تغذیه گیاهان باغی
دوره اول، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۷، (ص ۲۹-۴۰)

تأثیر مصرف کود زیستی بر ویژگی‌های کمّی و کیفی گیاه دارویی به لیمو (*Lippia citriodora*)

علی‌اکبر زارع[۱]، محمّدجعفر ملکوتی[۲]، حسین‌علی بهرامی*[۳]، فاطمه سفیدکُن [۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲- استاد خاکشناسی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳- دانشیار خاکشناسی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۴- استاد فیتوشیمی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۰۶ ، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۰۲

چکیده

این پژوهش بصورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تیمار و سه تکرار به شرح: T_1: بدون کوددهی (شاهد)، T_2: کوددهی بر اساس عرف زارع (کوددهی سنتی)، T_3: کوددهی بر اساس مصرف متعادل کود، T_4: کود زیستی، T_5: تیمار دوم + کود زیستی و T6: تیمار سوم + کود زیستی در دو برداشت در گلخانه دانشگاه تربیت مدرس صورت گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که بین تیمارها بر اساس کلیه صفات در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. بیشترین و کمترین مقدار میانگین عملکرد برگ خشک و اسانس دو برداشت در تیمار شاهد به ترتیب (۶۶۴ و ۷/۱۵ کیلوگرم در هکتار) و در تیمار مصرف متعادل کود + کود زیستی (۱۲۶۱ و ۱۹/۹۷ کیلوگرم در هکتار) مشاهده شد. تیمار مصرف متعادل کود+ کود زیستی نسبت به سایر تیمارها دارای بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی در هر دو برداشت بود. بیشترین غلظت پتاسیم، آهن، روی و منگنز برگ در تیمار مصرف متعادل کود + کود زیستی به دست آمد. کمترین (۴۰/۵۲ درصد) و بیشترین (۵۲/۲۷ درصد) مقدار ترکیبات اصلی ژرانیال و نرال به ترتیب در تیمارهای شاهد و مصرف متعادل کود + کود زیستی به دست آمد. با توجه به نتایج تحقیق، مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی در مزارع گیاهان دارویی توصیه می‌گردد.

کلید واژه‌ها: مصرف متعادل کود، کوددهی سنتی، اسانس، آنتی‌اکسیدان

***Corresponding Author E-mail:** *Bahramih@modares.ac.ir*

مقدمه

گیاهان اگرچه حاوی ترکیبات مختلفی از جمله پروتئین‌ها، آمینواسیدها، ویتامین‌ها و فیبر هستند که می‌تواند تأثیر زیادی بر سلامت مصرف کننده داشته باشند، اما تحقیقات اخیر به نقش ویژه متابولیت‌های ثانویه گیاه مانند ترکیبات فنلی، فلاونوئید و غیره در افزایش مقاومت مصرف کننده به بیماری‌ها پرداخته‌اند (Art et al., 2005; Geneva et al., 2009). همه این ترکیبات با وجود ساختمان متنوع و وسیع، دارای یک حلقه آروماتیک و یک یا بیشتر گروه‌های کربوکسیل هستند (Rice- Evans et al., 1997). گیاهان دارویی به دلیل داشتن این ترکیبات از اهمیت خاصی برخوردار هستند. به‌لیمو گیاهی است دارویی با نام علمی *Lippia citriodora* از خانواده‌ی شاه‌پسند (*Verbenaceae*)، درختچه‌ای به ارتفاع ۱/۵ تا ۲ متر است. این گیاه بومی آمریکای جنوبی است که دارای قدمت زیادی در درمان آسم، سرماخوردگی، نفخ شکم، اسهال، سوء هاضمه، بی‌خوابی و اضطراب است (Meshkatalsadat et al., 2010). اسانس به‌لیمو دارای ترکیبات مختلفی می‌باشد که عمده‌ترین آنها ژرانیال، میرسنون، ژرانیول و سیترونلول، ۱،۸- سینئول، نرال، لیمونن، بتا- کاربوفیلن، ایزومنتون، آلفا- برگاموتن و پارا- سیمن گزارش شده است (رضایی و جایمند، ۱۳۸۰; Mojab et al., 2002; Ali et al., 2008; Gomes et al., 2006; Argyropoulou et al., 2007). تغذیه گیاه تأثیر بسیار مهمی بر عملکرد، اجزای عملکرد، میزان و کیفیت ترکیبات مواد مؤثره گیاهان دارویی دارد (Aziz et al., 2010; امید بیگی، ۱۳۸۸). بطوریکه استفاده از کودهای شیمیایی و آلی سبب افزایش کمیت و کیفیت این ترکیبات در گیاهان دارویی شده است. تمام عناصر غذایی مورد نیاز گیاه هر کدام وظیفه خاصی در گیاه داشته و نمی‌توان آن را با یک عنصر دیگر جایگزین کرد (Marschner, 1995). استفاده از کوددهی متعادل یا کوددهی بر مبنای تجزیه خاک می‌تواند یک راهکار علمی جهت تأمین به موقع و کافی عناصر برای گیاه مطرح گردد (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷). هدف اصلی در استفاده از مصرف متعادل کود علاوه بر افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان شامل افزایش درآمد کشاورزان، اصلاح مشکل کمبود ذاتی خاک، بهبود حاصلخیزی خاک، کاهش خسارت به محیط زیست و احیای حاصلخیزی و باروری اراضی نیز می‌باشد. لذا مفهوم کوددهی متعادل یک مفهوم ایستا نیست بلکه دینامیک می‌باشد که می‌تواند سنگ فرش مسیر رسیدن به کشاورزی پایدار باشد.

