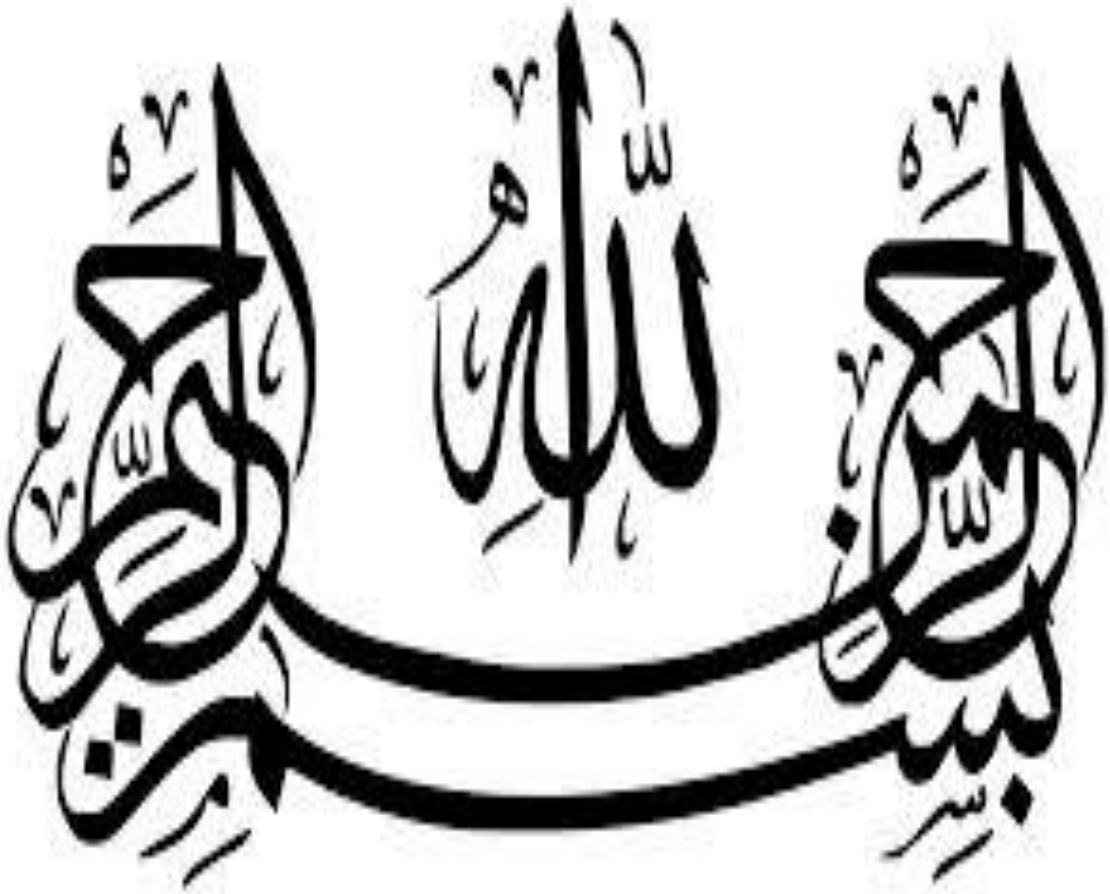

بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده: کشاورزی

گروه: زراعت

پایان نامه کارشناسی ارشد

بررسی اثر ورمی‌کمپوست، همزیستی میکوریزایی و ازتوباکتر بر روی عملکرد و اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita L.*)

محدثه محمودی

استاد راهنما:

دکتر احمد غلامی

استادان مشاور:

دکتر محمدرضا اردکانی، دکتر حمید عباسدخت

بهمن ۹۲

پیوست شماره ۲

دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده : کشاورزی
گروه : زراعت

پایان نامه کارشناسی ارشد خانم محدثه محمودی

تحت عنوان: بررسی اثر ورمی کمپوست، همزیستی مایکوریزایی و ازتوباکتر بر روی عملکرد و اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita L.*)

در تاریخ ۱۳۹۲/۱۱/۲۸ توسط کمیته تخصصی زیر جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد رساله مورد ارزیابی و با درجه عالی (۱۹/۵۰) مورد پذیرش قرار گرفت.

اساتید راهنما	امضاء	اساتید مشاور	امضاء
نام و نام خانوادگی : دکتر احمد غلامی		نام و نام خانوادگی : دکترمحمدرضا اردکانی	غلامی
نام و نام خانوادگی :		نام و نام خانوادگی : دکتر حمید عباسدخت	

اساتید داور	امضاء	نماینده تحصیلات تکمیلی	امضاء
نام و نام خانوادگی : دکتر منوچهر قلی پور		نام و نام خانوادگی : دکتر مجتبی ممرآبادی	
نام و نام خانوادگی : دکتر حسن مکاریان			
نام و نام خانوادگی :			
نام و نام خانوادگی :			

اگر این اثر را منزلی باشد آن را تقدیم می‌کنم به:

همسرم به کسی که به واقع بسان جویباری کوچک سنگ به سنگ راه را با من لمس کرد و در این وادی مرا تنها نگذاشت . . .

پدرم که نمی دانم از بزرگی اش بگویم یا مردانگی، سخاوت، سکوت، مهربانی و . . .

مادرم دریای بی کران فداکاری و عشق که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر . . .

و عزیزانی که دعای خیرشان بدرقه راهم بود

قدردانی و تشکر

اکنون که با استعانت از خداوند بزرگ به پایان راه نزدیک می‌شوم بر خود لازم می‌دانم که از همه کسانی که مرا در انجام این طرح یاری نموده‌اند تشکر نمایم. از دکتر احمد غلامی که در جایگاه استاد راهنما زحمات زیادی براشان بوجود آورده‌ام ولی ایشان در همه مراحل کمکم نموده‌اند. از آقای دکتر محمدرضا اردکانی که اگر مشورت‌های ایشان نبود این مهم بدست نمی‌آمد. از آقای دکتر حمید عباسدخت که استاد مشاور من در این پروژه بودند کمال تشکر را دارم.

از داوران ارجمند آقایان دکتر منوچهر قلی‌پور و دکتر حسن مکاریان و همچنین نماینده محترم تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر مجتبی ممرآبادی که موجبات بهبود پایان نامه را فراهم آوردند، تشکر و قدردانی می نمایم.

نهایت تشکر و قدردانی را از آقایان دکتر بهلول عباس‌زاده، مهندس سام‌دلیر و مهندس حسین‌پور می-نمایم که در این راه پر از فراز و نشیب یاری‌ام نمودند.

درپایان از همه کسانی که در انجام این پروژه بدون چشم‌داشتی یاری‌ام کرده‌اند به خصوص خانواده عزیز و دوستان گرامی‌ام کمال تشکر و قدردانی را دارم و برای همه این عزیزان از درگاه خداوند باری تعالی موفقیت و سلامت را آرزو می‌نمایم.

محدثه محمودی

بهمن ۹۲

تعهد نامه

اینجانب **محدثه محمودی جیرهنده** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته **زراعت** دانشکده **کشاورزی** دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه **بررسی اثر ورمی‌کمپوست، همزیستی میکوریزایی و ازتوباکتر بر روی عملکرد و اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita L*)** تحت راهنمائی **آقای دکتر احمد غلامی** متعهد می شوم .

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ ۱۳۹۲/۱۱/۲۸

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود .
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

