکی برای کشت گیاهان دارویی مناسب است.

References

- Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured, 804p.
- Al-Amri, S.M., 2021. Response of growth, essential oil composition, endogenous hormones and microbial activity of *Mentha piperita* to some organic and biofertilizers agents. Saudi Journal of Biological Sciences, 28(9): 1-7.
- Amani Machiani, M., Javanmard, A., Morshedloo, M.R. and Maggi, F., 2018. Evaluation of competition, essential oil quality and quantity of peppermint intercropped with soybean. Industrial Crops and Products, 111: 743-754.
- Amani Machiani, M., Javanmard, A., Morshedloo, M.R., Aghaee, A. and Maggi, F., 2021. Funneliformis mosseae inoculation under water deficit stress improves the yield and phytochemical characteristics of thyme in intercropping with soybean. Scientific Reports, 11: 15279.
- Amani Machiani, M., Javanmard, A., Habibi Machiani, R. and Sadeghpour, A., 2022. Arbuscular mycorrhizal Fungi and Changes in Primary and Secondary Metabolites. Plants, 11(17): 2183.
- Battini, F., Grønlund, M., Agnolucci, M., Giovannetti, M. and Jakobsen, I., 2017. Facilitation of Phosphorus Uptake in Maize Plants by Mycorrhizosphere Bacteria Article. Scientific Reports, 7: 1-11.
- Begum, N., Qin, C., Ahanger, M.A., Raza, S., Khan, M.I., Ashraf, M., Ahmed, N. and Zhang, L., 2019. Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Plant Growth Regulation: Implications in Abiotic Stress Tolerance. Frontiers in Plant Science, 10: 1-15.
- Bidgoli, R.D. and Mahdavi, M.J., 2018. Effect of Nitrogen and Two Types of Green Manure on the Changes in Percentage and Yield of Peppermint (*Mentha piperita*) Essential Oil. Notulae Scientia Biologicae, 10: 245-250.
- Bilalis, D., Karkanis, A., Efthimiadou, A., Konstantas, A. and Triantafyllidis, V., 2009. Effects of Irrigation System and Green Manure on Yield and Nicotine Content of Virginia (Flue-Cured) Organic Tobacco (*Nicotiana tabaccum*), under Mediterranean Conditions. Industrial Crops and Products, 29: 388-394.
- Carreón-Abud, Y., Torres-Martínez, R., Farfán-Soto, B., Hernández-García, A., Ríos-Chávez, P., Bello-González, M.Á., Martínez-Trujillo, M. and Salgado-Garciglia, R., 2015. Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Increases the Content of Volatile Terpenes and Plant Performance in *Satureja macrostema* (Benth.) Briq. Boletin Latinoamericano y del Caribe de Plantas, 14: 273-279.
- Cunha Honorato, A., Amaral Maciel, J.F., Alves de Assis, R.M., Akira Nohara, G., Alves de Carvalho, A., Brasil Pereira Pinto, J.E. and Vilela Bertolucci, S.K., 2022. Combining green manure and cattle manure to improve biomass, essential oil, and thymol production in *Thymus vulgaris* L. Industrial Crops and Products, 187: 115469.
- DeAndrade, S.A.L., Domingues, A.P. and Mazzafera, P., 2015. Photosynthesis is induced in rice plants that associate with arbuscular mycorrhizal fungi and are grown under arsenate and arsenite stress. Chemosphere, 134: 141-149.
- Demir, H., Sönmez, İ., Uçan, U. and Akgün, İ.H., 2023. Biofertilizers Improve the Plant Growth, Yield, and Mineral Concentration of Lettuce and Broccoli. Agronomy, 13(8): 1-12.
- Duchene, O., Vian, J.F. and Celette, F., 2017. Intercropping with legume for agroecological cropping systems: Complementarity and facilitation processes and the importance of soil microorganisms. A review. Agriculture, Ecosystems & Environment, 240: 148-161.
- Ebrahimi, M., Souri, M.K., Mousavi, A. and Sahebani, N., 2021. Biochar and vermicompost improve growth and physiological traits of eggplant (*Solanum melongena* L.) under deficit irrigation. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 8: 1-14.
- Fernandes, A.M., Ribeiro, N.P., Assunção, N.S., Geibel da Silva Nunes, J., Sorroche, C.P. and Leonel, M., 2021. Impact of Nitrogen and Green Manure on Yield and Quality of Sweet Potato in Sandy Soil: A Brazilian Case Study. Journal of Agriculture and Food Research, 4: 100131.
- Gama, E.V.G., Garrido, M.S., Silva, F., Soares, A.C.F. and Marques, C.T.S., 2012. Biomass production of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. under fertilization with compost inoculated elephant grass and without inoculation of actinomycetes. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 14: 163‑168.
- Golubkina, N., Logvinenko, L., Novitsky, M., Zamana, S., Sokolov, S., Molchanova, A., Shevchuk, O., Sekara, A., Tallarita, A. and Caruso, G., 2020. Yield, essential oil and quality performances of *Artemisia dracunculus*, *Hyssopus officinalis* and *Lavandula angustifolia* as affected by arbuscular mycorrhizal fungi under organic management. Plants, 9: 1-16.
- Hafez, M., Popov, A.I. and Rashad, M., 2021. Integrated Use of Bio-Organic Fertilizers for Enhancing Soil Fertility–Plant Nutrition, Germination Status and Initial Growth of Corn (*Zea mays* L.). Environmental Technology and Innovation, 21: 101329.