متاسفانه کشاورزان به دلیل افزایش عملکرد و به دنبال آن کسب درآمد بیشتر میل بیشتری به مصرف کودهایی نظیر نیتروژن و فسفر داشته و کمتر به کیفیت محصول و راهکارهای افزایش آن توجه می‌کنند که این می‌تواند علاوه بر کاهش کیفیت محصول به افزایش تجمع این دو عنصر در خاک نیز منجر شود (Zhao et al., 2006; Zhang et al., 2007). در بررسی عمده تحقیقات صورت گرفته در زمینه گیاهان دارویی در کشور مصرف کود نه تنها بر اساس تجزیه خاک نبوده بلکه عمده کودهای مصرفی صرفاً نیتروژن و فسفر بوده و سایر عناصر غذایی به خصوص پتاسیم و عناصر ریز مغذی به بوته فراموشی سپرده شده است (ملکوتی، ۱۳۹۳). مصرف بیش از حد کودهای نیتروژنه سبب حساس شدن گیاه به بیماری‌ها، آلودگی آب‌های زیر زمینی و بیماری مت هموگلوبینمیا در مصرف کننده می‌شود. بر اساس گزارش آزمایشگاه‌ها تجمع بیش از حد فسفر در خاکهای سطحی اراضی کشاورزی ایران رخ داده است. این موضوع بیانگر مصرف بیش از حد کودهای فسفاتی می‌باشد. برخی از عواقب مصرف بی‌رویه کودهای فسفاتی را می‌توان کاهش عملکرد ناشی از نسبت بالای فسفر به روی یا فسفر به آهن، تجمع بور، مولیبدن و کادمیم در بافت گیاهی اشاره کرد. همچنین، ورود ذرات خاک حاوی فسفر زیاد به دریاچه‌های آب شیرین پشت سدها باعث خودپروری (Eutrophication) و در نتیجه آلودگی دریاچه‌ها می‌گردد. لذا مصرف کودهای

فسفاتی می‌بایست بر اساس نتایج تجزیه خاک و نوع گیاه و سایر شرایط صورت پذیرد (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷). با توجه به اینکه ایران در منطقه خشک و نیمه خشک واقع شده است و عواملی نظیر کمبود ماده آلی، pH بالا (۸/۲–۷/۶) و بالا بودن کربنات آب آبیاری جذب عناصر غذایی و به خصوص عناصر کم مصرف را تحت تأثیر قرار می‌دهد. لذا در نظر گرفتن غلظت عناصر کم مصرف در برنامه کوددهی مهم می‌باشد. استفاده از عناصر کم مصرف سبب افزایش کارائی عناصر پر مصرف نیز می‌گردد (Malakouti, 2008). کوددهی بر مبنای نتایج تجزیه خاک با در نظر گرفتن غلظت تمام عناصر مورد نیاز گیاه با حد مطلوب و کمبود آن و دادن کود مورد نیاز، نقش پزشک را برای گیاه دارد. که این امر مهم امروزه در کشور نادیده گرفته شده است. مصرف کود فسفاتی در خاکهای آهکی سبب ایجاد رسوب فسفات کلسیم در خاک می‌گردد که این کودها دارای اثر باقی مانده می‌باشند به این معنی که چناچه عاملی بتواند آنها را حل نماید، شرایط جذب آنها توسط گیاه مجدداً فراهم می‌گردد، لذا استفاده از کودهای زیستی همراه با کودهای شیمیایی به دلیل قابلیت آنها در افزایش حلالیت عناصر می‌توانند به عنوان مکمل کودهای شیمیایی، پایداری تولید را در نظام‌های کشاورزی تضمین کنند (Vessy, 2003).Das و همکاران (۲۰۰۷) .

کودهای زیستی، ریزموجودات باکتریایی و قارچی هستند که علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن و محلول‌کردن فسفر خاک (به ویژه در مناطقی که کلسیم خاک بالا باشد)، با تولید مقادیر قابل ملاحظه‌ای هورمون‌های محرک رشد (عمدتاً انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکنین) بر رشد و نمو و عملکرد گیاهان زراعی همچنین، ویژگی‌های خاک تأثیر می‌گذارند (Zahir et al., 2004)، گزارش کردند که کود زیستی به تنهایی سبب افزایش عملکرد به میزان ۱۰/۸ درصد گردید؛ در حالی که مصرف کود زیستی به همراه کود شیمیایی سبب افزایش ۵۳/۲ درصدی عملکرد گیاه نسبت به تیمار شاهد گردید. در آزمایشی که به بررسی اثر مصرف کودهای زیستی (ازتوباکتر، آزوسپریلیوم و باسیلوس) به همراه کودهای شیمیایی (تنها نصف مقدار توصیه شده NPK) روی گیاه دارویی رازیانه صورت گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین ارتفاع گیاه، تعداد شاخه‌های گیاه، وزن‌تر و خشک هر گیاه در تیمار حاوی کود زیستی به همراه کود شیمیایی به دست آمد. همچنین، بیشترین عملکرد اسانس از تیمار کود زیستی به همراه نصف مقدار نیتروژن و فسفر حاصل شد (Mahfouz and sharaf - Eldin, 2007). با توجه به مطالب گفته شده در بالا یکی از راه کارهای مهم افزایش عملکرد و کیفیت اسانس در گیاهان دارویی استفاده از کوددهی بر مبنای تجزیه خاک می‌باشد. که می‌تواند سبب افزایش عملکرد اقتصادی نیز شود. همچنین، استفاده از کوددهی متعادل سبب کاهش آلودگی زیست محیطی می‌گردد. لذا در این تحقیق تأثیر کوددهی بر مبنای تجزیه خاک و کوددهی بر مبنای عرف زارع که شامل اوره و سوپرفسفات تریپل می‌باشد بر خصوصات کمی و کیفی به لیمو بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه‌های تحقیقاتی دانشگاه تربیت مدرس با میانگین دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد و به ابعاد ۴۰۰ مترمربع انجام شد. پس از ریشه‌دار نمودن و تهیه قلمه‌های نیمه‌خشبی، به منظور استقرار دائمی و کشت (با فواصل ۶۰ در ۵۰ سانتی‌متر) به کرت‌هایی با ابعاد ۱/۲۰ در ۳ متر به گلخانه مورد نظر منتقل شدند. قبل از کشت و به منظور تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، خاک محل اجرای طرح آنالیز گردید (جدول ۱). توصیه‌های کودی در این آزمایش با توجّه به حدود بحرانی عناصر در خاک صورت گرفت (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷). این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تیمار در سه تکرار به شرح; T_1: بدون کوددهی (شاهد)، T_2: کوددهی بر اساس عرف زارع (کوددهی سنتی)، T_3: کوددهی بر اساس نتایج تجزیه خاک (کوددهی متعادل)،