*** متن این صفحه نیز باید در ابتدای نسخه های تکثیر شده پایان نامه وجود داشته باشد .**

چکیده

امروزه به دلیل مشخص شدن عوارض جانبی داروهای شیمیایی، رویکرد عمومی به مصرف داروهای گیاهی روز به روز درحال افزایش است. از طرفی استفاده از سیستم‌های زراعی کم‌نهاده و ابداع شیوه-های نوین مدیریت بهره‌برداری از منابع به منظور دستیابی به اهداف کشاورزی پایدار اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده و از همین رو، استفاده از کودهای زیستی به منظور کاهش مصرف کودهای شیمیایی و افزایش عملکرد گیاهان یک مسئله مهم در جهت حرکت به سمت کشاورزی پایدار می‌باشد. کودهای زیستی در حقیقت ترکیبی شامل انواع مختلف ریز موجودات آزادزی بوده که توانایی تبدیل عناصر غذایی اصلی از فرم غیرقابل دسترس به فرم قابل دسترس طی فرایندهای بیولوژیکی را دارا می‌باشند. این آزمایش به منظور بررسی اثر ورمی‌کمپوست، قارچ میکوریزا آرباسکولار و ازتوباکتر بر عملکرد و اسانس گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) بدون استفاده از کودهای شیمیایی به صورت اسپیلت پلات فاکتوریل بر پایه طرح بلوکهای کامل تصادفی با ۳ تکرار بر روی گیاه نعناع فلفلی صورت گرفت. تیمارهای مورد بررسی شامل ورمی‌کمپوست به عنوان فاکتور اصلی در ۳ سطح v_0(عدم‌مصرف ورمی‌کمپوست)، v_1(مصرف ۳ تن ورمی‌کمپوست در هکتار) و v_2(مصرف ۶ تن ورمی‌کمپوست در هکتار) و ترکیبات تیماری قارچ میکوریزا آرباسکولار و باکتری ازتوباکتر به عنوان فاکتورهای فرعی، که میکوریزا آرباسکولار در ۲ سطح m_0(عدم‌مصرف میکوریزا) و m_1(مصرف میکوریزا) و ازتوباکتر هم در دو سطح a_0(عدم‌مصرف ازتوباکتر) و a_1(مصرف ازتوباکتر) بودند، در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج در شهرستان ماهدشت انجام پذیرفت. نتایج آزمایش نشان داد که اثر ساده ورمی-کمپوست بر صفات کلونیزاسیون و درصد اسانس در سطح ۵٪ معنی‌دار شد. بررسی میانگین‌ها نشان می‌دهد که مصرف ۶ تن در هکتار ورمی‌کمپوست بهترین عملکرد را برای صفاتی که ورمی‌کمپوست برای آنها معنی‌دار بدست آمد داشته است که باعث افزایش ۲۲/۵۸ و ۱۹/۲۵ درصدی به ترتیب برای کلونیزاسیون و درصد اسانس نسبت به شاهد گردید. دلیل این امر را اینگونه می‌توان بیان کرد که ورمی کمپوست به دلیل بهبود خصوصیات میکروبی و بیولوژیکی محیط کشت و نیز تنظیم pH آن و افزایش معنی‌دار ظرفیت نگهداری آب باعث عملکرد بهتر گیاه می‌شود. اثر ساده قارچ میکوریزا آرباسکولار هم فقط برای صفت کلونیزاسیون در سطح ۱٪ معنی‌دار بدست آمد و باعث افزایش ۲۴/۱۹درصدی کلونیزاسیون نسبت به شاهد شد. باکتری ازتوباکتر هم برای مقدار منتون اسانس نعناع فلفلی در سطح ۵٪ معنی‌داری از خود نشان داد؛ ولی بر خلاف تصور باعث کاهش ۳۲/۴۷ درصدی منتون نسبت به شاهد گردید. اثرات متقابل میکوریزا آرباسکولار و ازتوباکتر و همچنین ورمی‌کمپوست و ازتوباکتر به ترتیب برای صفات کلونیزاسیون(در سطح ۱٪) و مقدار منتون اسانس نعناع فلفلی (در سطح ۵٪) معنی‌دار بدست شد.

واژگان کلیدی: ازتوباکتر، میکوریزا آرباسکولار، نعناع فلفلی و ورمی‌کمپوست.

مقالات استخراج شده از این پایان نامه

تاثیر کودهای زیستی بر برخی از صفات مورفولوژیک گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita L.*)

تاثیر کودهای زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita L.*)

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه ۱

فصل دوم: مروری بر پژوهش‌های پیشین ۲

۲-۱ تعریف گیاهان دارویی ۸

۲-۲ حقیقتاً چه گیاهانی دارویی هستند؟ ۸

۲-۳ تاریخچه ۹

۲-۴ گیاهشناسی ۹

۲-۴-۱ خانواده نعناع (*Lamiaceae*) ۹

۲-۴-۲ نعناع فلفلی (*Mentha Piperata L.*) ۱۱

۲-۵ نیازهای اکولوژیکی ۱۲

۲-۶ تناوب کشت ۱۳

۲-۷ مواد و عناصر غذایی مورد نیاز ۱۳

۲-۸ تارخ و فواصل کاشت ۱۴

۲-۹ روش تکثیر ۱۴

۲-۱۰ مراقبت و نگهداریی ۱۶

۲-۱۱ برداشت ۱۶

۲-۱۲ مواد موثره و اسانس گیاهان دارویی ۱۷

۲-۱۲-۱ مواد موثره ۱۸
۲-۱۲-۲ اسانس‌ها ۱۸
۲-۱۲-۳ تاریخچه اسانس‌ها ۱۸
۲-۱۲-۴ محل سنتز اسانس‌ها ۱۹
۲-۱۲-۵ ترکیب شیمیایی اسانس‌ها ۲۰
۲-۱۲-۶ ویژگی‌های تشخیصی اسانس‌ها ۲۱
۲-۱۲-۷ روش‌های استخراج اسانس‌ها ۲۲
۲-۱۲-۸ اسانس نعناع فلفلی ۲۲
۲-۱۳ موارد استفاده نعناع فلفلی ۲۴
۲-۱۳-۱ مصارف درمانی ۲۴
۲-۱۳-۲ رتبه‌بندی گیاهان دارویی براساس تعداد کل دارو ۲۵
۲-۱۳-۳ داروهای ساخته شده از اسانس نعناع فلفلی ۲۵
۲-۱۳-۴ مصارف غذایی و صنعتی ۲۶
۲-۱۳-۵ مصارف آرایشی و بهداشتی ۲۶
۲-۱۴ استفاده از کودهای زیستی بهترین راهکار در کشاورزی پایدار ۲۶
۲-۱۴-۱ طبقه‌بندی کودهای زیستی ۳۱
۲-۱۵ ورمی‌کمپوست ۳۱
۲-۱۵-۱ تاثیر ورمی‌کمپوست در افزایش رشد ۳۳

۲-۱۵-۲ اثرات ورمی‌کمپوست بر اسانس گیاهان دارویی ۳۵
۲-۱۶ میکوریزا آرباسکولار ۳۵
۲-۱۶-۱ تاثیر میکوریزا آرباسکولار بر روی رشد گیاه ۳۹
۲-۱۶-۱-۱ جذب آب ۳۹
۲-۱۶-۱-۲ جذب فسفر ۴۰
۲-۱۶-۱-۳ بالا بردن جذب عناصر غذایی ۴۰
۲-۱۶-۱-۴ جذب نیتروژن ۴۱
۲-۱۷ ازتوباکتر ۴۱
فصل سوم: مواد و روش‌ها ۴۴
۳-۱ زمان و مکان آزمایش ۴۵
۳-۱-۱ مشخصات آب و هوایی و نوع خاک محل آزمایش ۴۵
۳-۲ روش کار در مزرعه ۴۶
۳-۲-۱ تهیه زمین ۴۶
۳-۳ طرح آزمایش ۴۶
۳-۴ عملیات زراعی ۴۸
۳-۴-۱ کاشت ۴۸
۳-۴-۲ داشت ۴۸

۳-۴-۳ برداشت ۴۹
۳-۵ خشک کردن اندام‌های هوایی ۴۹
۳-۶ صفات اندازه‌گیری شده و روش اندازه‌گیری ۵۰
۳-۶-۱ ارتفاع بوته ۵۰
۳-۶-۲ کلروفیل ۵۰
۳-۶-۳ تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه ۵۰
۳-۶-۴ استخراج اسانس ۵۱
۳-۶-۵ تجزیه و اندازه‌گیری ترکیبات موجود در اسانس ۵۲
۳-۷ روش تجزیه و تحلیل داده‌ها ۵۳
فصل چهارم: نتایج و بحث ۵۴
۴-۱ ارتفاع ۵۵
۴-۲ وزن خشک اندام هوایی ۵۷
۴-۳ کلونیزاسیون ۵۸
۴-۴ کلروفیل ۶۱
۴-۵ درصد اسانس ۶۲
۴-۶ عملکرد اسانس ۶۶
۴-۷ منتول ۶۹
۴-۸ منتون ۷۰
نتیجه‌گیری ۷۲

پیشنهادات ۷۳
منابع ۷۴

فهرست جداول

جدول ۳-۱ آنالیز نمونه خاک مزرعه ۴۵
جدول ۳-۲ آنالیز نمونه ورمی‌کمپوست ۴۶
جدول ۴-۱ جدول تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک نعناع فلفلی ۵۵
جدول ۴-۲ جدول تجزیه واریانس صفات کیفی گیاه نعناع فلفلی ۶۳

فهرست شکل‌ها

۲-۱ مسیرهای اصلی بیوسنتز منوترپنهای نعناع فلفلی ۲۰

۲-۲ تاثیر عوامل محیط رویش بر تولیدات متابولیتی گیاهان دارویی ۲۱

۲-۳ نقش کودهای زیستی و آفت‌کش‌های زیستی در کشاورزی پایدار ۲۷

۲-۴ طبقه‌بندی کودهای زیستی ۳۱

۲-۵ برخی از مکانیسم‌های پیشنهادی شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی ورمی‌کمپوست. ۳۴

