

مقاله علمی - پژوهشی

تأثیر کودهای بیولوژیک، شیمیایی و اسید هیومیک بر برخی پارامترهای میکروبی و عناصر خاک، کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی نعناع گربه‌ای (*Nepeta cataria*. L)

پریا بویری ده‌شیک^۱، محمد محمودی سورستانی^{۲*}، مریم ذوالفقاری^۳ و نعیمه عنایتی ضمیر^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۱۴

بویری ده‌شیک، پ.، محمودی سورستانی، م.، ذوالفقاری، م.، و عنایتی ضمیر، ن.، ۱۴۰۰. تأثیر کودهای بیولوژیک، شیمیایی و اسید هیومیک بر برخی پارامترهای میکروبی و عناصر خاک، کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی نعناع گربه‌ای (*Nepeta cataria*. L). بوم‌شناسی کشاورزی ۱۳(۱): ۷۳-۸۸.

چکیده

به‌منظور مطالعه اثر کودهای بیولوژیک، شیمیایی و اسید هیومیک بر میزان تنفس و زیست‌توده میکروبی خاک، میزان ماده آلی خاک، میزان عناصر نیتروژن و فسفر برگ و کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی نعناع گربه‌ای (*Nepeta cataria*. L)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۰ تیمار و سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد. فاکتور اول تیمارهای کودی در پنج سطح (شاهد، ازتوبارور-۱، فسفات بارور-۲، تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، کود شیمیایی شامل کود اوره به‌میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار و ۱۰۰ کیلوگرم کود سوپر فسفات تریپل و فاکتور دوم اسید هیومیک در دو سطح (۰ و ۲۰ کیلوگرم در هکتار) بودند. صفات مورد مطالعه در این پژوهش شامل میزان تنفس و کربن زیست‌توده میکروبی خاک، ماده آلی خاک، مقادیر نیتروژن و فسفر برگ، تعداد و اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس و میزان، عملکرد و اجزای اسانس بودند. با توجه به نتایج حاصل، بیشترین مقادیر تنفس و کربن زیست‌توده میکروبی خاک مربوط به تیمار تلفیق کودهای بیولوژیک و بیشترین میزان ماده آلی خاک نیز مربوط به تیمار کاربرد کود شیمیایی + اسید هیومیک بود. بیشترین میزان عناصر نیتروژن و فسفر برگ، به‌ترتیب در تیمارهای کود شیمیایی و فسفات بارور-۲ به‌دست آمد. تیمار تلفیق کودهای بیولوژیک بیشترین تعداد کرک‌های ترش‌دهی در سطوح فوقانی و تحتانی برگ را به خود اختصاص داد و بزرگ‌ترین کرک‌های ترش‌دهی در سطح فوقانی و تحتانی برگ نیز در تیمار کود فسفات بارور-۲ مشاهده شد که با تیمارهای تلفیق کودهای بیولوژیک و کود شیمیایی تفاوت معنی‌داری نداشت. حداکثر میزان و عملکرد اسانس به‌ترتیب در تیمارهای فسفات بارور-۲ و تلفیق دو نوع کود بیولوژیک مشاهده شد. ترکیبات اصلی و غالب شناسایی شده در اسانس شامل ایزومرهای نپتالاکتون، کاربوفیلین اکساید، ترانس کاربوفیلین و ای-ای-فارنسنین بود و تیمارهای به‌کار رفته سبب تغییر در میزان آن‌ها گردید. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، کاربرد تلفیقی کودهای بیولوژیک تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفات به‌جای کودهای شیمیایی توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ازتوبارور-۱، فسفات بارور-۲، فسفر، کرک ترش‌دهی، نپتالاکتون، نیتروژن

گیاه دارویی نعناع گربه‌ای معطر با نام علمی *Nepeta cataria*

مقدمه

L. گیاهی علفی و چندساله متعلق به خانواده نعناعیان می‌باشد. این گیاه دارای خصوصیات دارویی مانند آرام‌بخش، معرق، مسکن، ضدتشنج و دافع حشرات است و در صنایع مختلفی نظیر داروسازی، آرایشی بهداشتی و ساخت آفت‌کش‌های زیستی کاربرد فراوان دارد (Tucker & Tucker, 1988). اندام‌های رویشی و گل‌های گیاه نعناع گربه‌ای حاوی ۰/۸۹ درصد اسانس می‌باشد که از جمله ترکیبات غالب شناسایی شده در اسانس آن می‌توان به ایزومرهای مختلفی از

۱- فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۲ و ۳- دانشیار و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۴- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

* نویسنده مسئول: (Email: m.mahmoodi@scu.ac.ir
Doi:10.22067/jag.v13i1.79970

نیتالاکتون مانند ۴-آ-آلفا، ۷-آلفا، ۷-آ-آلفا، نیتالاکتون، ۴-آ-آلفا، ۷-آلفا، ۷-آ-آلفا، نیتالاکتون، بتا کاربوفیلن، کاربوفیلن اکساید و بتا پینن اشاره نمود (Suschke et al., 2006).

بهبود و حاصلخیزی خاک به دلیل تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و کمک به افزایش عملکرد آن از اهمیت ویژه‌ای در کشت‌وکار گیاهان دارویی برخوردار است. اغلب خاک‌ها به دلیل کمبود ماده آلی و آب‌شویی زیاد، دچار کمبود برخی عناصر غذایی همچون نیتروژن هستند. بخش اعظمی از عنصر فسفر نیز به فرم نامحلول و غیر قابل استفاده برای گیاه (سنگ‌های فسفات) در خاک وجود دارد و این امر سبب شده تا مصرف کودهای شیمیایی جهت فائق آمدن بر مشکلات فوق و تأمین نیازهای گیاه روند رو به افزایش داشته باشد. افزایش مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی در کشاورزی سبب بروز مشکلات زیست‌محیطی بسیار زیاد در دهه‌های اخیر گردیده است (Sharma, 2002). کشاورزی پایدار بر پایه مصرف کودهای بیولوژیک و آلی با هدف حذف یا تقلیل چشمگیر مصرف کودهای شیمیایی، یک راه حل مطلوب برای غلبه بر این مشکلات به‌شمار می‌آید. کود بیولوژیک از توبرور-۱ حاوی باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن *ازتوباکتر وینلندی (Azotobacter vinlandii)* است. این باکتری، همیار با ریشه گیاه و فاقد اندام هم‌زیستی خاص است و نیتروژن موجود در اتمسفر را که به‌طور مستقیم برای گیاهان قابل استفاده نمی‌باشد، احیا کرده و به‌صورت آمونیوم در اختیار گیاه قرار می‌دهد، همچنین این باکتری با ترشح مواد محرک رشد باعث افزایش رشد گیاه گردیده و انرژی مورد نیاز برای این فرآیند را از ترشحات ریشه گیاه دریافت می‌کند. کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ نیز حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفات *سودوموناس پوتینا (Pseudomonas putida)* و *پانتوا آگلومرانس (Pantoea agglomerans)* می‌باشد. این باکتری‌ها با مکانیسم‌هایی نظیر تولید و ترشح اسیدهای آلی به‌ویژه اسید اگزالیک و اسید سیتریک، در حالیت فسفات‌های معدنی کم‌محلول و با تولید آنزیم‌های فسفاتاز در آزاد شدن فسفر از ترکیبات آلی فسفره نقش مهمی ایفا می‌کنند (Amoaghahi & Mostageran, 2008).

اسید هیومیک از جمله انواع مواد آلی می‌باشد که در کشت و تولید گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ماده ضمن اصلاح ساختمان فیزیکی خاک، از طریق کلات کردن عناصر غذایی ضروری گیاه از جمله نیتروژن و آزادسازی عنصر فسفر از کانی‌های کم‌محلول و نامحلول آن، می‌تواند عناصر مورد نیاز گیاه را در اختیار آن قرار دهد (Chen & Ariad, 1990). تاکنون پژوهش‌های متعددی به بررسی تأثیر کاربرد کودهای بیولوژیک و یا اسید هیومیک بر میزان جذب

عناصر در گیاه پرداخته‌اند. کابلی فرشچی و همکاران (Kaboli Farshchi et al., 2015) در پژوهشی بر روی گیاه دارویی گل راعی (*Hypericum perforatum*) گزارش نمودند که کاربرد اسید هیومیک به‌میزان ۴۰ لیتر در هکتار مقدار عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم را در برگ گل راعی به‌طور معنی‌داری افزایش داد. همچنین کاربرد کودهای بیولوژیک در گیاه دارویی گل همیشه بهار بر میزان نیتروژن و فسفر موجود در برگ تأثیر معنی‌داری داشته است (Hosseinzadah et al., 2011). در تحقیقی که توسط پورهادی (Pourhadi, 2011) بر روی گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita L.*) صورت گرفت، میزان منتول و منتون موجود در اسانس در پاسخ به کاربرد کودهای بیولوژیک تثبیت‌کننده نیتروژن نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس افزایش یافت. در گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis L.*) نیز کاربرد جداگانه و تلفیقی کودهای بیولوژیک محتوی باکتری‌های *آزوسپیریلیوم* و *سودوموناس* و همچنین *ازتوباکتر منجر* به افزایش تیمول و گاما-ترپینن موجود در اسانس این گیاه گردید (Faraji Mehmani et al., 2015). کاربرد اسید هیومیک با غلظت ۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر در گیاه دارویی نعناع فلفلی و غلظت ۱/۵ در هزار در گیاه مرزه (*Satureja hortensis L.*) سبب افزایش معنی‌دار درصد و عملکرد اسانس آن‌ها گردید. (Farahani & Maddani, 2014; Gohary et al., 2014).

هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر این دسته از کودها بر میزان شاخص‌های بیولوژیک و ماده آلی خاک، عناصر نیتروژن و فسفر برگ، تعداد و اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس و کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی نعناع گربه‌ای می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۰ تیمار و سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز در سال ۹۴-۱۳۹۳ اجرا شد. فاکتور اول شامل تیمارهای کودی در پنج سطح (شاهد، ازتوبارور-۱، فسفات بارور-۲، تلفیق دو نوع کود بیولوژیک مذکور، کود شیمیایی) و فاکتور دوم شامل اسید هیومیک در دو سطح (۰ و ۲۰ کیلوگرم در هکتار) بود. قیل از کشت گیاه در زمین اصلی، نمونه‌ای مرکب از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک تهیه گردید (جدول ۱).

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک مزرعه تحقیقاتی (عمق ۳۰ - ۰ سانتی متری)

Table1- Physical and chemical characteristics of research farm (0-30 cm).

روزی Absorbable Zn (mg.kg ⁻¹)	مس Absorbable Cu (mg.kg ⁻¹)	آهن Absorbable Fe (mg.kg ⁻¹)	پتاسیم Absorbable K (mg.kg ⁻¹)	فسفر Absorbable P (mg.kg ⁻¹)	نیترژن کل Total N (%)	کربن آلی Organic carbon (%)	هدایت الکتریکی EC (dS.m ⁻¹)	اسیدیته pH	بافت خاک Soil texture
13.06	3.70	20.66	216	16.1	0.03	0.48	1.26	7.2	شنی- لومی Sandy- Loamy

اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری شاخص‌های بیولوژیکی خاک (تنفس و کربن زیست‌توده میکروبی) نمونه‌برداری خاک در مرحله برداشت گیاه، از خاک مرطوب ناحیه اطراف ریشه صورت گرفت. جهت اندازه‌گیری تنفس میکروبی خاک از روش تیتراسیون برگشتی با سود و کربن زیست‌توده میکروبی خاک از روش تدخین- استخراج استفاده گردید (Anderson, 2003; Barajas Aceves, 2005). جهت اندازه‌گیری میزان ماده آلی خاک نیز نمونه‌برداری از خاک مرطوب ناحیه اطراف ریشه گیاه انجام و میزان آن به روش والکی و بلاک (Walkly & Black, 1934) اندازه‌گیری شد. به‌منظور اندازه‌گیری میزان عناصر نیترژن و فسفر برگ، نمونه‌گیری در ابتدای مرحله گل‌دهی، به‌صورت تصادفی و از برگ‌های بالغ (جفت برگ سوم و چهارم) موجود در هر واحد آزمایشی صورت گرفت. میزان عنصر نیترژن با استفاده از دستگاه کجلدال مدل Kjeltec Auto1030 Analyser و میزان عنصر فسفر با استفاده از روش هضم خشک اندازه‌گیری شد (Johnson & Wilrinson, 1992; Bingham & Bartels, 1996). جهت ارزیابی تعداد و اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس، نمونه‌گیری به‌صورت تصادفی و از برگ‌های بالغ و توسعه‌یافته جفت سوم و چهارم گیاه انجام و پس از شست‌وشو و خشک شدن، تا زمان اندازه‌گیری صفات مورد نظر در محلول محتوی اتانول ۷۰ درصد، فرمالدهید و اسید استیک (با نسبت ۱۷:۲:۱) تثبیت شدند. پس از آن، تعداد و اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس سطح فوقانی و تحتانی برگ با استفاده از دستگاه بینوکولار Olympus مدل SZX7 با بزرگ‌نمایی X20 اندازه‌گیری شد. بدین منظور، ابتدا لایه نازکی از اپیدرم برگ جدا و نمونه‌ای با مساحت یک میلی‌متر مربع تهیه گردید. سپس تعداد کرک‌های ترشچی در مساحت مذکور شمارش و اندازه آن‌ها با استفاده از عدسی چشمی مدرج

بذر گیاه از پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهیه و در آبان ماه در خزانه کشت و نشاهای حاصل در مرحله شش تا هشت برگی در اسفندماه به زمین اصلی انتقال داده شدند. زمین اصلی به‌صورت جوی و پشته در قالب واحد آزمایشی ۲ × ۲ متر آماده گردید. کود شیمیایی اوره به‌میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار و در دو مرحله (۵۰ درصد در زمان آماده‌سازی زمین و ۵۰ درصد بعد از استقرار نشاء) و کود سوپر فسفات تریپل به‌میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار در زمان آماده‌سازی زمین به‌صورت نواری با فاصله پنج سانتی‌متر از بوته به کرت‌های مربوط به تیمار کود شیمیایی اعمال شد. کودهای بیولوژیک از توبرور-۱ (حاوی باکتری تثبیت‌کننده نیترژن) و فسفات بارور-۲ (حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفات) و اسید هیومیک از شرکت زیست‌فناور سبز تهیه گردید. هر بسته کودی شامل ۱۰^۸ CFU/g باکتری زنده و فعال بود. کودهای بیولوژیک مذکور در دو مرحله (در زمان انتقال نشاها و دو هفته پس از کاشت در زمین اصلی) اعمال شدند. در زمان کاشت در زمین اصلی ریشه‌های نشاء با کودهای بیولوژیک از توبرور-۱ و فسفات بارور-۲ با نسبت‌های مشخص (۱۰۰ گرم در هکتار) و بر اساس دستورالعمل توصیه شده تلقیح شدند. اسید هیومیک نیز به‌میزان ۲۰ کیلوگرم در هکتار و در دو مرحله (در زمان کاشت نشاء و دو هفته بعد از استقرار نشاها) اعمال شد. این ترکیب در مرحله اول به‌صورت پودری با فاصله پنج سانتی‌متر از بوته و در مرحله دوم همراه با آب آبیاری در اختیار گیاه قرار گرفت. جهت جلوگیری از اختلاط تیمارها آبیاری به‌صورت سیفونی انجام و علف‌های هرز در طی دوره رشد به‌صورت دستی کنترل شد. صفات میزان عناصر نیترژن و فسفر برگ در ابتدای مرحله گل‌دهی و شاخص‌های بیولوژیکی و ماده آلی خاک و همچنین تعداد و اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس و کمیت و کیفیت اسانس در مرحله تمام‌گل

تعیین شد. داده‌های آزمایش توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ آنالیز شد و جهت مقایسه میانگین آن‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده گردید.

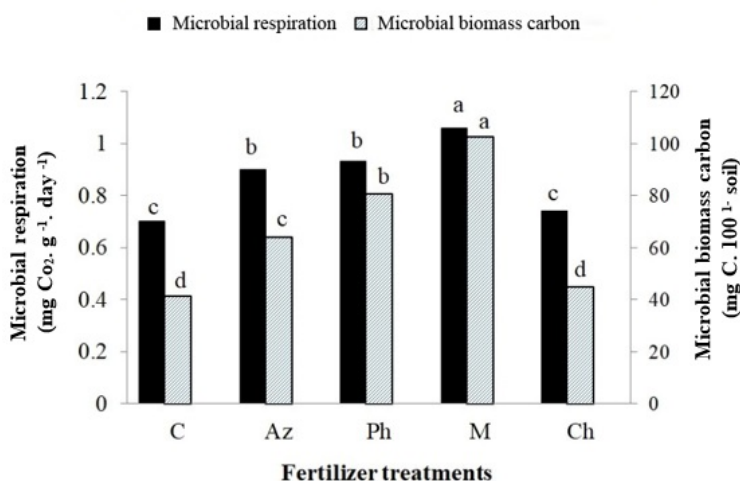
نتایج و بحث

تنفس میکروبی و کربن زیست‌توده میکروبی خاک

بیشترین میزان تنفس میکروبی خاک در تیمار تلفیق دو نوع کود بیولوژیک (۱/۰۶ میلی گرم دی‌اکسید کربن بر گرم خاک در روز) مشاهده گردید که در قیاس با کاربرد جداگانه کودهای بیولوژیک، تیمار کود شیمیایی و شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بود (شکل ۱). پس از آن، به ترتیب تیمارهای فسفات بارور-۲ (۰/۹۳ میلی گرم دی‌اکسید کربن بر گرم خاک در روز)، ازتوبارور-۱ (۰/۹۰ میلی گرم دی‌اکسید کربن بر گرم خاک در روز)، کود شیمیایی (۰/۷۴ میلی گرم دی‌اکسید کربن بر گرم خاک در روز) و شاهد (۰/۷۰ میلی گرم دی‌اکسید کربن بر گرم خاک در روز) در جایگاه‌های بعدی قرارداشتند. گرچه میزان این صفت در تیمارهای ازتوبارور-۱ و فسفات بارور-۲ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت، اما اعمال تیمارهای فوق سبب افزایش قابل توجه تنفس میکروبی خاک در مقایسه با تیمار کود شیمیایی و شاهد گردید. در ارتباط با میزان کربن زیست‌توده میکروبی خاک، تیمار تلفیق کودهای بیولوژیک بیشترین میزان این صفت (۱۰۲/۶۸ میلی گرم کربن در ۱۰۰ گرم خاک) را به خود اختصاص داد که دارای برتری معنی‌داری نسبت به کاربرد جداگانه ازتوبارور-۱ (۶۴/۲۲ میلی گرم کربن در ۱۰۰ گرم خاک) و فسفات بارور-۲ (۸۰/۵۵ میلی گرم کربن در ۱۰۰ گرم خاک)، کود شیمیایی (۴۵ میلی گرم کربن در ۱۰۰ گرم خاک) و شاهد (۴۱/۵۸ میلی گرم کربن در ۱۰۰ گرم خاک) بود (شکل ۱).