- Hwang, H.Y., Kim, G.W., Lee, Y.B., Kim, P.J. and Kim, S.Y., 2015. Improvement of the Value of Green Manure via Mixed Hairy Vetch and Barley Cultivation in Temperate Paddy Soil. Field Crops Research, 183: 138-146.
- Jones, J.B., 1972. Plant tissue analysis for micronutrients. In: Mortvedt, J.J. (Ed.), Micronutrients in Agriculture. Soil Science Society America, Madison, Madison, WI, 319-346.
- Kalra, Y., 1997. Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. Washington, D.C: CRC press.
- Lei, B., Wang, J. and Yao, H., 2022. Ecological and Environmental Benefits of Planting Green Manure in Paddy Fields. Agriculture, 12: 223.
- Marques, C.T., Gama, E.V.S., da Silva, F., Teles, S., Caiafa, A.N. and Lucchese, A.M., 2018. Improvement of Biomass and Essential Oil Production of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown with Green Manures in Succession. Industrial Crops and Products, 112: 113-118.
- Merlin, E., Melato, E., Lourenço, E.L.B., Jacomassi, E., Junior, A.G., da Cruz, R.M.S., Otênio, J.K., da Silva, C. and Alberton, O., 2020. Inoculation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Phosphorus Addition Increase Coarse Mint (*Plectranthus amboinicus* Lour.) Plant Growth and Essential Oil Content. Rhizosphere, 15: 100217.
- Mirseyedi, S.K., Nasiri, Y., Morshedloo, M.R. and Khalili, M., 2020. Evaluation of organic, chemical, biological and amino acids application on quantitative and qualitative characteristics of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) at different harvesting. Journal of Horticultural Science, 50(4): 755-767.
- Nazeri, N.K., Lambers, H., Tibbett, M. and Ryan, M.R., 2013. Do arbuscular mycorrhizas or heterotrophic soil microbes contribute toward plant acquisition of a pulse of mineral phosphate? Plant Soil, 373: 699-710.
- Ormeno, E. and Fernandez, C., 2012. Effect of soil nutrient on production and diversity of volatile terpenoids from plants. Current Bioactive Compounds, 8(1): 71-79.
- Ostadi, A., Javanmard, A., Amani Machiani, M. and Kakaei, K., 2023. Optimizing Antioxidant Activity and Phytochemical Properties of Peppermint (*Mentha piperita* L.) by Integrative Application of Biofertilizer and Stress-Modulating Nanoparticles under Drought Stress Conditions. Plants, 12(1): 1-26.
- Qaswar, M., Jing, H., Waqas, A., Dongchu, L., Shujun, L., Ali., S., Kailou, L., Yongmei, X., Lu, Z., Lisheng, L., Jusheng, G. and Huimin, Z., 2019. Long-Term Green Manure Rotations Improve Soil Biochemical Properties, Yield Sustainability and Nutrient Balances in Acidic Paddy Soil under a Rice-Based Cropping System. Agronomy Journal**,** 9 (12):780.
- Singh, M., Singh, A., Singh, S., Tripathi, R.S., Singh, A.K. and Patra, D.D., 2010. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) as a Green Manure to Improve the Productivity of a Menthol Mint (*Mentha arvensis* L.) Intercropping System. Industrial Crops and Products, 31: 289-293.
- Tandon, H.L.S., Cescas, M.P. and Tyner, E.H., 1968. An Acid-Free Vanadate-Molybdate Reagent for the Determination of Total Phosphorus in Soils. Soil Science Society of America Journal, 32(1): 48-51.
- Tejada, M., García-Martínez, A.M. and Parrado, J., 2009. Effects of a vermicompost composted with beet vinasse on soil properties, soil losses and soil restoration. Catena, 77: 238-247.
- Yadava, A.K. and Komaraiah, J.B., 2023. Technical Efficiency of Chemical Fertilizers Use and Agricultural Yield: Evidence from India. Iranian Economic Review, 27(1): 93-106.
- Yang, L., Zhao, F., Chang, Q., Li, T. and Li, F., 2015. Effects of vermicomposts on tomato yield and quality and soil fertility in greenhouse under different soil water regimes. Agricultural Water Management, 160: 98-105.
- Yuan, B., Yu, D., Hu, A., Wang, Y., Sun, Y. and Li, C., 2023. Effects of green manure intercropping on soil nutrient content and bacterial community structure in litchi orchards in China. Frontiers in Environmental Science, 10: 3389.