۲-۶ مراحل کلیدی در ارتباط با قارچ میکوریزا آرباسکولار، گیاه میزبان و پاتوژن ۳۸

۳-۱ نقشه طرح بعد از تصادفی کردن تیمارها ۴۷

۳-۲ دستگاه کلونجر ۵۲

۳-۳ (a) دستگاه GC مدل TRACE GC (b) دستگاه GC/MS مدل TRACE GC ۵۳

۴-۱ تاثیر سطوح مختلف ورمی‌کمپوست بر درصد کلونیزاسیون ریشه نعناع فلفلی ۵۹

۴-۲ تاثیر سطوح مختلف میکوریزا آرباسکولار بر درصد کلونیزاسیون ریشه نعناع فلفلی ۶۰

۴-۳ اثر متقابل میکوریزا آرباسکولار × ازتوباکتر بر درصد کلونیزاسیون ریشه نعناع فلفلی ۶۱

۴-۴ تاثیر سطوح مختلف ورمی‌کمپوست بر درصد اسانس نعناع فلفلی ۶۴

۴-۵ تاثیر سطوح مختلف میکوریزا آرباسکولار بر درصد اسانس نعناع فلفلی ۶۵

۴-۶ تاثیر سطوح مختلف ازتوباکتر بر درصد اسانس نعناع فلفلی ۶۵

۴-۷ تاثیر سطوح مختلف ورمی‌کمپوست بر عملکرد اسانس نعناع فلفلی ۶۷

۴-۸ تاثیر سطوح مختلف میکوریزا آرباسکولار بر عملکرد اسانس نعناع فلفلی ۶۷

۴-۹ تاثیر سطوح مختلف ازتوباکتر بر عملکرد اسانس نعناع فلفلی ۶۸

۴-۱۰ تاثیر سطوح مختلف ازتوباکتر بر مقدار منتون اسانس نعناع فلفلی ۷۰

۴-۱۱ اثر متقابل ورمی‌کمپوست× ازتوباکتر بر مقدار منتون اسانس نعناع فلفلی ۷۱

فصل اول

مقدمه

طبق برخی سنگ نوشته‌ها و شواهد دیگر، به نظر می‌رسد مصریان و چینیان در زمره نخستین اقوام بشری بوده باشند که بیش از ۲۷ قرن قبل از میلاد مسیح، از گیاهان به عنوان دارو استفاده کرده و حتی برخی از گیاهان را برای مصرف بیشتر در درمان دردها می‌کاشته‌اند (امید بیگی، ۱۳۷۵).

اولین نوشته‌ها که شامل جزئیات استفاده از گیاهان در درمان بیماری‌ها هستند در لوحه‌های گلی یافت شده و در منطقه بین النهرین (عراق امروزی) و پاپیروس مصری ثبت گردیده‌اند. اولین راهنمای گیاهی به ۵ هزار سال پیش و دوران سومریان بر می‌گردد که گیاهی مانند زیره و آویشن را برای سلامتی مصرف می‌کردند. قدیمی‌ترین شواهد نوشتاری در مورد استفاده پزشکی گیاهان در چین مجموعه نوشته‌ای مربوط به ۱۶۸ سال قبل از میلاد است (ضیائی، ۱۳۸۱).

مردم یونان باستان، خواص دارویی برخی از گیاهان را به خوبی می‌دانسته‌اند. بقراط حکیم بنیان‌گذار طب یونان باستان و شاگرد وی ارسطو و دیگران، برای استفاده از گیاهان در درمان بیماری‌ها ارزش زیادی قائل بوده‌اند. پس از آنها، یکی از شاگردان ارسطو به نام «تیوفراست» مکتب «درمان با گیاه» را بنیاد نهاد. پس از آن «دیوسکورید» در قرن اول میلادی، مجموعه‌ای از ۶۰۰ گیاه دارویی با ذکر خواص درمانی هر یک را تهیه و به صورت کتابی درآورد که این کتاب بعدها سرآغاز بسیاری از مطالعات در زمینه گیاهان مذکور گردید (امید بیگی، ۱۳۸۴).

در قرون هشتم تا دهم میلادی، دانشمندان ایرانی، ابوعلی سینا، محمد زکریای رازی و دیگران، به دانش « درمان با گیاهان» رونق زیادی دادند و گیاهان بیشتری را در این رابطه معرفی کردند و کتابهای معروفی چون «قانون» و «الحاوی» را به رشته تحریر درآوردند (امید بیگی، ۱۳۸۴).

پیشرفت اروپاییان در استفاده دارویی از گیاهان در قرن هفده و هجده ابعاد وسیعی یافت و از قرن نوزدهم کوشش‌هایی همه جانبه برای استخراج مواد موثره از گیاهان دارویی و تعیین معیارهای معینی برای تجویز و مصرف آن ها شروع شد. کوشش‌های آن زمان تا به امروز هم ادامه یافته و در حال حاضر نیز با سرعت هرچه بیشتر به پیش می‌رود.

امروزه به دلیل مشخص شدن عوارض جانبی داروهای شیمیایی، رویکرد عمومی به مصرف داروهای گیاهی روز به روز درحال افزایش است. از طرفی استفاده از سیستمهای زراعی کم‌نهاده و ابداع شیوه-های نوین مدیریت بهره‌برداری از منابع به منظور دستیابی به اهداف کشاورزی پایدار اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده که استفاده از کودهای زیستی به منظور کاهش مصرف کودهای شیمیایی و افزایش عملکرد گیاهان یک مسئله مهم در جهت حرکت به سمت کشاورزی پایدار می‌باشد (عباس زاده، ۱۳۸۴).

کشاورزی اکولوژیک یک سیستم کشاورزی تلفیقی مبنی بر اصول اکولوژیکی بوده که در آن به کیفیت محصولات توجه ویژه‌ای می‌شود. نظام‌های کشاورزی اکولوژیک و کم نهاده می‌توانند به عنوان جایگزینی برای سیستم‌های رایج در نظر گرفته شده و باعث توسعه کشاورزی پایدار و حفظ سلامت محیط زیست گردند (والاس، ۲۰۰۱؛ پودیت، ۲۰۰۲؛ آرون، ۲۰۰۲).

استفاده از منابع زیستی در کشاورزی، دارای قدمت بسیار زیادی است و در گذشته نه چندان دور، تمام مواد غذایی مورد استفاده انسان با استفاده از چنین منابع ارزشمندی تولید می‌شدند. استفاده بهینه از منابع زیستی نه تنها دارای اثرات سودمندی بر خصوصیات خاک می‌باشد؛ بلکه از جنبه‌های اقتصادی، اجتماعی و زیست محیطی نیز مفید بوده و می‌تواند جایگزین مناسبی برای نهاده‌های شیمیایی باشد (دود، ۲۰۰۰؛ کندی و همکاران، ۲۰۰۴؛ گوسلینگ و همکاران،۲۰۰۶).

مصرف زیاد کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها مشکلات زیست‌محیطی گوناگونی از جمله اثر گلخانه‌ای، نازک شدن لایه ازن و اسیدی شدن آب‌ها را ایجاد کرده است. این مشکلات می‌توانند با استفاده آفت-کش‌ها و کودهای زیستی طبیعی، سودمند و سازگار با محیط زیست مهار شوند.

یکی از ارکان اساسی در کشاورزی پایدار استفاده از کودهای زیستی در اکوسیستم‌های زراعی با هدف حذف یا کاهش قابل ملاحظه در مصرف نهاده‌های شیمیایی است (شارما، ۲۰۰۲).کودهای زیستی در برخی موارد به عنوان جایگزین و در اکثر موارد به عنوان مکمل کودهای شیمیایی می‌توانند پایداری تولید نظام‌های کشاورزی را تضمین کنند (گوپتا و همکاران، ۱۹۹۵).

کودهای زیستی به عنوان جایگزین برای کودهای شیمیایی، به منظور افزایش حاصلخیزی خاک در تولید محصولات در کشاورزی پایدار مطرح می‌باشند (ویو و همکاران، ۲۰۰۵). کودهای زیستی در حقیقت ترکیبی شامل انواع مختلف ریز موجودات آزادزی بوده (وسی، ۲۰۰۳) که توانایی تبدیل عناصر غذایی اصلی از فرم غیرقابل دسترس به فرم قابل دسترس طی فرایندهای بیولوژیکی داشته و منجر به توسعه سیستم ریشه‌ای و جوانه زنی بهتر بذرها می‌گردند (رجندران، ۲۰۰۴).

استفاده از کودهای زیستی یکی از راهکارهای مؤثر در حفظ کیفیت مطلوب خاک محسوب می‌گردد که باعث افزایش واکنش‌های مفید بین گیاه و میکروارگانیسم‌ها در ریزوسفر شده و توان گیاه را برای جذب بیشتر عناصر غذایی افزایش می‌دهد (کوکالیس- بولر و همکاران، ۲۰۰۶). تفاوت کودهای زیستی با کودهای آلی و شیمیایی در این است که آنها به طور مستقیم هیچ عنصر غذایی را برای گیاه تأمین نمی‌کنند (هان، ۲۰۰۶).