صفات تنفس و کربن زیست‌توده میکروبی از جمله شاخص‌های بیولوژیک خاک به‌شمار می‌آیند و بالا بودن این دو شاخص در خاک دلالت بر استقرار و زنده بودن میکروارگانیسم‌های آن و فعالیت و پویایی جامعه میکروبی خاک دارد. با توجه به این امر، چنین به نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر، باکتری‌های موجود در کودهای بیولوژیک توانسته‌اند به‌خوبی با محیط جدید سازگار شده و با استقرار موفق در آن به تکثیر و فعالیت‌های حیاتی خود ادامه دهند.

تخمین زده شد. جهت اندازه‌گیری میزان اسانس، گیاهان در مرحله تمام‌گل برداشت و در دمای حدود ۳۰ درجه سانتی‌گراد و سایه خشک گردید. استخراج اسانس به‌روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر و در مدت زمان سه ساعت بر اساس فارماکوپه اروپا انجام شد (Maisonneuve, 1975). درصد اسانس به‌صورت وزنی-وزنی بر اساس وزن خشک محاسبه شد. سپس نمونه‌های اسانس توسط سولفات سدیم آب‌گیری و تا زمان انجام آنالیز اجزای آن‌ها در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و تاریکی نگهداری شدند. جهت برآورد عملکرد اسانس برحسب گرم در مترمربع، برگ‌ها و گل‌های گیاهان موجود در مساحت یک مترمربع از هر واحد آزمایشی جدا و توزین گردید و عملکرد اسانس، از حاصل ضرب مقدار اسانس در عملکرد بیولوژیک تقسیم بر ۱۰۰ به‌دست آمد. به‌منظور شناسایی و تعیین مقادیر اجزای اسانس، به‌ترتیب از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) و کروماتوگرافی گازی (GC) استفاده گردید. دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی مورد استفاده از نوع Agilent مدل ۵۹۷۵، مجهز به ستون HP-5 ms به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر با ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر و سرعت جریان گاز حامل هلیوم ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه بود. برنامه دمایی ستون از ۴۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد. دمای ستون به‌مدت یک دقیقه در این دما متوقف و سپس به‌تدریج با سرعت پنج درجه در دقیقه افزایش یافت و پس از گذشت ۱۱ دقیقه به دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای محفظه تزریق و آشکارساز به‌ترتیب ۲۸۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیف ترکیبات اسانس به‌کمک بانک اطلاعات جرمی، زمان بازداری، محاسبه شاخص کواتس، بررسی طیف‌های جرمی هر یک از اجزای اسانس و الگوهای شکست آن‌ها، مقایسه با طیف‌های استاندارد و استفاده از منابع معتبر صورت گرفت (Adams, 2007). جهت تعیین درصد نسبی هر یک از ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، از دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل Varian 3800 مجهز به آشکارساز FID و ستون CP-Sil-CB به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۳۲ میلی‌متر با ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه دمایی مشابه برنامه استفاده شده در کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی بود. در نهایت، درصد نسبی اجزای اسانس با توجه به سطح زیر منحنی پیک‌های هر یک از ترکیبات اسانس در کروماتوگرام GC به‌روش نرمال کردن سطح زیر منحنی و مقایسه آن با سطح کل زیر منحنی،



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر تیمارهای کودی بر میزان تنفس میکروبی و کربن زیست‌توده میکروبی خاک
Fig. 1- Mean comparisons for the effect of fertilizer treatments on the soil microbial respiration and biomass carbon

حروف متفاوت، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح پنج درصد بر اساس آزمون دانکن است.
 The bars with different letter are significantly difference at 0.05 probability levels according to Duncan's test.

C: شاهد، Az: ازتوبارور-۱، Ph: فسفات بارور-۲، M: تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، Ch: کود شیمیایی
 C: Control, H: Humic acid, Az: Azetobarvar-1, Ph: Phosphatbarvar-2, M: Combination of biofertilizers, Ch: Chemical fertilizer

شاهد گردیده است.

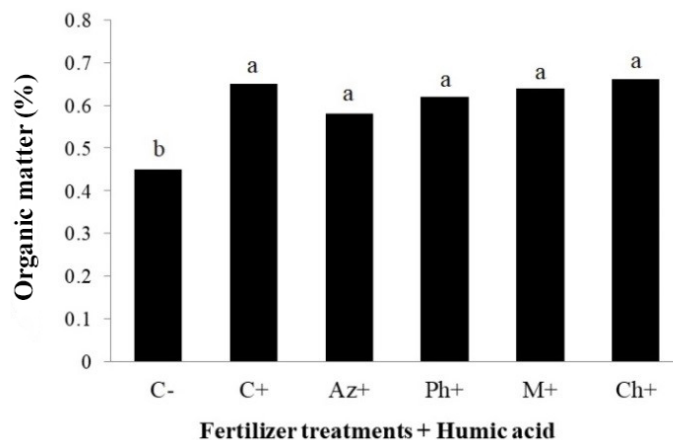
ماده آلی خاک

از آنجا که ریزجانداران خاک از مواد آلی موجود در خاک به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند، علت پایین‌تر بودن ماده آلی خاک در کاربرد توأم اسید هیومیک و کودهای بیولوژیک و عدم وجود تفاوت معنی‌دار میان این تیمارها نیز می‌تواند استفاده بخشی از اسید هیومیک توسط باکتری‌های موجود در کودهای بیولوژیک به‌عنوان منبع انرژی باشد (Tikhonov et al., 2010).

میزان عناصر نیتروژن و فسفر برگ

با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، اعمال تیمارهای کودی سبب افزایش معنی‌دار غلظت عنصر نیتروژن در برگ نسبت به شاهد گردید (جدول ۲). حداکثر میزان این عنصر در نتیجه کاربرد تیمار کود شیمیایی (۳/۱۶ درصد) به‌دست آمد که افزایش آن در قیاس با سایر تیمارها معنی‌دار بود.

بررسی مقایسه میانگین صفت فوق‌حاکی از افزایش معنی‌دار میزان این صفت در نتیجه کاربرد همزمان اسید هیومیک و تیمارهای کودی بود و این امر در حالی است که میان تیمارهای فوق‌اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲). حداکثر میزان ماده آلی خاک، در کاربرد تیمارهای کود شیمیایی همراه با اسید هیومیک (۰/۶۶ درصد) و اسید هیومیک (۰/۶۵ درصد) به‌دست آمد و شاهد کمترین میزان ماده آلی خاک (۰/۴۵ درصد) را به خود اختصاص داد. ماده آلی خاک از جمله شاخص‌های مهم خاک محسوب می‌شود که میزان بالای آن در خاک بیانگر حاصلخیزی آن می‌باشد. اسید هیومیک در نتیجه تجزیه مواد آلی خاک به‌ویژه با منشأ گیاهی به‌وجود می‌آید و با توجه به نتایج تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد افزودن این ترکیب به خاک سبب افزایش میزان ماده آلی خاک شده است. مقایسه میزان ماده آلی خاک در کاربرد توأم اسید هیومیک و کودهای بیولوژیک نشان می‌دهد علی‌رغم پایین‌تر بودن میزان صفت فوق در این تیمارها نسبت به تیمار کود شیمیایی، کاربرد همزمان دو عامل فوق سبب افزایش نسبی میزان ماده آلی خاک در مقایسه با



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر کاربردی تلفیق تیمارهای کودی و اسید هیومیک بر میزان ماده آلی خاک

Fig. 2- Mean comparisons for the effect of simultaneous application of fertilizer treatments and humic acid on soil organic matter

حروف متفاوت، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح پنج درصد است

The bars with different letter are significantly difference at 0.05 probability levels according to Duncan's test

C: شاهد، Az: ازتوبارور-۱، Ph: فسفات بارور-۲، M: تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، Ch: کود شیمیایی، (+): کاربرد اسید هیومیک

C: Control, H: Humic acid, Az: Azetobarvar-1, Ph: Phosphatbarvar-2, M: Combination of biofertilizers, Ch: Chemical fertilizer, (+): Application of humic acid

حسین‌زاده و همکاران (Hosseinzadah et al., 2011) با هدف بررسی تأثیر کاربرد کودهای بیولوژیک بر میزان جذب عناصر نیتروژن و فسفر گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) انجام شد، مشخص گردید کاربرد تلفیق کودهای بیولوژیک حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (ازتوباکتر) و حل‌کننده فسفر (سودوموناس) سبب افزایش معنی‌دار حدود ۵۰ درصدی در میزان این عناصر در گیاه گردید. نیتروژن و فسفر از جمله عناصر ضروری و پر مصرف در گیاهان به‌شمار می‌آیند. با توجه به نتایج به‌دست آمده، می‌توان چنین نتیجه گرفت کاربرد باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن (ازتوباکتر وینلندی) در تحقیق حاضر توانسته است با افزایش تثبیت نیتروژن مولکولی هوا سبب افزایش جذب نیتروژن توسط گیاه گردد. از سوی دیگر، با توجه به اثر مثبت کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ بر میزان عنصر فسفر در گیاه نعنای گربه‌ای به نظر می‌رسد باکتری‌های حل‌کننده فسفر (سودوموناس پوتیدا و پانتوآ آگلومرانس) موجود در این کود نیز توانسته‌اند با انحلال فسفات‌های کم‌محلول و نامحلول موجود در خاک، میزان این عنصر در خاک و در نهایت، جذب آن توسط گیاه را به‌طور معنی‌داری افزایش دهند.