T_4: کود زیستی، T_5: کوددهی بر اساس عرف زارع + کود زیستی و T_6: کوددهی بر اساس نتایج تجزیه خاک + کود زیستی انجام شد. نوع و مقادیر کودهای مورد استفاده در تیمار عرف زارع، ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار سوپرفسفات تریپل و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره بود که سوپرفسفات تریپل در یک نوبت و به صورت اصلی و قبل از کشت و اوره در دو نوبت (نیمی همزمان با کشت به صورت اصلی و نیمی دیگر به صورت سرک دو ماه پس از کشت) به خاک اضافه شد. در تیمار مصرف متعادل کود، ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کلرید پتاسیم (نیمی به صورت اصلی در حین کشت و نیمی دیگر به صورت سرک سه ماه پس از کشت) و ۶ کیلوگرم در هکتار کلات آهن از منبع سکوسترین ۱۳۸ که در حین کشت به صورت خاکی به خاک اضافه شد. همچنین، در این تیمار ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره در سه نوبت (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به صورت اصلی در حین کشت و دو نوبت دیگر به صورت سرک دو و سه ماه پس از کشت) و ۲۰ کیلوگرم سولفات منگنز در هکتار و به صورت خاکی قبل از کشت به خاک اضافه شد. کود زیستی شامل نیتروکسین و فسفاتین (با توجّه به توصیه شرکت سازنده) به نسبت ۱ به ۵ با آب آبیاری مخلوط و با ریشه تلقیح شد. همچنین، در طول دوره رشد (۴۰ روز پس از رشد) به همراه آب آبیاری نیز مصرف شدند. برداشت گیاهان در دو مرحله (دو برداشت) و در مرحله تمام گُل صورت پذیرفت که فاصله دو برداشت از یکدیگر ۴ ماه بود. گیاهان برداشت شده برای خشک شدن به سایه و دمای معمولی منتقل شدند. خشک کردن به دور از هرگونه نور مستقیمی صورت گرفت. پس از گذشت ۲ هفته برگ‌ها با حداکثر دقّت از ساقه جدا شده و پس از ارزیابی وزن خشک، جهت انجام سایر آزمایش‌ها به آزمایشگاه منتقل شدند.

اندازه‌گیری غلظت عناصر غذایی در برگ

غلظت پتاسیم با استفاده از روش نشر شعله آبی و به کمک دستگاه فلیم‌فوتومتر و عناصر کم‌مصرف با روش هضم خشک و دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری میزان آنتی‌اکسیدان کل

۰/۲ گرم از برگ با نیتروژن مایع آسیاب و پس از افزودن ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد، مخلوط به شدت توسط دستگاه شیکر تکان داده شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداشته شد. سپس در دور ۱۰۵۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره حاصله را با ۹۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH (۵۰۰ میکرومولار در اتانول) مخلوط و به شدت توسط دستگاه شیکر تکان داده شد و بعد به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار گرفت و شاهد هم به همین صورت تهیه شد ولی با این تفاوت که به جای عصاره از آب مقطر استفاده گردید (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2007). میزان جذب از محلول به وسیله‌ی دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد.

جدول ۱. ویژگی خاک گلخانه مورد مطالعه

Table 1. Greenhouse soil properties studied

Mn	Cu	Fe	B	Zn	Mg	K	P	N	EC (dS/m)	pH	بافت Texture
					(mg/kg)						
2.16	0.75	0.95	2.12	2.08	720.00	134.80	23.16	600.00	1.70	7.40	لومی-شنی Loam sand

واکنش مخلوط بدون DPPH برای تصحیح ماده‌ی زمینه استفاده شد.

$$\text{درصد خاصیت آنتی اکسیدانی} = \left(1 - \frac{\text{عدد ضریب تصحیح} - \text{عدد نمونه}}{\text{عدد کنترل}}\right) \times 100$$

عدد ضریب تصحیح: عدد قرائت شده مربوط به مخلوط حاوی آب مقطر، عصاره

عدد نمونه: عدد قرائت شده مربوط به مخلوط حاوی عصاره، DPPH

عدد کنترل: عدد قرائت شده مربوط به مخلوط حاوی آب مقطر، DPPH

استخراج و آنالیز اسانس

کلیه نمونه‌ها به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر اسانس‌گیری و با استفاده از سولفات‌سدیم خشک آب‌گیری شدند. اسانس حاصل با روش تجزیه‌ی دستگاهی توسط دستگاه کروماتوگراف گازی و کروماتوگراف گازی متصّل به طیف‌نگار جرمی در مؤسسه جنگل‌ها و مراتع آنالیز گردید.

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

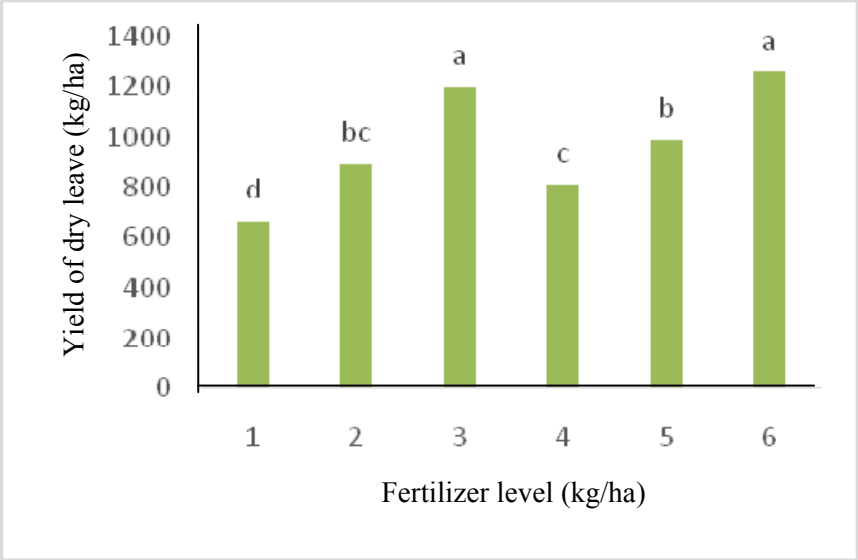
تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS، انجام شد. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح خطای ۵ درصد استفاده‌شد.