اهمیت استفاده از کودهای بیولوژیک در تولید گیاهان دارویی نسبت به سایر محصولات زراعی بیشتر است، زیرا رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی در جهت بهبود کمیت و کیفیت ماده موثره با حفظ سلامت ترکیبات آن‌ها است. این مزایا حاصل حمایت از رشد و نمو گیاه بدون بهره‌گیری از نهاده‌های شیمیایی و با مصرف کودهای زیستی می‌باشد (خاوازی و همکاران ۱۳۸۴).
تمایل به تولید گیاهان دارویی و معطر و تقاضا برای محصولات طبیعی به خصوص در شرایط کشت اکولوژیک در جهان رو به افزایش می‌باشد (کاروبا و همکاران، ۲۰۰۲). کشت اکولوژیک گیاهان دارویی، کیفیت آن‌ها را تضمین کرده و احتمال اثرات منفی روی کیفیت دارویی و عملکرد آن‌ها را نیز کاهش می‌دهد (گریف و همکاران، ۲۰۰۳).

با توجه به اهمیت و نقش گیاهان دارویی، نکته حائز اهمیت در تولید و پرورش این گونه‌ها، افزایش تولید زیست‌توده آنها بدون کاربرد نهاده‌های شیمیایی اعم از کود یا سموم دفع آفات و علف‌های هرز می‌باشد (مکی زاده تفتی و همکاران ۱۳۹۱).

مطالعات سازمان بهداشت جهانی نشان می‌دهد که ۸۰٪ جمعیت جهان از جنبه پزشکی به گیاهان دارویی وابسته هستند. بر روی کره زمین بیش از ۷۵۰ هزار گونه گیاه گلدار وجود دارد، این در حالی است که تعداد گیاهان ثبت شده در حدود ۳۰۰ هزار گونه است. همچنین تعداد گیاهان دارویی بین ۳۰ تا ۷۵ هزار نوع متغییر می‌باشد. ولی سازمان بهداشت جهانی طی لیستی تعداد گیاهان دارویی را ۲۰ هزار نوع اعلام کرده است که در تمام جهان مصرف دارند (باسر، ۱۹۹۹).

تلاش ساکنان کشورهای فقیر و در حال توسعه به منظور بهبود سطح زندگی، نیاز بیشتر به غذا و دارو را مطرح می‌سازد. در این میان، کشور ما در ردیف کشورهایی قرار دارد که بالاترین میزان واردات و مصرف دارو را دارند. با توجه به این که ایران به دلیل دارا بودن اقلیم‌های بسیار متنوع، جزو مساعدترین مناطق رویش گیاهان و از جمله گیاهان دارویی به شمار می‌رود و خواستگاه بسیاری از آن‌ها بوده است (ایران یکی از هشت کشور دارای ذخایر ژنی گیاهان دارویی است) می‌توان این نیاز مبرم به دارو را به سمت استفاده‌ی بهینه از داروهای سنتی گیاهی و رواج فرهنگ استفاده از آن‌ها سوق داد. افزون بر این، در سطح جهانی نیز حرکت‌های فراگیری به منظور حفظ و احیاء گیاهان دارویی آغار شده است. به نظر می‌رسد حتی در صورتی که عملکرد این گیاهان در نتیجه‌ی استفاده از کودهای زیستی کمتر و برابر با عملکرد آن‌ها در نتیجه‌ی مصرف کودهای شیمیایی باشد، تولید این گیاهان با استفاده از نهاده‌های طبیعی مثل کودهای زیستی، راه حل مناسبی برای تولید داروهای گیاهی سالم باشد.

تنوع آب و هوا و شرایط اکولوژیک مختلف، باعث تنوع و غنای گیاهان دارویی در سراسر ایران شده است. لزوم تحقیق همه جانبه و بهره‌برداری صحیح از این گیاهان، به ویژه در زمانی که استفاده جهانی از گیاهان دارویی در صنایع دارویی، آرایشی، بهداشتی و غذایی چنان شتابی گرفته است که از ما، که با داشتن شخصیتهایی چون ابوعلی سینا از پیشگامان این علم بوده‌ایم پیشی گرفته است، بسیار ضروری است (برنامه راهبردی گیاهان دارویی، ۱۳۸۷).

این نکته که توسل به گیاهان دارویی همواره در طول تاریخ یکی از روش‌های موثر درمان بوده است، به خوبی روشن است (نادری،۱۳۸۰).

ما در این پژوهش در نظر داریم جایگزینی کودهای زیستی (ورمی کمپوست، میکوریزا آرباسکولار و ازتوباکتر) به جای کودهای شیمیایی را در کشت نعناع فلفلی بررسی کنیم. در مورد هر یک از این کودها در فصل بعد به تفصیل پرداخته خواهد شد.

فصل دوم

مروری بر

پژوهش های پیشین

۲-۱ تعریف گیاهان دارویی

گیاه دارویی به گیاهی گفته می‌شود که تمام آن و یا اجزایی از آن به صورت تازه، خشک شده یا فرآوری شده جهت تشخیص، درمان، پیشگیری، کمک به اعمال فیزیولوژیک و حفظ بهداشت انسان به کار می‌رود (برنامه راهبردی گیاهان دارویی، ۱۳۸۷).

۲-۲ حقیقتاً چه گیاهانی دارویی هستند؟

امروزه گیاهانی به عنوان گیاه دارویی شناخته می‌شوند که دارای صفات زیر باشند:

۱- در پیکر این گیاهان مواد خاصی ساخته و ذخیره می‌شود که این مواد دارای خواص متعددی هستند و از جمله می‌توانند به عنوان مواد موثره برای مداوای برخی از بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرند. مواد فعال مذکور در طی یک سلسه فرایندهای ویژه و پیچیده بیوشیمیایی، به مقدار بسیارکم- معمولاً کمتر از یک درصد وزن خشک گیاه- ساخته می‌شود و به متابولیت‌های ثانوی نیز معروفند.

۲-ممکن است اندام‌های خاصی چون: ریشه، ساقه، برگ ها، گل و . . . حاوی مواد موثره مورد نظر باشد. از این رو نمی‌توان تمام اندامهای گیاه مربوطه را منبع ماده دارویی مورد نظر دانست.

۳-معمولاً از اندام‌های مورد نظر به صورت تازه استفاده نمی‌شود. یعنی اندام‌های مورد نظر باید تحت تاثیر عملیات خاصی چون: تمیز شدن، هوا دهی، خشک گردیدن، تمیزشدن مجدد و ... قرار گیرند و پس از آن مورد استفاده واقع شوند.

۴-گیاهان دارویی حاوی مواد موثره، در مقایسه با عموم گیاهان مورد عمل در کشاورزی چون غلات و سبزی‌ها که به طور عام و روزمره مورد استفاده انسان قرار می‌گیرند، در موارد خاصی قابل استفاده‌اند. مثلاً نعناع که در صنایع دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد و حاوی اسانس است، به عنوان یکی از گیاهان عطری معرفی می‌شود و هم در صنایع غذایی از آن به عنوان ادویه مورد استفاده قرار می‌گیرد (امیدبیگی، ۱۳۷۹).

۲-۳ تاریخچه

نعناع فلفلی (*Mentha piperita L.*) در گذشته‌های دور توسط یونانیان، رومیان و مصریان به عنوان غذا و دارو استفاده می‌شد. از برگ‌ها، پیکره رویشی و اسانس این گیاه در اکثر فارماکوپه‌های معتبر به عنوان دارو یاد شده است (امیدبیگی، ۱۳۸۴). ولی گونه مورد استفاده اسپرمینت (نعناع قمی) بوده است (صالحی سورمقی، ۱۳۸۹). نعناع فلفلی در قرن ۱۸ میلادی به اروپاییان شناسانده شد. تصور می‌رود که نخستین گیاهان تیره نعناع از خاور دور (چین و ژاپن) و از راه کشورهای شمال آفریقا به انگلستان راه یافت (شولتس، ۱۳۸۰). در مورد منشأ این گیاه اختلاف نظرهایی وجود دارد. عده‌ای از گیاهشناسان، منشأ نعناع را آسیا و عده‌ای دیگر انگلیس می‌دانند. با وجود اینکه نعناع فلفلی در اغلب نواحی یافت می‌شود، ولی بیشترین انتشار آنها در منطقه مدیترانه است و امروزه در کشورهای مختلف جهان، متجاوز از هزار تن اسانس در سال، از این گیاه تهیه می‌شود و این خود درجهٔ اهمیت و توسعه کشت آن را در نقاط مختلف کره زمین نشان می‌دهد. اسانس نعناع در کشور انگلستان که به اسانس میچام موسوم است، بهترین نوع آن به حساب می آید (بهمنیار، ۱۳۸۹).