پس از آن، تلقیح گیاه با کود بیولوژیک ازتوبارور-۱ (۲/۷۵ درصد)، تلفیق دو نوع کود بیولوژیک (۲/۷۰ درصد) و فسفات بارور-۲ (۲/۴۶) دارای بیشترین میزان نیتروژن برگ بودند و کمترین میزان این عنصر نیز در شاهد (۲/۳۱ درصد) مشاهده شد. بررسی میزان عنصر فسفر برگ در تیمارهای اعمال شده نیز نشان داد گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های حل‌کننده فسفات (کود بیولوژیک فسفات بارور-۲) دارای بالاترین میزان این عنصر (۰/۵۳ درصد) نسبت به سایر تیمارها بودند، اما این تیمار تفاوت آماری معنی‌داری با تیمارهای تلفیق کودهای بیولوژیک (۰/۴۹ درصد) و کود شیمیایی (۰/۴۸ درصد) نداشت (جدول ۲). کمترین میزان عنصر مذکور نیز به‌ترتیب در تیمارهای ازتوبارور-۱ (۰/۳۳ درصد) و شاهد (۰/۲۹ درصد) مشاهده شد. در پژوهشی دیگر، بخشنده لریمی و همکاران (Bakhshandeh Larimi et al., 2014) با بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گزارش نمودند کاربرد کودهای بیولوژیک حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم) میزان جذب این عنصر در گیاه را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد. علاوه‌براین در مطالعه‌ای مشابه که توسط

تعداد و اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲)، سطح فوقانی برگ در تیمار تلفیق کودهای بیولوژیک دارای بیشترین تعداد کرک‌های ترشح‌کننده اسانس (۱/۳۰ عدد در هر میلی‌مترمربع) بود. تیمار فوق میزان این صفت را حدود ۱/۵ برابر نسبت به شاهد افزایش داد. پس از آن، بیشترین تعداد کرک‌های ترشح‌کننده اسانس در سطح فوقانی برگ مربوط به تیمارهای کود شیمیایی (۱/۱۶ عدد در میلی‌مترمربع)، ازتوبارور-۱ (۱/۱۴ عدد در میلی‌مترمربع) و فسفات بارور-۲ (۰/۹۹ عدد در میلی‌مترمربع) بود و کمترین میزان آن به شاهد (۰/۸۸ عدد در میلی‌مترمربع) تعلق داشت. بررسی تعداد کرک‌های ترشح‌کننده اسانس در سطح تحتانی برگ نیز نشان داد تلفیق گیاه با تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، این صفت را به حداکثر میزان خود (۶/۲۶ عدد در میلی‌مترمربع) در مقایسه با سایر تیمارها رساند. پس از تیمار فوق، تیمار کود شیمیایی، کودهای بیولوژیک ازتوبارور-۱ و فسفات بارور-۲ دارای بیشترین تعداد کرک‌های ترشح‌کننده اسانس در سطح تحتانی برگ بودند. کمترین میزان صفت فوق در شاهد (۴/۲۱ عدد در میلی‌مترمربع) ثبت گردید.

بزرگ‌ترین کرک‌های ترشح‌کننده اسانس در سطوح فوقانی (۲۰۰/۷۶ میکرومترمربع) و تحتانی برگ (۲۰۶/۵۳ میکرومترمربع) در تیمار فسفات بارور-۲ به‌دست آمد و کوچک‌ترین آن‌ها مربوط به شاهد (۱۷۷/۲۱ و ۱۸۶/۲۷ میکرومترمربع) بود (جدول ۲). صفات فوق در تیمار فسفات بارور-۲ تفاوت معنی‌داری با تیمارهای کود شیمیایی (۱۹۳/۰۸ و ۲۰۴/۳۸ میکرومترمربع) و تلفیق کودهای بیولوژیک (۱۹۴/۸۰ و ۲۰۱/۶۰ میکرومترمربع) نداشت، اما کاربرد این تیمار سبب افزایش معنی‌دار اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس سطوح فوقانی و تحتانی برگ نسبت به سایر تیمارهای کودی گردید. تاکنون تحقیقی درباره تأثیر کاربرد کودهای بیولوژیک و اسید هیومیک بر تعداد و اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس نعنای صورت نگرفته است. گیاهان دارویی دارای اندام‌های مختلف جهت تولید و ذخیره متابولیت‌های ثانویه هستند و کرک‌های ترشحاتی محل تولید و تجمع اسانس در گیاهان اسانس‌دار می‌باشند. عنصر نیتروژن به‌دلیل شرکت در ساختار اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها دارای نقش مهم در فرآیند تقسیم و توسعه سلولی، افزایش رشد رویشی گیاه و سطح برگ و در نهایت، تعداد اندام‌های ترشح‌کننده اسانس می‌باشد. عنصر فسفر نیز علاوه بر اینکه در ساختمان مولکول‌های حامل انرژی حضور دارد و

سبب تأمین انرژی فرآیندهای حیاتی گیاه همچون تقسیم و توسعه سلول‌های آن می‌گردد، با شرکت در فرآیند فتوسنتز و ساختار پیش‌ماده‌های اسانس در افزایش میزان این متابولیت ثانویه نقش دارد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر به نظر می‌رسد احتمالاً کاربرد تیمار تلفیق دو نوع کود بیولوژیک توانسته است با تأمین عناصر نیتروژن و فسفر سبب افزایش توان تقسیم سلولی و در نهایت، افزایش تعداد کرک‌های ترشحاتی (اندام ترشحاتی) اسانس گردد. همچنین با توجه به اثر مثبت تیمار کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ بر اندازه کرک‌های ترشحاتی سطح فوقانی و تحتانی برگ می‌توان چنین استدلال نمود که تلفیق گیاه با باکتری‌های حل‌کننده فسفر توانسته است میزان این عنصر در گیاه را بالا برده و با افزایش فرآیند فتوسنتز و اختصاص آسیمیلات‌های بیشتر به‌سمت مسیر بیوسنتزی ترکیبات اسانس سبب افزایش میزان اسانس و فشار وارده بر دیواره‌های سلولی کرک‌های ترشح‌کننده آن و در نتیجه، افزایش اندازه این اندام‌ها گردد.

میزان و عملکرد اسانس

در بررسی مقایسه میانگین میزان اسانس (جدول ۲) مشاهده می‌شود گیاهان تیمار شده با کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ بیشترین میزان اسانس را تولید کردند، به‌طوری‌که مقدار آن در این تیمار به حدود ۱/۵ برابر نسبت به شاهد رسید. پس از تیمار فوق، به‌ترتیب تیمارهای کود شیمیایی (۱/۲۲ درصد)، تلفیق کودهای بیولوژیک (۱/۱۸ درصد) و ازتوبارور-۱ (۱/۱۵ درصد) بیشترین میزان اسانس را به خود اختصاص دادند. نتایج مقایسه میانگین عملکرد اسانس گیاه (جدول ۲) نیز نشان می‌دهد کاربرد تیمار تلفیق دو نوع کود بیولوژیک عملکرد اسانس را حدود ۱/۵ برابر نسبت به شاهد افزایش داد و این صفت را به حداکثر مقدار خود (۲/۱۵ گرم در مترمربع) در میان تیمارهای کودی اعمال شده رساند. اگرچه میان تیمار فوق و شاهد (۱/۴۳ گرم در مترمربع) تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد، اما عملکرد اسانس در این تیمار اختلاف آماری معنی‌دار با سایر تیمارهای کودی نداشت. پس از تیمار تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، به‌ترتیب گیاهان تیمار شده با کود شیمیایی (۲/۰۸ گرم در مترمربع) و کودهای بیولوژیک ازتوبارور-۱ (۱/۸۷ گرم در مترمربع) و فسفات بارور-۲ (۱/۸۷ گرم در مترمربع) دارای بیشترین عملکرد اسانس بودند. طاهرآبادی و همکاران (Taherabadi et al., 2015) نیز در بررسی اثر کاربرد کودهای بیولوژیک بر گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*) به این نتیجه دست یافتند که میزان اسانس در گیاهان تلفیق شده با باکتری‌های حل‌کننده فسفات (*باسیلوس* و *سودوموناس*) بهبود یافت.