نتایج و بحث

اثر تیمارهای مختلف کودی بر عملکرد برگ خشک

با توجه به اهمیت اقتصادی عملکرد سالانه این گیاه از عملکرد هر برداشت اهمیت بیشتری دارد. با توجه به اینکه به طور متوسط در سال بسته به شرایطی مانند دما، نوع خاک و غیره تعداد دفعات برداشت بین دو تا سه مرتبه می‌باشد، به همین منظور در این پژوهش دو بار برداشت انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد که از نظر عملکرد برگ خشک تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف کودی در سطح ۵ درصد وجود دارد. میانگین عملکرد دو برداشت در تیمار شاهد با مقدار ۶۶۴ کیلوگرم در هکتار کمترین و در تیمار مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی با مقدار ۱۲۶۱ کیلوگرم در هکتار بیشترین مقدار به دست آمد. تیمار مصرف متعادل کود نسبت به تیمار کوددهی سنتی ۴۱ درصد عملکرد برگ خشک بیشتری داشت. استفاده از کود زیستی نیز سبب افزایش عملکرد ۲۲ درصدی نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۱). با توجه به

جدول نتایج تجزیه خاک (جدول ۱)، خاک مورد نظر دارای کمبود عناصر پتاسیم، آهن و منگنز می‌باشد که در تیمار کوددهی سنتی به دلیل مصرف کود اوره و سوپرفسفات تریپل، این عناصر نادیده گرفته شده و طبق قانون حداقل لیبیگ سبب محدود شدن رشد می‌گردد. عنصر نیتروژن نیز برای آن‌که بتواند در ساختار آلی گیاه قرار گیرد، باید در گیاه به فرم آمونیوم (احیا شدن) تبدیل گردد که این امر توسط یک سری از آنزیم‌ها (نیتروژناز، نیترات رداکتاز و غیره) صورت می‌گیرد. وجود عناصری مانند آهن، مس و مولیبدن جهت فعال شدن این آنزیم‌ها ضروری می‌باشد (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷). لذا به نظر عدم استفاده از این عناصر در تیمارهای شاهد و کوددهی عرف زارع دلیل دیگری بر افزایش عملکرد در تیمار مصرف متعادل کود نسبت به سایر تیمارها باشد. تأثیر کودهای زیستی بر عمکرد برگ خشک به‌لیمو احتمالاً ناشی از افزایش جذب عناصر غذایی، به‌ویژه فسفر و نیتروژن همچنین، تولید اسیدهای آلی و تأثیر آنها بر جذب عناصر کم مصرف باشد. با توجّه به نتایج تجزیه خاک میزان فسفر در خاک مورد مطالعه از حد بهینه خیلی بالاتر بوده و نیاز به دادن کود فسفره وجود ندارد. استفاده از کود فسفر در کوددهی سنتی که بدون توجّه به تجزیه خاک می‌باشد باعث افزایش غلظت فسفر در خاک شده که با توجّه به وجود رابطه آنتاگونیستی بین فسفر و عناصر کم مصرف (Marschner, 1995) احتمالاً می‌تواند یکی از دلایل افزایش ۳۴ درصدی عملکرد در تیمار مصرف متعادل کود + کود زیستی نسبت به این تیمار باشد. نتایج این تحقیق با مطالعه رحیم زاده و همکاران (۱۳۹۰) از نظر تأثیر مثبت کودهای شیمیایی بر افزایش عملکرد ماده خشک برگ مطابقت داشت.



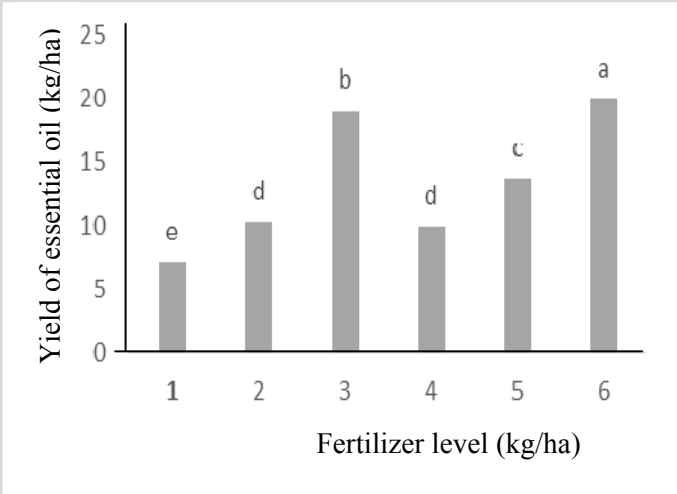
شکل ۱. اثر تیمارهای مختلف کودی بر میانگین عملکرد برگ خشک به لیمو در دو برداشت

شاهد (بدون کوددهی)، ۲- کوددهی سنتی (عرف زارع)، ۳- مصرف متعادل کود (کوددهی بر اساس نتایج تجزیه خاک)، ۴- کود زیستی، ۵- کوددهی سنتی (عرف زارع) همراه با کود زیستی، ۶- مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی

Figure 1. The effects of different fertilizer treatment on average yield of dry leave of lemon verbena in two time harvest. 1 = control (no fertilization); 2 = fertilization based on farmers conventional fertilizer use (NP); 3 = balanced fertilization (fertilizer recommendation on the basis of soil test); 4= T1+ bio- fertilizer; 5 = T2+ bio-fertilizer; 6= T3+ bio-fertilizer

اثر تیمارهای مختلف کودی بر میزان اسانس

نتایج نشان داد که تیمارهای مورد مطالعه از نظر میزان عملکرد اسانس در سطح ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار بودند. با توجه به نتایج میانگین عملکرد اسانس دو برداشت، تیمار مصرف متعادل کود + کود زیستی به میزان ۲۰ کیلوگرم در هکتار بیشترین و در تیمار شاهد به میزان ۷/۱۵ کیلوگرم در هکتار کمترین مقدار اسانس را داشتند. که نشان دهنده افزایش ۱۸۰ درصدی میزان اسانس در تیمار مصرف متعادل کود + کود زیستی نسبت به شاهد بود. تیمار مصرف متعادل کود نسبت به تیمار کوددهی سنتی ۸۴ درصد افزایش عملکرد اسانس داشت (شکل ۲). در تحقیقی روی گیاه رازیانه بیشترین درصد اسانس در تیمار کود زیستی به همراه کود شیمیایی به دست آمد (Kandeel et al., 2001). استفاده از کوددهی متعادل به دلیل افزایش عملکرد برگ خشک به‌لیمو در واحد سطح سبب افزایش عملکرد اسانس نیز می‌گردد. در گیاه Palmaroza استفاده از آهن و منگنز سبب افزایش محتوای اسانس گردید (Pareek et al., 1981). در حضور مقدار کافی نیتروژن و فسفر، افزودن روی از منبع سولفات روی سبب افزایش عملکرد اسانس گیاه *Palmaroza* گردید (Sharma et al., 1980). در رابطه با افزایش میزان اسانس می‌توان اظهار داشت که بهبود جذب عناصر نیتروژن و فسفر به دنبال کاربرد کودهای زیستی نسبت به شاهد، در میزان اسانس مؤثر بوده است. فسفر نقش مهمی در ساختار واحدهای سازنده اسانس‌ها یعنی ایزوپنتنیل پیروفسفات (IPP) و دی متیل آلیل پیروفسفات (DMAPP) دارد (Sangwan et al., 2001). حضور نیتروژن و آهن در ساختار کلروفیل و آنزیم‌های درگیر در متابولیسم کربن فتوسنتزی، موجب افزایش بازده فتوسنتزی شده و نقش کلیدی در افزایش میزان اسانس دارد (Niakan et al., 2004). باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق تثبیت ازت مولکولی، حلالیت فسفر نامحلول، افزایش دسترسی به عناصر غذایی در ناحیه ریزوسفر، توسعه سیستم ریشه‌ای و افزایش جذب یون‌ها و ترشح هورمون‌های رشد در مراحل مختلف رشدی باعث تحریک رشد گیاه می‌شوند و با تولید بیشتر مواد فتوسنتزی در افزایش تولید نقش مهمی دارند.



شکل ۲. اثر تیمارهای مختلف کودی بر میانگین عملکرد اسانس برگ خشک به لیمو در دو برداشت

شاهد (بدون کوددهی)، ۲- کوددهی سنتی (عرف زارع)، ۳- مصرف متعادل کود (کوددهی بر اساس نتایج تجزیه خاک)، ۴- کود زیستی، ۵- کوددهی سنتی (عرف زارع) همراه با کود زیستی، ۶- مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی

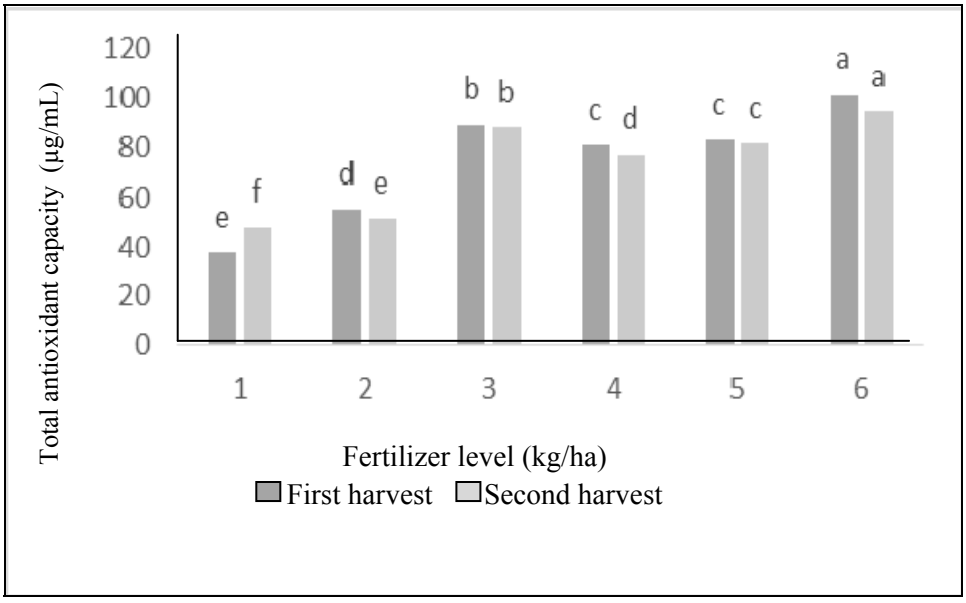
Figure 2. The effects of different fertilizer treatment on average yield of essential oil of lemon verbena in two-time harvest. 1 = control (no fertilization); 2 = fertilization based on farmers conventional fertilizer use (NP); 3 = balanced fertilization (fertilizer recommendation on the basis of soil test); 4= T1+ bio- fertilizer; 5 = T2+ bio-fertilizer; 6= T3+ bio-fertilizer

غلظت عناصر غذایی در برگ

مقایسه میانگین نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف کودی در میزان عناصر غذایی موجود در برگ آنها وجود داشت. در حالی که میانگین غلظت پتاسیم، آهن، روی و منگنز برداشت اول و دوم در تیمار شاهد به ترتیب ۱/۵۳، ۱۲۰/۵، ۱۳/۵ و ۱۰۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم برگ خشک بودند این مقادر در بهترین تیمار (مصرف بهینه کود همراه با کود زیستی) ۲/۳۴، ۳۲۷/۵، ۳۴ و ۱۴۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم برگ خشک به دست آمد.