۲-۴ گیاهشناسی

۲-۴-۱ خانواده نعناع(*Lamiaceae*)

خانواده نعناع (***Lamiaceae***) یکی از بزرگترین تیره‌های گیاهی است، طبق بررسی‌های جدیدی که بعمل آمده، ۴۰۰۰ گونه گیاه از این خانواده وجود دارد که در ۲۰۰ جنس جای داده شده‌اند (زرگری، ۱۳۶۹). خانواده نعناع دارای پراکنش جهانی است (امیدبیگی، ۱۳۸۴) ولی بیشترین انتشار آنها در منطقه مدیترانه است (زرگری، ۱۳۶۹). از بین گیاهان دارویی تیره نعناع می‌توان به نعناع، بادرشبو، مرزه، مرزنگوش، مریم‌گلی و گل مکزیکی اشاره کرد (امیدبیگی، ۱۳۸۴). گیاهان متعلق به این تیره از نظر نیاهای اکولوژیکی و فرم زندگی، بسیار متفاوت می‌باشند، گیاهانی علفی، خشبی و یک‌ساله،

دوساله و یا چندساله با ساقه چهارگوش، با برگهای متقابل و صلیبی شکل. گیاهان تیره نعناع عموماً برگ‌های متقابل، گاهی ساقه آغوش و بندرت فراهم دارند (زرگری، ۱۳۶۹). گلها عموماً نامنظم و جام دارای دو لب پایین و بالاست (امید بیگی، ۱۳۸۴). گلها به صورت خوشه‌هایی که در نواحی فوقانی ساقه‌هایی که از زاویه بین برگ‌ها با ساقه خارج می‌شوند، قرار گرفته‌اند (امیدبیگی، ۱۳۸۴)، در انواع نادری از این گیاهان نیز گلها به صورت منفرد بر روی ساقه ظاهر می‌گردد (زرگری، ۱۳۶۹). جام گل این گیاهان معمولاً از گلبرگ‌های پیوسته به هم تشکیل یافته، که شامل لوله‌ای است که در انتها به ۵ لوب منقسم به ۲ لب منتهی می شود، لب فوقانی جام گل آنها که در واقع نیمه جام خلفی به حساب می‌آید، شامل ۲ لوب ولی لب تحتانی (نیمه جام قدامی) مرکب از ۳ لوب یا دندانه می‌باشد (زرگری، ۱۳۶۹). وجود خطوط برجسته روی کاسه گل و جام گل، کمک موثری در تشخیص این گیاهان می-نماید (آزادبخت، ۱۳۷۸). گیاهان این خانواده ۴ پرچم دارند که در خود یک مادگی ۲ برچه ای قرار داده‌اند. پرچم غالب گیاهان تیره نعناع دارای وضع خاص است بطوری که میله دوتای آنها بزرگتر و دوتای دیگر کوچک است. در بعضی از آنها مانند مریم‌گلی و رزماری نیز گل منحصراً دارای ۲ پرچم است. خامه مادگی این گیاهان که وضع متفاوت آن، بهترین وسیله رده‌بندی بعضی از گروه‌های این تیره می‌باشد، بر دو نوع است: یا منحصراً میله‌ای است که تخمدان را به کلاله مربوط می‌سازد و یا آنکه به درون تخمدان راه یافته، به قاعده آن ارتباط پیدا می‌کند که در این حالت ژینوبازیک نامیده می‌شود. میوه گیاهان تیره نعناع، ۴ فندقه‌ای و محتوی دانه‌های بدون آلبومن است و از مشخصات آن این است که معمولا محصور در کاسه گل باقی می ماند، بعضی از این گیاهان نیز ندرتاً ممکن است میوه‌ای به صورت شفت داشته باشند (زرگری، ۱۳۶۹).

۲-۴-۲ نعناع فلفلی(*Mentha piperata l*)

گیاه نعناع فلفلی دارای طبقه‌بندی زیر است:

Kingdom: Plants
Soubkingdom: Trachblota
Super Division: Spermatophyte
Division: Magnoliphyta
Class: Dicotylodones
Subclass: Gomopetales
Order: Lamiales
Family: Lamiaceae (Labiates)
Genus: Menthae
Species: *Mentha piperita* L.

نعناع فلفلی . *Mentha piperita L* و با نام عمومی *Peppermint*، یک گیاه علفی چندساله است که در رده‌بندی گیاهی از تیره *Lamiaceae* راسته *Lamialse* و رده *Rosidae* است گونه‌ای است هیبرید (بهمنیار، ۱۳۸۹)، علفی، پایا و دارای دو نوع ساقه خزنده و زیرزمینی دارد که از نوع اول آن در محل گره ها، دسته‌ای از ریشه‌های نابجا به درون زمین نفوذ کرده و از سمت مقابل آن شاخه‌ای قائم و کوچک خارج می‌شود که در نهایت به پیدایش پایه‌های جداگانه در فواصل مختلف ساقه خزنده و در محل پیدایش ریشه‌های نابجا منجر می‌گردد (زرگری، ۱۳۶۹). ارتفاع بوته ۵۰ تا ۶۰ سانتی‌متر است (فاستر، ۱۹۹۶). برگ‌های آن متقابل، بیضوی، نوک‌تیز، دندانه‌دار، کمی پوشیده از کرک، به درازای ۴ تا ۷ سانتیمتر و به عرض ۲ تا ۳ سانتیمتر است. ابعاد مذکور در شاخه‌های گلدار نیز همیشه کمتر از شاخه‌های عقیم است (زرگری، ۱۳۶۹). ساقه‌های این گیاه، چهارگوش و به ندرت قرمز مایل به بنفش یا مایل به ارغوانی است و در محل هر یک ازگره‌های آن دو برگ متقابل دیده می‌شود. گل-

های آن که در ماه‌های مرداد و شهریور ظاهر می‌گردند، رنگ گلی روشن و یا کم و بیش ارغوانی مایل به بنفش دارند و به تعداد زیاد نیز در مجاور یکدیگر به نحوی مجتمع می‌شوند که مجموعاً در قسمت انتهایی ساقه‌ها، به صورت سنبله‌هایی با شکل ظاهری بیضوی نوک تیز جلوه می‌کنند. برخی از شاخه-های این گیاه عقیم و عاری از گل باقی می‌ماند (زرگری، ۱۳۶۹). وجود منتول در گونه آکواتیکا که سبب طعم تندی در برگ‌های این گیاه می‌شود باعث معروف شدن این گیاه به نعناع فلفلی شده است (امیدبیگی، ۱۳۸۴).

۲-۵ نیازهای اکولوژیکی

نعناع را در اکثر نقاط می‌توان کشت کرد. اما مناطق خیلی سرد برای کشت این گیاه مناسب نیست. مواد و عناصر غذایی فراوان و آب کافی برای رویش نعناع، ضروری است. چنانچه سطح خاک از برف پوشیده شده باشد، اندام‌های زیرزمینی در ۱۷- درجه سانتیگراد زنده مانده و فعالیت بسیار خفیفی خواهند داشت. این اندام‌ها قادرند تا سرمای ۳۰- درجه سانتیگراد را هم برای مدت محدودی تحمل کنند. گیاه در ۲ تا ۳ درجه سانتیگراد شروع به رویش می‌نماید، ولی درجه حرارت مطلوب برای رویش نعناع ۱۰درجه سانتیگراد می‌باشد. در آغاز رشد گیاه و تشکیل ساقه‌ها و برگ‌های جوان، سرما مناسب نیست و ممکن است باعث خشک شدن آن شود. درجه حرارت مطلوب به منظور تسریع در رشد و نمو گیاه و همچنین افزایش تولید در اسانس، ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتیگراد است. بعضی از محققان معتقدند که هر چند در درجه حرارت‌های بالاتر (۲۲ تا ۲۵درجه سانتیگراد) مقدار تولید اسانس در گیاه افزایش می‌یابد، ولی در مقدار منتول اسانس تاثیر منفی داشته و باعث کاهش آن می‌گردد. نعناع گیاهی شب کوتاه است و کشت آن در شرایط روزبلند (از نظر تابش نور)، سبب افزایش محصول نعناع شده و در سنتز آن نیز تاثیر مثبت دارد. از این رو، همواره توصیه می‌شود این گیاه در دامنه جنوبی تپه‌ها کشت شود (امید بیگی، ۱۳۸۴؛ افلاطونی، ۲۰۰۵). مقدار اسانس تولید شده در پیکر رویشی نعناع، با مقدار رطوبت خاک رابطه مستقیم دارد؛ به همین دلیل برای تولید محصولی با کیفیت و کمیت مناسب،

رطوبت خاک در طول رویش باید معادل ۸۰٪ باشد. خاک مناسب برای کشت این گیاه، خاک لوم شنی حاوی مقدار زیادی مواد و ترکیبات هوموسی است. خاک‌های چرنوزیوم(خاک سیاه) و پیت با ساختمان مناسب و حاوی مواد و عناصر غذایی کافی، برای کشت نعناع مطلوب می‌باشد. pH خاک برای نعناع، بین ۵ تا ۸ مناسب است. باید از کشت نعناع در خاک های رسی و اشباع از آب و خاکهایی که pH آن‌ها بالاتر از ۸/۵ است، اجتناب نمود. به طور کلی، خاک‌های اسیدی و زهکشی شده، خاک-های مناسبی برای کشت نعناع می‌باشد (امیدبیگی، ۱۳۸۴).