رویشی گیاه می‌باشد، نقش عناصر پرمصرفی همچون نیتروژن و فسفر در افزایش آن مهم و اساسی است. از آنجا که تحقیقات انجام شده پیشین نشان می‌دهد کاربرد تیمار تلفیق دو نوع کود بیولوژیک ازتوبارور- ۱ و فسفات بارور- ۲ سبب افزایش تعداد و سطح برگ و رشد گیاه می‌گردد، به نظر می‌رسد کاربرد تیمار فوق توانسته است از یک سو با تأمین نیتروژن سبب بهبود رشد پیکره رویشی گیاه مانند تعداد و سطح برگ و همچنین تعداد کرک‌های ترشح‌کننده اسانس شود و از سوی دیگر، با تأمین عنصر فسفر باعث افزایش پیش‌ماده‌های ترکیبات اسانس، اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس و در نهایت، افزایش میزان اسانس گیاه گردد (Boveiri Dehsheikh et al., 2017; Yoonsy et al., 2014). به این ترتیب، می‌توان چنین نتیجه گرفت کاربرد تیمار تلفیق دو نوع کود بیولوژیک توانست با تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و نرخ تعرق گیاهان گردد و این امر، در نهایت افزایش رشد اندام‌های رویشی و میزان و عملکرد اسانس را در پی داشته است.

اجزای اسانس

بر اساس نتایج آنالیز کیفی اسانس توسط دستگاه GC/MS، ۱۳ ترکیب در اسانس گیاه نعنای گربه‌ای شناسایی شد. جدول ۳ ترکیبات شناسایی شده اسانس را به‌همراه شاخص کواتس و درصد نسبی آن‌ها در تیمارهای اعمال شده نمایش می‌دهد. ترکیبات غالب اسانس به ترتیب شامل ایزومر ۲ نپتالاکتون (۴-آ-بتا، ۷ آلفا، ۷ آلفا-بتا-نپتالاکتون)، ایزومر ۱ نپتالاکتون (۴-آ-آلفا، ۷ آلفا، ۷ آلفا-بتا-نپتالاکتون)، کاربوفیلین اکساید، ترانس کاربوفیلین و ای-ای-فارنسنین بودند که بیش از ۷۰ درصد اجزای اسانس را در گیاهان تیمار شده تشکیل می‌دادند. با توجه به نتایج به‌دست آمده، مشخص شد اثر ساده کاربرد کودهای بیولوژیک بر میزان ترکیبات ایزومر ۱ و ۲ نپتالاکتون و کاربوفیلین اکساید در سطح احتمال پنج درصد و اثر متقابل اعمال کودهای بیولوژیک و اسید هیومیک بر میزان ترانس کاربوفیلین و ای-ای-فارنسنین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

به‌طوری‌که میزان این صفت در تیمار مذکور تفاوت معنی‌داری با اعمال کود شیمیایی نداشت. در گیاه دارویی بابونه آلمانی (*Matricaria recutita* L.) نیز کاربرد کود بیولوژیک فسفات بارور- ۲ توانست درصد اسانس این گیاه را در قیاس با شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دهد (Alijani et al., 2012). همچنین فرجی مهمانی و همکاران (Faraji Mehmani et al., 2015) نیز در پژوهشی بر روی گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) گزارش نمودند کاربرد تلفیق کودهای بیولوژیک سبب افزایش ۱/۵ برابری میزان اسانس و بهبود دو برابری عملکرد آن نسبت به شاهد گردید. نتایج پژوهش حاضر با نتایج تحقیقات بر روی گیاهان ریحان (*Ocimum basilicum* L.)، مرزنجوش (*Majorana hortensis*) و زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) مطابقت دارد (Weisany et al., 2012; Fatma et al., 2008; Rezaee Chianeh et al., 2015). در بررسی تأثیر اسید هیومیک نیز خزائی و همکاران (Khazaie et al., 2011) به این نتیجه دست یافتند که کاربرد این ترکیب اثر معنی‌داری بر میزان اسانس گیاه دارویی زوفا نداشت. گرچه میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی تحت کنترل ژن‌هاست، اما مقدار، غلظت و تجمع آن‌ها به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر شرایط محیطی و اداکیکی است. یکی از عوامل تأثیرگذار بر کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه، تأمین کافی عناصر غذایی می‌باشد و حاصلخیزی خاک و تغذیه صحیح گیاه نقش عمده‌ای در ارتقاء کمی و کیفی این ترکیبات دارد. اسانس‌ها ترکیباتی از گروه شیمیایی ترین‌ها می‌باشند و یا دارای منشأ ترپنی هستند. واحد سازنده اسانس‌ها، ترکیباتی چون ایزوپنتیل پیروفسفات و دی‌متیل آلیل پیروفسفات می‌باشد و عنصر فسفر از اجزای اصلی ساختار آن‌ها محسوب می‌گردد. همچنین ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس، ترکیباتی سنگین و پیچیده‌اند و ساخت آن‌ها مستلزم صرف انرژی و مولکول‌های ATP و NADPH می‌باشد. با توجه به نقش عنصر فسفر در ساختار واحدهای سازنده ترکیبات اسانس و مولکول‌های حامل انرژی ATP و NADPH، تأمین کافی و متعادل این عنصر جهت تشکیل اسانس در این گیاهان، ضروری است (Loomis & Corteau, 1972). با توجه به نتایج به‌دست آمده، می‌توان چنین استدلال کرد کاربرد کود بیولوژیک فسفات بارور- ۲ توانسته است میزان جذب عنصر فسفر را در گیاه نعنای گربه‌ای بالا برده و تأمین کافی این عنصر با شرکت در ساختار واحدهای سازنده ترکیبات اسانس، سبب افزایش میزان اسانس این گیاه گردیده است. علاوه بر میزان اسانس، عملکرد آن در واحد سطح نیز از جمله پارامترهای مهم در تعیین کمیت این متابولیت ثانویه در گیاهان اسانس‌دار می‌باشد. با توجه به اینکه عملکرد اسانس در گیاهان دارویی، حاصل‌ضرب میزان اسانس در عملکرد اندام‌های

جدول ۲ - مقایسه میانگین اثر تیمارهای کودی بر برخی صفات آناتومی و بیوشیمیایی گیاه دارویی نعناع گریبای (*Nepeta cataria* L.)
 Table 2- Means comparison for the effect of fertilizer treatments on anatomical and biochemical traits of catnip (*Nepeta cataria* L.)

تیمار Treatment	میزان نیتروژن Leaf nitrogen content (%)	میزان فسفر برگ Leaf phosphorus content (%)	تعداد کرمک‌های ترشح‌کننده اسانس Number of essential oil secretory trichomes (No.mm ⁻²)		اندازه کرمک‌های ترشح‌کننده اسانس Size of essential oil secretory trichomes (µm ²)		میزان اسانس Essential oil content (%)	عملکرد اسانس Essential oil yield (g.m ⁻²)
			سطح فوقانی برگ Upper surface of leaf	سطح تحتانی برگ Lower surface of leaf	سطح فوقانی برگ Upper surface of leaf	سطح تحتانی برگ Lower surface of leaf		
C	2.31 ^d	0.29 ^b	0.88 ^c	4.21 ^c	177.21 ^c	186.27 ^c	0.86 ^b	1.43 ^b
Az	2.75 ^b	0.33 ^b	1.14 ^b	5.25 ^b	188.21 ^b	194.80 ^b	1.15 ^a	1.87 ^a
Ph	2.46 ^c	0.53 ^a	0.99 ^c	4.55 ^c	200.76 ^a	206.53 ^a	1.30 ^a	1.87 ^a
M	2.70 ^b	0.49 ^a	1.30 ^a	6.26 ^a	194.80 ^{ab}	201.60 ^a	1.18 ^a	2.15 ^a
Ch	3.16 ^a	0.48 ^a	1.16 ^b	5.92 ^a	193.08 ^{ab}	204.38 ^a	1.22 ^a	2.08 ^a

Ch: شیمیایی، Az: ازتوباروار-۱، Ph: فسفات باروار-۱، M: تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، C: کود شیمیایی

C: Control, Az: Azetobarvar-1, Ph: Phosphatbarvar-1, M: Combination of biofertilizers, Ch: Chemical fertilizer.

* میانگین‌های با حروف متفاوت، دارای اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

* Means with the different letters have significant difference at 0.05 probability level based on Duncan's multiple range test.