بررسی میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی کل

با توجه به نتایج تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. بیشترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی و مصرف متعادل کود به دست آمد. تیمار کود زیستی در هر دو برداشت از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد داشت (شکل ۳). آنتی‌اکسیدانها شامل ویتامین‌های A، C و E و از عناصر فلزی روی (Zn)، سلنیم (Se) و به مقدار جزئی مس (Cu) و آهن (Fe) می‌باشند (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷). حضور عناصر کم مصرف در تیمارهای مصرف متعادل کود+ کود زیستی و مصرف متعادل کود می‌تواند سبب تفاوت تیمارها در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شود. مقایسه میزان آنتی‌اکسیدان به دست آمده با غلظت عناصر کم مصرف برگ نیز نشان می‌دهد که افزایش میزان آنتی‌اکسیدان رابطه مستقیمی با غلظت عناصر کم مصرف دارد. لذا به نظر می‌رسد که استفاده از کودهای حاوی عناصر کم مصرف در دو تیمار مصرف متعادل کود + کود زیستی و مصرف متعادل کود سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در این تیمارها شده است. همچنین، کودهای زیستی با تولید اسیدهای آلی و به دنبال آن افزایش حلالیت عناصر کم مصرف، موجب بیشتر شدن قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود.



شکل ۳. اثر تیمارهای مختلف کودی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل برگ خشک به لیمو در دو برداشت

شاهد (بدون کوددهی)، ۲- کوددهی سنتی (عرف زارع)، ۳- مصرف متعادل کود (کوددهی بر اساس نتایج تجزیه خاک)، ۴- کود زیستی، ۵- کوددهی سنتی (عرف زارع) همراه با کود زیستی، ۶- مصرف متعادل کود همراه با کود زیستی

Figure 3. The effects of different fertilizer treatment on Total antioxidant capacity of lemon verbena in two-time harvest. 1 = control (no fertilization); 2 = fertilization based on farmers conventional fertilizer use (NP); 3 = balanced fertilization (fertilizer recommendation on the basis of soil test); 4= T1+ bio- fertilizer; 5 = T2+ bio-fertilizer; 6= T3+ bio-fertilizer

جدول ۲. ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس به‌لیمو تیمارشده با کودهای زیستی و شیمیایی

Table 2. Essential oil constituents of lemon verbena treated with chemical and bio fertilizer

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری						
	Component	Inhibitory Index	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6
1	α-pinene	959	0.76	0.9	0.44	0.7	0.55	0.6
2	Sabinen	981	0.4	0.46	0.24	0.22	0.24	0.22
3	β-pinene	996	5.8	5.86	3	4.61	4.42	3.64
4	Limonene	1047	17	17.24	12.21	15.72	13.44	13.6
5	1,8-cineol	1055	11.56	10.55	6.58	9.45	7.05	6.91
6	Linalool	1111	0.67	0.46	0.35	0.4	0.81	0.38
7	Terpin-4-ol	1190	2.22	2.17	1.8	1.75	1.32	1.58
8	Neral	1255	17.56	18.9	22.13	20	19.01	22.89
9	Geranial	1277	22.96	22.29	27.77	25	23.1	29.38
10	Z-β-caryophyllene	1471	0.15	-	0.2	0.22	0.26	0.18
11	E- β-caryophyllene	1282	2.17	3.57	4.77	3.78	5.65	3.79
12	Allo-aromadendrene	1519	4	4.42	5.05	4.33	5.74	4.13
13	β –Guaiene	1538	0.55	0.33	1.1	0.19	1.15	0.72
14	Spathulenol	1648	2.42	2.62	2.61	2.59	2.79	1.99
15	Caryophyllene oxide	1659	3.12	2.72	3	4.29	4.2	2.91
	مجموع Total	-	91.33	92.5	91.25	93.28	89.72	92.9

بررسی خصوصیات کیفی اسانس گیاه به لیمو

در ارزیابی کیفیّت اسانس پس از آنالیز دستگاهی و تفسیر نتایج آن، تعداد ۱۵ ترکیب در اسانس به‌لیمو شناسایی شدند که در مجموع بیش از ۹۰ درصد از کل اجزا را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). ترکیبات با میزان حداکثر در تمام تیمارها شامل ژرانیال، نرال، لیمونن و ۸،۱- سینئول بودند. هر چند این چهار ترکیب دارای ارزش دارویی و صنعتی هستند، امّا نرال و ژانیال به عنوان ترکیبات اصلی دارای کاربرد گسترده‌ای در صنایع مختلف هستند و شاخص و ارزش دارویی و صنعتی این گیاه وابسته به این دو ترکیب است. بطور کلی، آنچه در رابطه با اجزای تشکیل دهنده یک اسانس دارای اهمیّت بوده و در واقع ارزش کیفی اسانس را تبیین می‌سازند، ترکیبات اصلی می‌باشند. ترکیبات اصلی در واقع بیشترین درصد اسانس را شامل می‌شوند. نرال و ژرانیال به عنوان طعم دهنده داروها همچنین، در صنایع عطر و اُدکلن‌سازی کاربرد فراوانی دارند (عبّاس‌زاده و همکاران، ۱۳۸۵؛ قنّادنیا و همکاران، ۱۳۹۰). از نظر مجموع این دو ترکیب به عنوان ترکیبات اصلی، تیمارهای شاهد و مصرف متعادل کود +کود زیستی به ترتیب با کسب مقادیر ۴۱/۲ درصد و ۵۲/۲۷ درصد، کمترین و بیشترین میزان را به خود اختصاص دادند. در قیاس با شاهد تأثیر نهاده‌های زیستی و شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش بر افزایش این ترکیبات مشهود بود. نتایج این پژوهش از نظر ترکیبات اصلی با سایر تحقیق‌ها (Zygadlo et al., 1994; Hanaa et al., 2008; Bellakhdar et al., 1993; Meshkatalsadat et al., 2010) مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش به خوبی نشان داد که استفاده بهینه از کودهای شیمیایی همراه با کودهای زیستی می‌تواند سبب افزایش عملکرد برگ خشک همچنین، عملکرد کمی و کیفی مواد مؤثره به‌لیمو شود. در این تحقیق تیمار مصرف متعادل کود + کود زیستی و تیمار مصرف متعادل کود در تمام پارامترهای مورد مطالعه از سایر تیمارها برتر بودند که می‌توان استفاده از آنها را در مزارع گیاهان دارویی کشور با توجه به جنبه اقتصادی این گیاهان توصیه کرد.