۲-۶ تناوب کاشت

نعناع ۲ تا ۳ سال در یک مکان باقی می‌ماند. از این رو، تناوب کشت برای این گیاه مهم است. نعناع را باید با گیاهانی به تناوب کشت نمود که دوره رویشی کوتاهی داشته و مدت کوتاهی پس از کشت، برداشت شوند. به همین دلیل، غلات و گیاهان وجینی برای این کار مناسبند. پس از برداشت این گیاهان، بهتر است زمین برای مدتی به صورت آیش باقی بماند. پس از برداشت نعناع، گیاهانی را باید کشت نمود که باعث کاهش کیفیت خاک شوند. کشت نعناع را باید در زمین‌هایی که قابل آبیاری باشند، انجام داد. زیرا، کشت نعناع به صورت دیم در مناطق کم آب امکان پذیر نیست. چهار سال پس از برداشت نعناع می‌توان آن را دوباره در همان زمین کشت نمود (امیدبیگی، ۱۳۸۴).

۲-۷ مواد و عناصر غذایی موردنیاز

نعناع در طول رویش و تولید مواد موثره، به مقدار زیادی مواد و عناصر غذایی نیاز دارد. تحقیقات نشان می‌دهد که مقادیر مناسب ازت، به میزان قابل توجهی باعث افزایش اسانس نعناع می‌شود. برای تولید نعناع در سطوح وسیع، وجود عناصری نظیر فسفر و پتاس به مقدار کافی نیز ضروری است. در تابستان (برای کشت پاییزه) و در پاییز (برای کشت بهاره) ۲۰ تا ۳۰ تن کود دامی کاملاً پوسیده را به همراه ۵۰ تا ۹۰ کیلوگرم در هکتار اکسید فسفر و ۶۰ تا ۹۰ کیلوگرم در هکتار کود ازته به خاک اضافه می‌کنیم (امیدبیگی، ۱۳۸۴).

۲-۸ تاریخ و فواصل کاشت

نعناع فلفلی مانند هر گیاه دو رگ دیگر بذر تولید نمی‌کند و تکثیر آن رویشی و توسط استولون، گرفتن قلمه ساقه و یا جدا کردن پاجوش از گیاه مادری، انجام می‌گیرد. کشت و تکثیر نعناع از طریق اندامهای زیرزمینی را می‌توان در پاییز یا در بهار انجام داد. چون خاک در فصل پاییز از رطوبت کافی برخوردار است، تقریبا به آبیاری نیاز نیست. اوایل مهر ماه زمان مناسبی برای کشت نعناع است. گیاه پس از گذراندن دوره سرما، از اوایل بهار از رشد و نمو سریعی برخوردار می‌شود. مناسب‌ترین زمان برای کشت بهاره، اواسط بهار (اواخر اردیبهشت- اوایل خرداد) می‌باشد. برخی از محققان کشت بهاره را مناسب نمی‌دانند و معتقدند در این روش نه تنها رویش گیاه با تاخیر همراه است و در سال اول فقط یک بار می‌توان محصول را برداشت نمود، بلکه در کشت بهاره از اسانس گیاهان نیز کاسته می-شود. ولی برخی دیگر از آنان نشان داده‌اند که زمان کاشت، تاثیری در عملکرد پیکر رویشی و ماده موثره نعناع ندارد و هنگامی که کشت پاییزه در اثر نامساعد بودن شرایط آب و هوایی محل امکان‌پذیر نباشد، می‌توان از کشت بهاره بهره جست. در تکثیر از استولون، فاصله ردیف‌ها از یکدیگر ۵۰ تا ۶۰ سانتیمتر مناسب خواهد بود. عمق مطلوب برای کاشت استولون، ۱۰ تا ۱۲ سانتیمتر است. فاصله دو بوته در طول ردیف، ۲۰ تا ۳۰ سانتیمتر مناسب خواهد بود (امیدبیگی، ۱۳۸۴).

۲-۹ روش تکثیر

۱-تکثیر از طریق ریشه‌رست(استولون): استولون نوعی از ساقه است. این روش یکی از مناسب-ترین روش‌های تکثیر نعناع است و در اکثر کشورها مورد استفاده قرار می‌گیرد. پس از بارندگی یا آبیاری سبک، استولون‌هایی که حداقل دارای ۲ گره است را از پایه مادری ۲ تا ۳ ساله از زمین خارج

می‌کنند. پایه‌های انتخابی باید عاری از هرگونه عوامل بیماری‌زای قارچی یا باکتریایی و علف‌های هرز باشند. ریشه گیاهانی که برای تکثیر نعناع استفاده می‌شوند، باید دارای مشخصات زیر باشد:

الف) ریشه‌ها سالم و عاری از هرگونه علف‌هرز باشند.

ب) ریشه‌رستهایی که برای تکثیر نعناع از پایه مادری جدا می‌شوند، باید حداقل ۷۰٪ آن سفید و ۳۰٪ بقیه سبز رنگ باشد که هنگام کاشت، این قسمت سبز رنگ خارج از خاک می ماند.

ج) رطوبت ریشه‌رست‌ها از ۸۰٪ کمتر نباشد.

برای جلوگیری از سرمازدگی احتمالی ریشه بر روی آن‌ها به ضخامت ۱۰ تا ۱۵ سانتیمتر خاک ریخته می‌شود. با مساعد شدن شرایط آب و هوایی اقدام به کشت می‌شود. پس از کاشت، به منظور ایجاد تراکم در خاک، انجام غلطک مناسبی توصیه می‌گردد. اگر زمین خشک باشد، باید بلافاصله آن را آبیاری نمود. برای هر هکتار زمین، به ۱/۴ تا ۱/۶ تن ریشه‌رست نیاز است.

۲-تکثیر از طریق قلمه‌های ساقه: در زمان مناسب از شاخه‌های جوان سبز پایه مادری، ۲ تا ۳ قلمه که حداقل دو جفت برگ داشته باشند جدا می‌کنند. سپس آنها را در خزانه هوای آزاد که بستر آن از خاک نرمی پوشیده و در سایه قرار دارد می‌کارند. با آبیاری مرتب، قلمه‌ها پس از ۲ تا ۳ هفته دارای ریشه می‌شوند. سپس آنها را به زمین اصلی منتقل می‌کنند. تکثیر به روش قلمه‌های ساقه در سطوح کوچک کشت مورد استفاده قرار می‌گیرد.

۳-تکثیر از طریق پا جوش: فصل بهار پس از آبیاری گیاهان، از پایه‌های مادری، پا جوش‌هایی را که ارتفاع آنها بین ۸ تا ۱۰ سانتیمتر است، جدا می‌کنند. برای هر هکتار زمین به ۱۱۲ تا ۱۳۴ هزار پاجوش نیاز است (امید بیگی، ۱۳۸۴؛ افلاطونی، ۲۰۰۵).

۲-۱۰ مراقبت و نگهداری

مواد غذایی مناسب و آبیاری کافی و مبارزه با علفهای هرز در طول رویش گیاهان، ضروری است. برای توسعه سطح برگها، کاربرد مواد غذایی محلول به صورت محلول‌پاشی در سطح گیاهان توصیه می‌شود. مراحلی که گیاهان باید حتماً تحت آبیاری قرر گیرند، عبارتند از:

- در مرحله جوانه‌زنی.
- پس از تشکیل ساقه‌های جدید.
- پس از رویش گیاه وقتی که ارتفاع متوسط آنها به ۸ تا ۱۰ سانتیمتر رسید.
- پس از اولین برداشت محصول.
- پس از رویش مجدد گیاهان، هنگامی که ارتفاع متوسط آن به ۸ تا ۱۰ سانتیمتر می‌رسد.

مقدار آبیاری، به شرایط آب و هوایی و همچنین نوع خاک بستگی دارد. در هر مرحله، مقدار آبیاری نباید از ۴۰ تا ۶۰ میلی‌متر کمتر باشد. علفهای هرز در طول رویش ممکن است اختلالاتی در رشد نعناع ایجاد کنند، از این رو مباره با علفهای هرز به دو روش شیمیایی و مکانیکی، باید همواره مدنظر کشاورزان باشد. اوایل بهار، زمان مناسبی برای برداشت مکانیکی علف‌های هرز و برگرداندن خاک بین ردیف‌ها به منظور تهویه ریشه است (امیدبیگی، ۱۳۸۴).