میزان ترکیبات منتول و منتون اسانس این گیاه می‌شود (Pourhadi, Faraji Mehmani et al., 2011). فرجی مهمانی و همکاران (2011) نیز در بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر میزان اجزای غالب اسانس گیاه دارویی مرزه نشان دادند که تلقیح گیاه با تلقیح کودهای بیولوژیک تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفات سبب افزایش معنی‌دار میزان ترکیب لیمونن و گاما ترپینن اسانس نسبت به سایر تیمارها می‌گردد، اما کاربرد این تیمار باعث کاهش ترکیباتی چون تیمول، ترپینن-۴-ال و پی‌سیمن می‌شود. گزارش‌های اندکی در زمینه تأثیر اسید هیومیک بر کیفیت و اجزای اسانس گیاهان دارویی وجود دارد. خلید و همکاران (Khalid et al., 2015) در تحقیقی بر روی گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare*)، گزارش نمودند که کاربرد اسید هیومیک سبب افزایش معنی‌دار میزان استراگول و ترانس آنتول اسانس گیاه می‌گردد. تولید اسانس و ترکیبات موجود در آن تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، تنوع فصلی، شرایط اقلیمی، تغذیه گیاه، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و تنش‌های محیطی قرار دارد. میزان عناصر غذایی و تغذیه صحیح گیاه از جمله عوامل اثرگذار بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی می‌باشد. عنصر فسفر به‌واسطه شرکت در ساختار ترکیبات موجود در اسانس و عنصر نیتروژن به‌دلیل حضور در ساختار آزیم‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتزی ترکیبات اسانس از اهمیت ویژه‌ای در کمیت و کیفیت اجزای اسانس گیاهان دارویی برخوردارند. با توجه به نتایج تحقیق حاضر مشخص شد در نتیجه کاربرد تیمارهای کودی میزان ایزومر ۱ نپتالاکتون کاهش و در مقابل، میزان ایزومر ۲ آن افزایش یافت. به این ترتیب می‌توان چنین استدلال کرد، اعمال تیمارهای کودی به‌کار رفته به‌ویژه کودهای بیولوژیک سبب تبدیل پیش‌ماده مشترک نپتالاکتون به‌سمت تولید ایزومر ۲ و کاهش میزان ایزومر ۱ آن شده است. همچنین نتایج نشان داد، میزان ترکیب ترانس کاربوفیلین در پاسخ به تیمارهای اعمال شده افزایش و در مقابل میزان کاربوفیلین اکساید که فرم اکسید شده این ترکیب است، کاهش یافته است. بنابراین چنین به نظر می‌رسد، احتمالاً کاربرد تیمارهای کودی مانع از اکسید شدن ترکیب ترانس کاربوفیلین و تولید کاربوفیلین اکساید شده است. میزان ای-ای-فارنسنین موجود در اسانس نیز به‌طور مثبت تحت تأثیر تیمارهای کودی قرار گرفت که می‌تواند گواه اثر مثبت تیمارهای کودی به‌کار رفته باشد.

کاربرد اسید هیومیک به‌تنهایی اثر معنی‌داری بر اجزای اسانس این گیاه نداشته است. در بررسی مقایسه میانگین اجزای اسانس مشاهده شد حداکثر میزان ایزومر ۲ نپتالاکتون در نتیجه اعمال کود شیمیایی (۶۲/۰۳ درصد) به‌دست آمد و این تیمار تفاوت معنی‌دار با تیمارهای تلقیح دو نوع کود بیولوژیک (۶۰/۰۸ درصد)، ازتوبارور-۱ (۵۹/۹۱ درصد)، و فسفات بارور-۲ (۵۹/۸۵ درصد) نداشت، اما سبب افزایش معنی‌دار این ترکیب نسبت به شاهد (۴۷/۳۹ درصد) گردید. همچنین نتایج نشان داد اسانس گیاهان تیمار شده با کود بیولوژیک ازتوبارور-۱ دارای بیشترین میزان ایزومر ۱ نپتالاکتون (۲۹/۸۵ درصد) بود. تفاوت میزان این ترکیب در تیمار مذکور در مقایسه با شاهد (۲۸/۴۹ درصد) و تیمار تلقیح دو نوع کود بیولوژیک (۲۶/۹۵ درصد) از لحاظ آماری معنی‌دار نبود، اما نسبت به تیمارهای کود شیمیایی (۲۴/۲۱ درصد) و فسفات بارور-۲ (۲۲/۴۹ درصد) اختلاف معنی‌دار نشان داد. کمترین میزان این ترکیب نیز در تیمار فسفات بارور-۲ مشاهده شد (جدول ۴). بررسی میزان ترکیب کاربوفیلین اکساید در تیمارهای اعمال شده، بیانگر آن است که تیمارهای شاهد، فسفات بارور-۲ و ازتوبارور-۱ به‌ترتیب با مقادیر ۳/۷۹، ۳/۶۶ و ۳/۰۸ درصد بالاترین میزان ترکیب فوق‌را به خود اختصاص دادند. کمترین میزان کاربوفیلین اکساید نیز در گیاهان تیمار شده با تلقیح دو نوع کود بیولوژیک (۲/۰۱ درصد) و کود شیمیایی (۱/۸۵ درصد) به‌دست آمد و تیمارهای مذکور دارای تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارهای اعمال شده بودند (جدول ۴). مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای کودی و اسید هیومیک بر میزان ترکیب ترانس کاربوفیلین نشان داد تیمار کاربرد توأم تلقیح دو نوع کود بیولوژیک و اسید هیومیک میزان این ترکیب را به بالاترین مقدار خود (۴/۰۸ درصد) در قیاس با دیگر تیمارهای اعمال شده رساند و پس از آن اسانس گیاهان تیمار شده با کود شیمیایی + اسید هیومیک (۳/۳۴ درصد) و کود بیولوژیک ازتوبارور-۱ (۳/۲۹ درصد) بیشترین میزان این ترکیب را دارا بودند (جدول ۵). حداکثر میزان ترکیب ای-ای-فارنسنین نیز در تیمار کاربرد همزمان کود شیمیایی و اسید هیومیک (۱/۸۳ درصد) به‌دست آمد که افزایش آن نسبت به تیمارهای تلقیح دو نوع کود بیولوژیک و اسید هیومیک (۱/۱۲ درصد)، فسفات بارور-۲ (۰/۹۸ درصد) و کود شیمیایی (۰/۸۸ درصد) معنی‌دار بود (جدول ۵). در تحقیقی مشابه بر روی گیاه دارویی نعناع فلفلی، مشخص گردید کاربرد کودهای بیولوژیک سبب افزایش

جدول ۳- ترکیبات شناسایی شده اسانس گیاه نفع گریه‌ای (*Nepeta cataria L.*) تحت تیمارهای کودی و اسید هیومیک
 Table 3- Identified compounds of Catnip (*Nepeta cataria L.*) essential oil under fertilizer treatments and humic acid

ردیف Row	زمان بازداری Retention time	نام ترکیب Compound name	شاخص کوواتس Kovats index	C-	C+	Az-	Az+	Ph-	Ph+	M-	M+	Ch-	Ch+
1	7.99	آلفا-پینین α -Pinene	942	0.12	0.11	0.17	0.10	0.07	0.09	-	0.09	-	-
2	9.22	بتا-پینین β -Pinene	977	0.86	1.09	1.48	0.56	1.01	1.01	0.89	0.92	0.88	0.76
3	11	سیس-آسیمین <i>cis</i> -Ocimene	1035	0.10	0.07	0.10	0.12	0.11	0.08	0.15	0.06	0.13	-
4	15.65	متیل سالیسیلات Methyl salicylate	1191	0.45	0.43	0.73	0.30	0.42	0.45	0.25	0.24	0.31	0.48
5	20.49	۴-آلفا، ۷-آلفا، ۷-نیپتالاکتون (ایزومر ۱) 4- α -6, 7 α , 7 β - Nepetalactone (Isomer 1)	1357	29.81	27.19	26.05	33.66	23.92	21.06	27.56	26.35	27.64	20.80
6	21.40	۴-بتا، ۷-آلفا، ۷-نیپتالاکتون (ایزومر ۲) 4- β -7 α , 7 β - Nepetalactone (Isomer 2)	1400	38.18	56.61	61.56	58.26	64.09	55.63	60.33	59.83	64.82	59.24
7	21.87	ترانس کاروفیلین <i>trans</i> - Caryophyllene	1424	1.94	1.27	3.30	1.21	1.94	1.27	1.72	4.08	1.61	3.34
8	22.67	آلفا-هیومولن α -Humulene	1457	0.31	0.42	0.15	0.21	0.27	0.15	0.20	0.20	0.13	0.33
9	23.41	بتا-ایونون β -Ionone	1488	0.28	0.13	0.10	0.12	0.11	0.23	0.07	0.19	0.22	0.13
10	23.90	ای-ای-فارسین (E,E)-Farnesene	1508	1.39	1.19	1.21	1.45	0.98	1.65	1.71	1.12	0.88	1.83
11	25.8	کاروفیلین اکساید Caryophyllene oxide	1586	2.89	4.69	2.77	3.40	3.53	3.79	2.51	1.53	2.14	1.57
12	26.18	بتا-ئودسمن β -Eudesmane	1602	0.20	0.21	0.21	0.17	0.18	0.09	0.15	0.11	0.09	0.21
13	43.70	دی ایزوکتیل فتالات Diisocetyl phthalate	1640	0.23	0.46	1.45	0.39	0.50	0.12	0.40	0.83	0.42	1.19
کل Total				76.76	93.87	99.28	99.95	97.13	85.62	95.94	95.55	99.27	89.88

C: Control, H: Humic acid, Az: Azetobarvar-1, Ph: Phospatbarvar-2, M: Combination of biofertilizers, Ch: Chemical fertilizer, (+): Application of humic acid, (-): without application of humic acid.
 C: شاهد، H: اسید هیومیک، Az: آزتوباروار-۱، Ph: فسفات باروار-۲، M: تلفیق دو کود بیولوژیک، Ch: کود شیمیایی، (+): کاربرد اسید هیومیک، (-): عدم کاربرد اسید هیومیک، مقادیر بر رنگ، ترکیبات اصلی اسانس هستند.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر ساده تیمارهای کودی بر ترکیبات اصلی اسانس گیاه دارویی نعنای گربه‌ای (*Nepeta cataria* L.)Table 4- Means comparison of the simple effect of fertilizer treatments on main oil components of catnip (*Nepeta cataria* L.) oil