منابع

اُمیدبیگی، ر.. ۱۳۸۸. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات آستان قدس رضوی، جلد اول.

رحیم زاده، س.، سهرابی، ی.، حیدری، غ.، عیوضی، ع.، و حسینی، ط.، ۱۳۹۰. تأثیر کاربرد کودهای شیمیایی و زیستی بر عملکرد و درصد اسانس گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica L.*). فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، شماره ۱، صص ۹۶-۸۱.

رضایی، م.ب. و جایمند، ک.، ۱۳۸۰. بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس به‌لیمو (*lippia citrodora*). فصلنامهٔ پژوهش و سازندگی، ۵۳(۳):صص ۱۳-۱۵.

عبّاس‌زاده، ب.، شریفی عاشورآبادی، ا.، اردکانی، م.، لباسچی، م.ح.، صفی‌خانی، ف. و نادری حاجی‌باقرکندی، م.، ۱۳۸۵. بررسی تأثیر روش مصرف کود نیتروژن بر بازده و درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*) تحت شرایط مزرعه. *فصلنامهٔ علمی‌پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطّر ایران*، ۲۲(۳):صص ۲۲۳-۲۳۰.

قنّادنیا، م.، حدّاد، ر.، زرّین‌کمر، ف. و شریفی، م.، ۱۳۹۰. بیان متفاوت ژن لیمونن‌سینتاز در اندام‌ها و مراحل نموی زیره سبز (*Cuminum cyminum L.*). *فصلنامهٔ علمی‌پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطّر ایران*، ۲۷(۳): صص۴۹۵-۵۰۸.

ملکوتی، م. ج.، کشاورز، پ.، و کریمیان، ن.، ۱۳۸۷. روش جامع تشخیص و توصیه بهینه کود برای کشاورزی پایدار. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس تهران.

ملکوتی، م. ج.، ۱۳۹۳. توصیه بهینه مصرف کود برای محصولات کشاورزی در ایران. انتشارات مبلغان.

Arab- shahi- Delouee, S., and A., Urooj. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica L.*) leaves. Food Chemistry. 102 (4): 1233- 1240.

Arts, I. C. W., and P. C. H. Hollman. 2005. Polyphenols and disease risk in epidemiological studies. Am. J. Clin. Nutr. 81: 317S–325S.

Ali, H.F.M., H.S., El-Beltag, and N.F., Nasr. 2008. Assessment of volatile components, free radical-scavenging capacity and anti-microbial activity of Lemon Verbena leaves. Research Journal of Phytochemistry. 2(2): 84-92.

Argyropoulou, A., C. D., Daferera, P. A., Tarantilis, C., Fasseas, and M., Polissiou. 2007. Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* HBK (*Verbenaceae*) at two developmental stages. Biochemical Systematics and Ecology. 35: 831-837.

Aziz, E.E., A. Azza, E.zz., El-Din, and E.A., Omer. 2010. Influence of zinc and iron on plant growth and chemical constituents of *Cymbopogon citratus L.* grown in newly reclaimed land. Inter. J. of Acad. Res. 2(4): 278- 283.

Bellakhdar, J., Idrisi, A., Canigueral, S., Iglesias, J. and Vila, R., 1993. Analysis of the essential oil of the Odorant Vervain (*Lippia citriodora H.B.K*). Plantes Medicinales, Phytotherapie, 26: 269-273.

Das, K., D., Raman, T. N., Shivananda, and N. Sekeroglu. 2007. Comparative efficiency of bio and chemical fertilizers on nutrient contents and biomass yield in medicinal plant Stevia rebaudiana Bert. International Journal of Natural and Engineering Sceinces. 1: 35-39.

Geneva, M. P. 2010. Effects of foliar fertilization and arbuscular mycorrhizal colonization on *Salvia officinalis L.* growth, antioxidant capacity, and essential oil composition. Journal of the Science of Food and Agriculture 90(4): 696-702.

Gomes, P. S., H. C., Oliveira, A. S., Vicente, and M. F., Ferreira. 2006. Production transformation and essential oils composition of leaves and stems of Lemon Verbena (*Aloysia triphylla* (*L'Herit.*) Britton) grown in Portugal. Pl. Med, Botucatu. 8: 130-135.

Hanaa, F. A., S. E., Hossam, and, N. F., Nasr. 2008. Assessment of volatile components, free redical-scavenging capacity and anti-microbial activity of Lemon Verbena leaves. Research Journal of Phytochemistry. 2(2): 84-92.

Kandeel, Y. R., E. S., Nofal, F. A., Menesi, K. A., Reda, M., Taher and Z. T., Zaki. 2001. Effect of some cultural practices on growth and chemical composition of *Foeniculum vulgare Mill*. Proc. 5 th Arabian Hort. Conf. March 24-28, Ismailia, Egypt, Zagazig Univ

Malakouti, M. J. 2008. The Effect of Micronutrients in Ensuring Efficient Use of Macronutrients. Turk J Agric. 32: 215- 220.