۲-۱۱ برداشت

در سال، دو تا سه بار محصول نعناع را می‌توان برداشت کرد. روش و زمان برداشت، بستگی به چگونگی استفاده از اندامهای جمع آوری شده (استفاده از گیاه به عنوان نشاء یا برای استخراج اسانس) دارد. در اکثر کشورها نعناع را برای استخراج اسانس آن کشت می‌کنند از این رو مرحلهٔ گلدهی زمان مناسبی برای برداشت محصول (که دارای حداکثر مقدار اسانس است) می‌باشد. در ایران برداشت، در فصل رویش از خرداد ماه صورت می‌گیرد. درصورتی که نعناع در سطوح وسیعی کشت شده باشد،

برداشت اندامهای مورد نظر توسط ماشین انجام می‌شود. در این صورت گیاهان از فاصله ۴ تا ۵ سانتی‌متری از سطح زمین بریده می‌شود سپس برای مدتی روی زمین می‌مانند تا حدود ۲۵ تا ۴۰ درصد رطوبت آن تبخیر شود. البته در روش جدید، پس از برداشت، ابتدا گیاه را داخل جعبه‌هایی مخصوص می‌ریزند، سپس آن را مستقیماً به خشک‌کن‌ها انتقال داده و خشک می‌کند. محققان اظهار می‌دارند که تا پیش از خرداد نباید محصول را برداشت کرد، زیرا اسانس در این مرحله کیفیت چندان مطلوبی ندارد و حاوی مقدار خیلی زیادی منتون است. محققان همچنین معتقدند زمان مناسب برای نخستین برداشت آخر خرداد تا ۲۵ تیر، دومین مرحله ۱۰ مرداد تا ۱۵ مهر، سومین و آخرین مرحله برداشت تا ۱۵ آذر است. در این صورت، سالانه ۵۵ تا ۵۸ کیلوگرم اسانس از هر هکتار زمین برداشت می‌شود که ۶۶ درصد آن در نخستین مرحلهٔ برداشت به دست می‌آید. عملکرد سالانه وزن تر گیاه ۱۲ تا ۲۰ تن در هکتار است که از آن ۳۰ تا ۶۰ کیلوگرم اسانس استحصال می‌شود. در نخستین برداشت، مقدار محصول ۸ تا ۱۴ تن در هکتار وزن تر است که مقدار اسانس ۲ تا ۴ کیلوگرم به ازای هر تن می‌باشد. در دومین برداشت بازده پیکر رویشی و اسانس آن بسیار کمتر از مرحله نخست است؛ یعنی عملکرد وزن تازه گیاه ۴ تا ۸ تن در هکتار است که به ازای هر تن ۱ تا ۲ کیلوگرم اسانس استحصال می شود. چنانچه گیاهان را به منظور استفاده از پیکر رویش آن و به عنوان استفاده از سبزی یا ادویه کشت کنند، می‌توان ۳ تا ۴ بار در سال محصول را برداشت کرد. نخستین برداشت پیش از گلدهی انجام می‌گیرد و وزن خشک گیاه (برگ و ساقه) ۵/ ۲ تا ۳ تن در هکتار می‌شود (امیدبیگی، ۱۳۸۴).

۲-۱۲ مواد موثره و اسانس گیاهان دارویی

گیاهان دارویی مخازن غنی از متابولیت‌های ثانوی، یعنی مخازن مواد مؤثره اساسی بسیاری از داروها می‌باشند. با وجود این که بیوسنتز متابولیت‌های ثانوی به صورت ژنتیکی کنترل می‌شود، ولی ساخت آنها به شدت توسط عوامل محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (امیدبیگی، ۱۳۷۴؛ سینگ و همکاران، ۲۰۰۳). ازجمله عوامل مهمی که در میزان ترکیب‌های مؤثر گیاهان تأثیر داشته و می‌باید در هنگام

جمع‌آوری مورد توجه قرار گیرند، زمان برداشت است. در ضمن، اندام گیاه باید به میزان مناسب از روی گیاه برداشت شود تا به رشد گیاه صدمه وارد نشود (نیکخواه، ۱۳۸۷). خصوصیات فیزیکی، بیولوژیکی و شیمیایی خاک بر نحوه رشد و نمو و هم چنین میزان مواد موثره گیاهان تاثیر بسزایی دارد (امیدبیگی، ۱۳۸۴؛ امیدبیگی، ۱۳۷۳).

۲-۱۲-۱ مواد موثره

مواد موثره گیاهی به چهار گروه اصلی آلکالوییدها، گلیکوزیدها، روغن‌های فرار (اسانس‌ها) و سایر مواد موثره طبقه‌بندی می‌شوند (امید بیگی، ۱۳۸۴). گیاهان معطر بجز اسانس حاوی ترکیبهای دیگری از قبیل هورمون‌ها، ویتامین‌ها، آنتی بیوتیک نیز می‌باشند (جایمند، ۱۳۸۵).

۲-۱۲-۲ اسانس‌ها

اسانس‌ها ترکیبات معطری هستند که در اندام‌های مختلف گیاهان یافت می‌شوند. به علت تبخیر آنها در اثر مجاورت با هوا در حرارت عادی آنها را روغنهای اتری یا اسانس‌های روغنی می‌نامند. اسانس‌ها به طور کلی بیرنگ هستند، به خصوص هنگامی که تازه تهیه شده باشند، ولی در اثر مرور زمان به علت اکسیداسیون و رزینی شدن رنگ آنها تیره می‌گردد. برای جلوگیری از این تغییرات باید اسانس‌ها را در مکان خنک، خشک، ظرفهای سربسته از جنس شیشه نگهداری نمود (آینه‌چی، ۱۳۶۵).

۲-۱۲-۳ تاریخچه اسانس‌ها

استعمال اسانس‌ها به دوران باستان باز می‌گردد. به طوری که مصریان باستان ۴۵۰۰ سال قبل از میلاد مسیح از روغن‌های فرار که از گیاهان به دست می‌آمد برای انجام مناسک مذهبی، آیین‌ها و مداوای بیماران استفاده می‌کردند. نوشته‌هایی به دست آمده که نشان می‌دهند مصریان چهار قرن قبل از میلاد مسیح می‌دانستند چگونه اسانس‌ها را از گیاهان بدست آوردند. در واقع مصریان از اسانس‌ها برای مومیایی کردن فراعنه استفاده می‌کردند. این روش باعث می‌شد اجساد برای مدت حداقل ۳۰۰۰ سال حفظ شوند. اسانس اولین بار به روش خیساندن در روغن کرچک و روغن زیتون به دست آمد. ولی در قرن دهم میلادی ابوعلی سینا تهیه اسانس به روش تقطیر با آب را انجام داد. در

اواخر قرن دهم میلادی با کامل‌تر شدن روش‌های استخراج اسانس‌ها، برای اولین بار استخراج اسانس از گل رز به روش تقطیر انجام شد. در سال ۱۷۷۵ میلادی یک شیمیدان فرانسوی دستگاهی را طراحی کرد که به وسیله آن از کل گیاه اسانس به عمل می‌آمد. در نیمه دوم قرن نوزدهم میلادی اولین آزمایشگاه‌های شیمیایی ساخته و تولید اسانس مصنوعی آغاز شد. در اوایل قرن بیستم میلادی اطلاعات زیادی در مورد اسانس به دست‌آمد. در واقع اسانس هر گیاه شیره ذاتی و رکن اصلی و ارزشمند گیاه بوده و به منزله روح و قلب گیاه می‌باشد (گل مکانی، ۱۳۸۶).

۲-۱۲-۴ محل سنتز اسانس‌ها

اسانس‌ها بسته به نوع تیره‌های گیاهی ممکن است در اندامهای ترشحی مانند کرک‌های غده‌ای، سلول‌های پارانشیم تغییر یافته، لوله‌های اسانس به نام ویتا و در کانال‌های لیزوژن و در قسمتهای سطحی و درونی اندام‌های مختلف: برگ‌ها، گلها، میوه‌ها، جوانه‌ها و شاخه‌های گیاهان وجود داشته باشند. اسانس‌ها ممکن است مستقیماً توسط پروتوپلاسم به وسیله تجزیه مواد رزینی غشا سلول ها یا از هیدرولیز بعضی از گلوکزیدها حاصل‌شوند. در گیاهان تیره کاج اسانس‌ها ممکن است در تمام سلول‌ها وجود داشته باشند. در گل سرخ اسانس‌ها به مقدار قابل ملاحظه‌ای در گلبرگ-ها وجود دارند. وجود اسانس تنها در حدود ۲۰۰۰ گونه از ۲۵۰۰۰۰ گونه گیاه گلداری که تاکنون شناخته شده گزارش گردیده است. مهمترین گیاهان دارویی حاوی اسانس متعلق به خانواده‌های: نعناع، سداب، مورد، گشنیز، کاسنی، کاج، سرو و تعداد کمی از گیاهان خانواده‌های دیگر می‌باشند (امیدبیگی، ۱۳۷۹).