تیمار Treatment	۴-آ-آلفا، ۷-آلفا، ۷-آلفا بتا- نیتالاکتون (ایزومر ۱) 4-a-α, 7α, 7αβ- Nepetalactone (Isomer 1)	۴-آ-بتا، ۷-آلفا، ۷-آلفا بتا- نیتالاکتون (ایزومر ۲) 4-a-β, 7α, 7αβ- Nepetalactone (Isomer 2)	کاربوفیلین اکساید Caryophyllene oxide
C	28.49 ^{ab*}	47.39 ^b	3.79 ^a
Az	29.85 ^a	59.91 ^a	3.08 ^a
Ph	22.49 ^c	59.85 ^a	3.66 ^a
M	26.95 ^{ab}	60.08 ^a	2.01 ^b
Ch	24.21 ^{bc}	62.03 ^a	1.85 ^b

C: شاهد، Az: از توبرور-۱، Ph: فسفات بارور-۲، M: تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، Ch: کود شیمیایی

C: Control, Az: Azetobarvar-1, Ph: Phosphatbarvar-2, M: Combination of biofertilizers, Ch: Chemical fertilizer.

* میانگین‌های با حروف متفاوت، دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

* Means with the different letters have significant difference at 0.05 probability level based on Duncan's multiple range test.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای کودی و اسید هیومیک بر ترکیبات اصلی اسانس گیاه دارویی نعنای گربه‌ای (*Nepeta cataria* L.)
Table 5- Means comparison of the interaction effect of fertilizer treatments and humic acid on main oil components of catnip (*Nepeta cataria* L.) oil

تیمار Treatment	ترانس کاربوفیلین trans- Caryophyllene	ای-ای-فارنسنین (E,E)- Farnesene
C-	1.94 ^{b*}	1.39 ^{abc}
C+	1.27 ^b	1.19 ^{abc}
Az-	3.29 ^a	1.21 ^{abc}
Az+	1.20 ^b	1.45 ^{abc}
Ph-	1.94 ^b	0.98 ^c
Ph+	1.27 ^b	1.65 ^{ab}
M-	1.71 ^b	1.71 ^{ab}
M+	4.08 ^a	1.12 ^{bc}
Ch-	1.61 ^b	0.88 ^c
Ch+	3.34 ^a	1.83 ^a

C: شاهد، Az: از توبرور-۱، Ph: فسفات بارور-۲، M: تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، Ch: کود شیمیایی، (+): کاربرد اسید هیومیک، (-): عدم کاربرد اسید هیومیک.

C: Control, Az: Azetobarvar-1, Ph: Phosphatbarvar-2, M: Combination of biofertilizers, Ch: Chemical fertilizer, (+): Application of humic acid, (-): without application of humic acid.

* میانگین‌های با حروف متفاوت، دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

* Means with the different letters have significant difference at 0.05 probability level based on Duncan's multiple range test.

نتیجه‌گیری

هو و در نتیجه، افزایش جذب نیتروژن توسط گیاه باشد. افزایش میزان فسفر گیاه به دنبال کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات (سودوموناس پوتیلیا و پانتوا آگلومرانس) نشان داد این باکتری‌ها توانستند احتمالاً از طریق انحلال فسفات‌های کم‌محلول و نامحلول موجود در خاک، میزان این عنصر را در محلول خاک بالا برده و جذب آن را توسط گیاه افزایش دهند. گیاهان تیمار شده با تلفیق کودهای بیولوژیک دارای بیشترین تعداد کرک‌های ترشح‌کننده اسانس بودند که به نظر می‌رسد در نتیجه تأثیر باکتری‌های اعمال شده بر میزان جذب عناصر نیتروژن و فسفر و احتمالاً افزایش تقسیم و بزرگ شدن سلولی در کرک‌های ترش‌حی باشد. اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس در پی کاربرد کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ افزایش یافت که این امر احتمالاً به دلیل افزایش میزان جذب عنصر فسفر توسط گیاه و

در تحقیق حاضر کاربرد تلفیق کودهای بیولوژیک سبب افزایش میزان تنفس و کربن‌زیست‌توده میکروبی خاک گردید که احتمالاً نشان‌دهنده زنده‌مانی، استقرار و فعالیت این باکتری‌ها در خاک و به دنبال آن افزایش جامعه میکروبی خاک می‌باشد. همچنین کاربرد کودهای بیولوژیک سبب کاهش میزان ماده آلی خاک گردید که با توجه به افزایش تنفس و کربن‌زیست‌توده میکروبی خاک به نظر می‌رسد این امر احتمالاً به دلیل تغذیه باکتری‌های خاک از اسید هیومیک اعمال شده باشد. میزان نیتروژن گیاه در پاسخ به کاربرد کود بیولوژیک حاوی باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن (ازتوباکتر وینلندی) افزایش یافت که ممکن است به دلیل افزایش تثبیت نیتروژن مولکولی

و به دنبال آن بهبود تعداد و اندازه کرک‌های ترش‌چی و میزان، عملکرد و اجزای اسانس گیاه دارویی نناع گربه‌ای کمک نماید. بنابراین پیشنهاد می‌گردد که این آزمایش در مقیاس بزرگ‌تر و برای مدت طولانی‌تر مورد بررسی قرار گیرد تا در صورت موفقیت‌آمیز بودن جهت کاربرد تجاری کودهای مذکور توصیه‌های لازم به عمل آید. با توجه به عدم تأثیر معنی‌دار اسید هیومیک در اغلب صفات مورد بررسی در این پژوهش به نظر می‌رسد کاربرد آن در کشت و کار گیاهان دارویی نیازمند بررسی‌های بیشتر است.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز (گرت: SCU.Ah98.775) و شرکت زیست‌فناور سبز به جهت حمایت‌های مالی از طرح و تأمین کودهای بیولوژیک و اسید هیومیک، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تولید فرآورده‌های فتوسنتزی و تخصیص بیشتر این ترکیبات به سمت تولید اسانس، افزایش فشار وارد شده به دیواره سلولی این کرک‌ها و اندازه آن‌ها است. به کارگیری کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ سبب افزایش میزان اسانس گیاه و تلفیق آن با کود بیولوژیک ازتوبارور-۱ موجب بهبود عملکرد اسانس گردید. به نظر می‌رسد افزایش جذب فسفر سبب تولید بیشتر پیش‌ماده‌های اسانس و میزان این متابولیت ثانویه در گیاه شده است. عملکرد اسانس نیز به دنبال افزایش رشد و توسعه بیشتر اندام‌های رویشی و همچنین تعداد و اندازه کرک‌های ترش‌چی در واحد سطح بهبود یافت. تیمارهای کودی مورد استفاده در این پژوهش به ویژه کودهای بیولوژیک سبب تغییر مسیر پیش‌ماده سنتز نپتالاکتون اسانس به سمت تولید ایزومر ۲ آن، کاهش اکسیداسیون ترانس کاریوفیلین و افزایش میزان این ترکیب به همراه ای-ای-فارنسنین در اسانس گردید. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، می‌توان چنین نتیجه گرفت کاربرد کودهای بیولوژیک محتوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفات می‌توانند به جذب بیشتر عناصر غذایی ضروری مانند نیتروژن و فسفر

References

- Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, Fourth ed. Allured Publishing Corporation, Illinois.
- Alijani, M., Amini Dehghi, M., Malboei, M.A., Zahedi, M., and Modarres Sanavi, S.A.M., 2012. Effect of phosphorus fertilizer combined with organic fertilizer, phosphate barvar-2 on yield, oil content, and chamazulene Chamomile German (*Matricaria recutita* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 27: 450-459. (In Persian with English Summary)
- Amooghaei, R., and Mostageran, A., 2008. Plant-bacteria symbiosis assistance systems. Isfahan University, Iran. (In Persian).
- Anderson, T.H., 2003. Microbial eco-physiological indicators to asses soil quality. Agriculture, Ecosystems and Environment 98: 285-293.
- Bakhshandeh Larimi, S., Shakiba, M.R., Dabbagh Mohammadinasab, A., and Moghaddam Vahed, M., 2014. Changes in nitrogen and chlorophyll density and leaf area of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) affected by biofertilizer and nitrogen application. International Journal of Biosciences 9: 256-265.
- Barajas Aceves, M., 2005. Comparison of different microbial biomass and activity measurement methods in metal-contaminated soil. Journal Bioresource Technology 96: 1405-1414.
- Bingham, F.T., and Bartels, J.M., 1996. Methods of Soil Analysis. Vol. 1, Part 3. Chemical methods. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA. pp. 752-758.
- Boveiri Dehsheikh, P., Mahmoodi Sourestani, M., Enayatizami, N., and Zolfaghari, M., 2017. The study on the effect of biological and chemical fertilizers and humic acid on the growth, physiological characteristics, and essential oil content of catnip (*Nepeta cataria* L.). Journal of Plant Production Research 24: 61-76.
- Chen, Y., and Ariad, T., 1990. Effects of humic substances in plant growth. Soil Science Society of America, pp. 161-186.
- Faraji Mehmani, A., Esmailpour, B., Sefidkon, F., Abbaszadeh, B., Khavazi, K., and Ghanbari, A., 2015. Effects of biofertilizers on growth criteria, quantitative and qualitative yield of summer savory (*Satureja hortensis* L.). Journal of Agroecology 6: 870-879. (In Persian with English Summary)