Mahfouz, S., and M., Sharaf-Eldin. 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare Mill.*). International Agrophysics. 21: 361.

Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plant. Second ed., Academic Press. Harcourt Brace Company, Pub. Co. New York. 890 p.

Meshkatalsadat, M.H., A.H., Papzan, and A., Abdolhadi. 2010. Determination of bioactive volatile organic components of *Lippia citriodora* using ultrasonic assisted with headspace solid phase microextraction coupled with GC-MS. Journal of Nanomaterials and Biostructures. 6: 319-323

Mojab, F., A., Zarghi, M., Yamohammadi, and K., Javidnia. 2002. Essential oil of Lippia citriodora H. B. K. (*Verbenaceae*). Journal of Medicinal Plants. 1(4): 41-45.

Niakan, M., R. A., Khavarynejad, and M.B., Rezaee. 2004. Effect of different rates of N/P/K fertilizer on leaf fresh weight, dry weight, leaf area and oil content in *Mentha piperita L.* Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 20 (2): 131- 148.

Pareek S.K., B.B., Saxena, M.C., Maheshwari, and R., Gupta. 1981. Study of palmarosa oil grown for higher yield of oil and its quality under cultivation. Indian Perfumer. 25: 64-70.

Rice-Evans, C. A., N. J., Miller, and G., Paganga. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci. 2, 152– 159

36- Sangwan, N. S., A. H. A., Farooqi, F., Shabih, and R. S., Sangwan. 2001. Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regulation. 34: 3- 21.

Sharma S.N., A., Singh, and A., Tripathi. 1980. Response of palmarosa to nitrogen, phosphorus, potassium and Zinc. Ind. J Agron. 25: 719–723.

Shibamoto, T., 1987. Retention indices in essential oil analysis. In capillary gas chromatography in essential oil. Sandra, P. and Bicchi, C., (Eds), Heuthig Verlag, New York, 259-275.

Vessy, K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizars. Plant and Soil. 255: 571-586.

Zahir, A. Z., M., Arshad, and W. F., Frankenberger. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: Application and perspectives in agriculture. Adv Agron. 81: 97-168.

Zhang, F.S., Z.L., Cui, J.Q., Wang, C.J., Li, and X.P., Chen. 2007. Current status of soil and plant nutrient management in China and improvement strategies. Chin. Bull. Bot. 24: 687–694 (in Chinese with English abstract).

Zhao, R.F., X.P., Chen, F.S., Zhang, H.L., Zhang, J., Schroder, V., Römheld. 2006. Fertilization and nitrogen balance in a wheat–maize rotation system in North China. Agron. J. 98: 938–945.

Zygadlo, J. A., A. L., Lanarque, A. L., Maserti, D. M., Guzman, C. A., Lucini, E. L., Grosso, and L., ArizaEspinar. 1994. Volatile constituents of Aloysia triphylla (L'Herit) Britton. Journal of Essential Oil Research. 6(4): 407-409.

Effect of bio fertilizers on the yield and essential oil composition of Lemon Verbena (*Lippia citriodora*)

A.A. Zare[1], M.J. Malakouti[1], H. A. Bahrami[1]* and F. Sefidkon[2]

1- Department of Soil Sciences, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

***Corresponding Author:** Hosein Ali Bahrami
Email: *Bahramih@modares.ac.ir*

ABSTRACT

Introduction: Appropriate nutrient has a significant impact on yield and phytochemical characteristics of medicinal plants. (*Lippia citriodora*) an herb plant native to South America - belongs to mangrove family. In most studies conducted on medicinal plants in Iran, balanced fertilization has not been practiced and mostly N and P-fertilizers without being based on soil analysis results have been used and hence the obtained results were not correct. Use a balanced fertilization or fertilizer based on soil analysis can be a scientific solution to increase the essential oil.

Objective: To investigate the effects of balanced fertilization on quantity and quality parameters of lemon verbena in two harvests was done.

Materials and methods: In this experiment, six treatments were performed in a completely randomized block design and in three replications as follows: T_1 = control (no fertilization); T_2 = fertilization based on farmers conventional fertilizer use (NP); T_3 = balanced fertilization (fertilizer recommendation on the basis of soil test); T_4= T_1+ bio- fertilizer; T_5 = T_2+ bio-fertilizer and T_6= T_3+ bio-fertilizer. Soil samples were taken from greenhouse soil and physico-chemical characteristics were analyzed according to conventional methods practiced at the Soil and Water Research Institute of Iran. After six months, all operations, including top–dressing fertilization and irrigation, were regularly carried out and in late July and December of 2012; samples were taken at two- time intervals. The samples were weighed in dry content. Meanwhile, essential oil extractions were measured by Clevenger Instrument and total antioxidant extracted by DPPH method. Subsequently, data were analyzed by SAS software.

Results and discussion: The differences were shown significant at 5 percent statistical level. Average yield of dry leave weight and essential oil content in two harvests in control treatment were 664 and 7.15 $k.gha^{-1}$, respectively, these values in the best treatment were 1261 and 19.97 $kgha^{-1}$, respectively. The treatment of balanced fertilization + bio-fertilizer compared with other treatments has the highest amount of antioxidant properties in both harvest. Also, the highest concentration of potassium, iron, zinc and manganese in edible organs (Leaves) in both the yields was found in balanced fertilization + bio-fertilizer. Also results analysis of essential oil showed that percent of citral (neral+geranial) in essential oil of first harvest in control treatment were 40.51, these value in the, T_6 treatment were 52.25. Therefore, it can be concluded that balanced fertilization causes significant increase in the yield and the essential oil content of Lippia citriodora medicinal plant. So, it is suggested that in all research studies on the commercial production of medicinal plants, balanced fertilization should be seriously taken in to consideration. Furthermore, the application of bio-fertilizer should also be promoted for producing a healthy crop of medicinal plants.

Keywords: Balanced fertilization, Fertilization based on farmers conventional fertilizer use, Essential oil, Antioxidant