- Farahani, A., and Maddani, H., 2014. Evaluate the usefulness of humic acid organic matter in comparison to chemical fertilizer and manure and their combination in summer savory (*Satureja hortensis* L.). *New Finding in Agriculture* 8: 323-337. (In Persian with English Summary)
- Fatma, A.G., Lobna, A.M., and Osman, N.M., 2008. Effect of compost and biofertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Majorana hortensis*) Plant. *International Journal of Agriculture and Biology* 10: 381-387.
- Gohary, A.E.E., Sherbeny, S.E.E. and Ghazal, G.M.E.M., 2014. Evaluation of essential oil and monoterpenes of peppermint (*Mentha piperita* L.) under humic acid with foliar nutrition. *Journal of Materials and Environmental Science* 5: 1885-1890.
- Hosseinzadah, F., Satei, A., and Ramezanpour, M.R., 2011. Effects of mycorrhiza and plant growth promoting rhizobacteria on growth, nutrients uptake and physiological characteristics in *Calendula officinalis* L. *Middle-East Journal of Scientific Research* 8: 947-953.
- Johnson, J.W., and Wilrinson, R.E., 1992. Wheat growth response of cultivars to H⁺ concentration. *Plant and Soil* 146: 55-59.
- Kaboli Farshchi, H., Azizi, M., Nemeti, H., and Roshan-Sourestani, V., 2015. Effect of potassium sulphate and humic acid on growth, yield, and essential oil content in *Hypericum perforatum* L. *Journal of Horticultural Science* 29: 518-527. (In Persian with English Summary)
- Khalid, K.A., Omer, E.A., El Gendy, A.G., and Hussein, M.S., 2015. Impact of organic compost and humic acid on essential oil composition of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* var. Dulce) under sandy soil conditions in Egypt. *World Journal of Pharmaceutical Sciences* 3: 160-166.
- Khazaie, H.R., Eyshi Rezaie, E., and Eyshi Rezaie, M., 2011. Application times and concentration of humic acid impact on aboveground biomass and oil production of hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 5148-5154.
- Loomis, W.D., and Corteau, R., 1972. Essential oil biosynthesis. *Recent Advances in Phytochemistry* 6: 147-185.
- Maisonneuve, S.A., 1975. *European Pharmacopoeia*. Sainte-Ruffine.
- Pourhadi, M., 2011. Effect of biofertilizers on yield and essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Herbal Drugs* 2: 137-148. (In Persian with English Summary)
- Rezaee Chianeh, I., Pirezad, A., and Fargami, A., 2015. The effect of bacteria suppliers nitrogen, phosphorus and sulfur on seed yield and essential oil of cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production* 24: 71-83. (In Persian with English Summary)
- Sharma, A.K., 2002. *Biofertilizers for sustainable agriculture*. Agrobios, India.
- Suschke, U., Geiss, H.K., and Reichling, J., 2006. Antibacterial activity of the essential oils of catnip (*Nepeta cataria* L.) and lemon balm (*Melissa officinalis* L.) against clinical isolates from the respiratory tract. *Planta Medica* 72(11): 27.
- Taherabadi, S., Neemati, N.B., Pazoki, A., and Naderi Boroujerdi, G., 2015. Application of biological fertilizer to reducing the need for chemical fertilizers in hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Agronomic Research in Semi Desert Regions* 11: 107-116. (In Persian with English Summary)
- Tikhonov, V.V., Yakushev A.V., Zavgorodnyaya, Y.A., Byzov, B.A., and Demin, V.V., 2010. Effects of humic acids on the growth of bacteria. *Eurasia Soil Science* 43: 305-313.
- Tucker, A.O., and Tucker, S.S., 1988. Catnip and the catnip response. *Economic Botany* 42: 214-231.
- Walkly, A., and Black, I.A., 1934. An examination of the degtjare of method for determination soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-38.
- Weisany, V., Rahimzadeh, S., Sohrabi, Y., 2012. Effect of biofertilizers on morphological, physiological characteristic and essential oil content in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 28: 73-87.
- Yoonesy, A.R., Sadeghian Motahar, S.Y., Sajedi, N.A., and Naderi Boroujerdi, G.R., 2014. Effects of biological and chemical fertilizers (nitrogen and phosphorus) on yield and oil content of peppermint plant under the climatically conditions of Arak. *New Finding in Agriculture* 8: 275-290. (In Persian with English Summary)



The Effects of Biological, Chemical Fertilizers and Humic Acid on some Microbial Parameters, Elements and Oil Quantity and Quality of Catnip (*Nepeta cataria* L.)

P. Boveiri Dehsheikh¹, M. Mahmoodi Sourestani^{*2}, M. Zolfaghari³ and N. Enayati Zamir⁴

Submitted: 08-04-2019

Accepted: 06-10-2019

Boveiri Dehsheikh, P., Mahmoodi Sourestani, M., Zolfaghari, M., and Enayati Zamir, N., 2021. The effects of biological, chemical fertilizers and humic acid on some microbial parameters, elements and oil quantity and quality of Catnip (*Nepeta cataria* L.). Journal of Agroecology 13(1):73-88.

Introduction

Catnip (*Nepeta cataria* L.) is one of the most important medicinal plants belonged to the Lamiaceae family that referred to considerable pharmacological, antimicrobial, antibacterial and pesticides activities of its essential oil in most of the literatures. The harmful effects of chemical fertilizers on the environment and human health and lack of soil organic matter in arid and semi-arid regions have resulted in an increase in the use of chemical fertilizers in these areas. Excessive use of these fertilizers has led to serious environmental pollutions during the last decades. With respect to the hazards of chemical fertilizers and the importance of medicinal plants, researchers have recently considered the application of biofertilizers and organic materials. According to literatures, the application of biofertilizers and organic fertilizers can be recommended as a proper alternation for the improvement of the quantity and quality of essential oil in Catnip.

Material and Methods

This research was conducted as factorial layout based on a randomized complete block design (RCBD) with three replications at the research farm of the faculty of agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran. The first factor was included fertilizer treatments in five levels (Control (C), Azetobarvar-1 (Az), Phosphatbarvar-2 (Ph), Combination of Az and Ph (M), chemical fertilizer (Ch) included 150 kg.ha⁻¹ granular urea (46% N) and 100 kg.ha⁻¹ triple superphosphate (46% P₂O₅) and the second factor was comprised humic acid in two levels (0 and 20 kg.ha⁻¹). The studied traits in this research included soil microbial respiration and biomass carbon and soil organic matter contents, leaf nitrogen and phosphorus amounts, number and size of secretory trichomes, essential oil content, yield and composition. Leaf nitrogen and phosphorus concentrations were measured at the beginning of reproductive stage by Kjeldahl method and colorimetric method using a UV-2100-Unico spectrophotometer, respectively. Moreover, the soil microbial respiration and soil biomass carbon were determined by alkali absorption and the fumigated extraction, respectively, and soil organic matter was estimated by the modified Walkly and Black's methods. Furthermore, the number and size of secretory trichomes was registered using Binocular microscope and essential oil was extracted by Clevenger-type apparatus and analyzed using GC and GC-MS at full bloom stage.

Results and Discussion

According to the results, the sole application of fertilizer treatment was positively affected on soil microbial respiration and biomass carbon, leaf nitrogen and phosphorus contents. The number and size of secretory trichomes,

1- M.Sc. Graduated of Medicinal Plants, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2,3- Associate and Assistant Professors, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

4- Associate Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

(Corresponding Author Email: m.mahmoodi@scu.ac.ir)

Doi:10.22067/jag.v13i1.79970

essential oil content and yield and essential oil composition were significantly influenced when fertilizer treatments and humic acid were applied simultaneously. The highest amount of soil microbial respiration as well as biomass carbon was detected in M and the lowest was observed in control. The application of Ch and humic acid was significantly improved the soil organic matter. However, no significant difference was found between these treatments and biofertilizers treatments. The lowest amount of soil organic matter was detected in control. The maximum content of leaf nitrogen element was observed in plant treated by Ch and minimum was registered in control. The highest level of leaf phosphorus element, the size of secretory trichomes and essential oil content were obtained when Ph was applied while there was no significant difference between this biofertilizer and Ch and M. The maximum number of secretory trichomes and essential oil yield was detected in plant treated with M. The most amounts of isomers 1 and 2 of nepetalactone and caryophyllene oxide was observed in Az, Ch and control, respectively, and least was in control, Ph and Ch, respectively. The highest level of trans- caryophyllene and (E,E)-Farnesene was obtained in the oil of plant treated with M+ and Ch+ and lowest detected in Az+ and Ch-.

Conclusion

According to the results, to improve the quantity and quality of Catnip essential oil, the application of biological fertilizers instead of chemical fertilizers is recommended and further research is also required to investigate both the effects of applying humic acid alone and in combination with biofertilizers on some traits.

Keywords: Azetobarvar-1, Nepetalactone, Nitrogen, Phosphorus, Phosphatbarvar-2, Secretory trichome