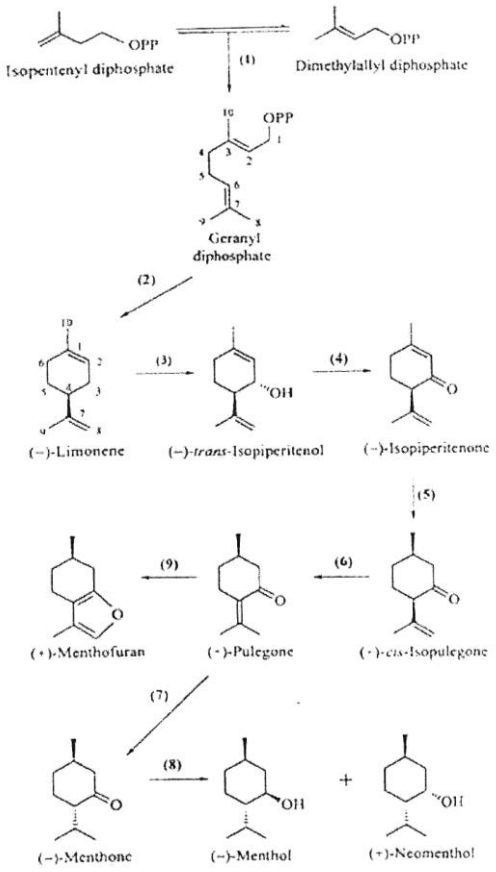
اسانس‌ها ممکن است دارای خاصیت دورکنندگی حشرات باشند و بدین وسیله از خراب شدن گلها و برگ‌ها جلوگیری کنند و یا ممکن است به عنوان جلب‌کننده حشرات باشند و بدین وسیله عمل گرده‌افشانی را تسهیل نمایند (امیدبیگی، ۱۳۷۹)

۲-۱۲-۵ ترکیب شیمیایی اسانس ها

اسانس‌ها از نظر شیمیایی ترپن هستند و یا منشأ ترپنی دارند (امیدبیگی،۱۳۸۴). در یک دسته‌بندی دیگر ترکیب شیمیایی اسانس‌ها را ممکن است براساس مبدأ و بیوسنتز آنها به دو طبقه تقسیم نمود:

۱-مشتقات ترپن‌ها که از طریق واکنش‌های استات-موالونیک اسید بوجود می‌آیند.

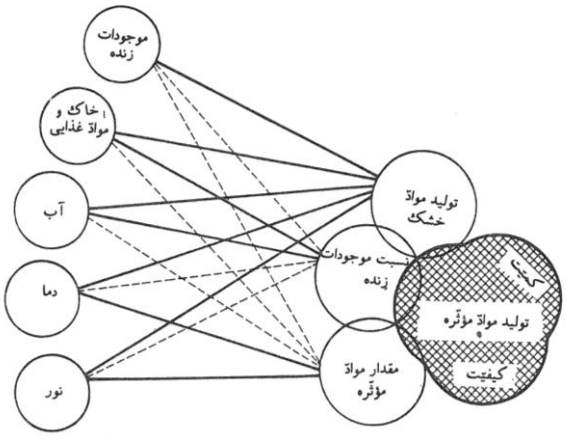
۲-ترکیبات عطری که از طریق اسید شی‌کیمیک و فنیل‌پروپانوئید ساخته می‌شوند.



شکل ۲-۱ مسیرهای اصلی بیوسنتز منوترپنهای نعناع فلفلی (افلاطونی، ۲۰۰۵)

اگرچه اسانس‌ها از نظر ترکیب شیمیایی با یکدیگر متفاوتند، ولی در بعضی از خواص فیزیکی مشترک می‌باشند. اسانس‌ها دارای بوی مشخص و ضریب شکست قوی و اکثراً روی نور پلاریزه موثر می‌باشند.

قدرت چرخش اسانس‌ها اغلب وسیله مناسبی جهت تشخیص آنها می‌باشد. به طور کلی، اسانس‌ها با آب غیر قابل اختلاط می‌باشند، ولی می‌توانند به اندازه کافی در آب حل شوند و بوی خود را به آن انتقال دهند. اسانس‌ها در اتر و الکل و اغلب حلالهای آلی محلول هستند. این ترکیبات معمولاً از بو و مزه تندی برخوردارند و وزن مخصوص آنها غالباً از آب کمتر است (آینه‌چی، ۱۳۶۵).



شکل ۲-۲ تاثیر عوامل محیط رویش بر تولیدات متابولیتی گیاهان دارویی (امیدبیگی، ۱۳۷۹)

۲-۱۲-۶ ویژگی‌های تشخیصی اسانس‌ها

مشخصاتی که جهت تفکیک و تشخیص اسانس‌ها و روغنهای ثابت وجود دارد عبارتند از: اسانس‌ها قابل تبخیر هستند و می‌توان آنها را از منبع طبیعی خود به وسیله تقطیر بدست آورد. بعلاوه اسانس‌ها فاقد ترکیب استرهای گلیسرول و اسیدهای چرب می‌باشند و از این رو تولید لکه روغنی ثابت روی کاغذ نمی‌نمایند و به وسیله قلیایی‌ها نیز صابونی نمی‌شوند. اسانس‌ها برخلاف روغنهای ثابت تند نشده ولی در اثر مجاورت با هوا اکسیده و رزینی می‌شوند.

عملاً تمام اسانس‌ها از مخلوط ترکیبات شیمیایی که اغلب بسیار مشکل می‌باشند، درست شده‌اند و ترکیب شیمیایی آنها نیز با یکدیگر کاملاً متفاوت است. به طور کلی، می‌توان انواع مواد شیمیایی را در ترکیب اسانس‌ها یافت (هیدروکربورها، الکلها، کتونها، آلدییدها، اترها، اکسیدها، استرها و غیره در آن-ها وجود دارد). اسانس فرار خردل نباید کمترا از ۹۳٪ آلیل لیزوتیوسیانات و اسانس میخک نباید کمتر از ۸۰٪ ترکیبات فنلی مانند اوژنول داشته باشد (آینه‌چی، ۱۳۶۵).

۲-۱۲-۷ روش‌های استخراج اسانس‌ها

اسانس‌ها را معمولاً از طریق تقطیر گیاهان اسانس‌دار تهیه می‌کنند و طریقه به کار برده شده بستگی به نوع و حالت مواد گیاهی دارد. در صنعت از سه طریق تقطیر جهت تهیه اسانس‌ها استفاده می‌شود: ا- آب ۲- آب و بخار ۳- بخار مستقیم(آینه چی، ۱۳۶۵).

۲-۱۲-۸ اسانس نعناع فلفلی

اسانس در تیره نعناع معمولاً در کرک‌های ترشحی یا در حجره‌های موجود در برگ ساخته و ذخیره می‌شود. برخی گونه‌ها یا فاقد اسانس هستند یا از مقادیر بسیار کمی اسانس برخوردارند. در اندام‌های مختلف گیاهان این تیره، به ندرت مواد تلخ پلی‌فنل و تانن مشاهده می‌شود. گیاهان تیره نعناع، فاقد آلکالویید هستند (امیدبیگی، ۱۳۸۴).

در ابتدای رویش نعناع اسانس، در پیکر رویشی ساخته و ذخیره می‌گردد. تعداد غده در برگهای کوچک کمتر و در برگهای بزرگ بیشتر می‌باشد. ساقه‌ها معمولا دارای اسانس بسیار کمی هستند (مافی و همکاران، ۲۰۰۴).

ازجمله ویژگی‌های تشریحی نعناع فلفلی، کرکهای ترشحی اسانس در آنها دارای پایه یک یا چند سلول منتهی به یک برجستگی چهار تا هشت سلولی و حتی بیشتر است. اسانس ترشح شده نیز معمولاً خارج از جدار سلولزی، در زیر کوتیکول جمع می‌شود و این خود باعث می‌شود که بشره در همان ناحیه کمی متورم جلوه کند. تعداد کل غده از حدود ۱۰۰ غده برای برگهای به طول ۲میلیمتر تا حدود ۷۵۰۰ غده برای برگهای ۲۵ میلیمتری نعناع فلفلی متغیر است. برگها ۲ تا ۷/ ۲ درصد و گلها ۴ تا ۶ درصد اسانس داشته و ساقه‌ها معمولاً فاقد اسانس هستند. به طور متوسط مقدار اسانس در اندامهای هوایی گیاه ۱ تا ۵/ ۱ درصد گزارش شده است (بهمنیار، ۱۳۸۹).

ترکیبات تشکیل دهنده اسانس به بیش از ۲۰ نوع می‌رسد که مهمترین آن‌ها منتول(۴۰ تا ۶۰٪) می-باشد. بیشترین درصد منتول، در اسانس استخراج شده از برگ‌های جوان وجود دارد. اسانس گلها مقدار کمتری منتول دارد و مهمترین ترکیب آن را منتوفوران (۱۰ تا ۱۲٪) تشکیل می‌دهد. از مواد دیگر اسانس نعناع، می‌توان از منتون (به مقدار ۱۵ تا ۲۵٪) پیپریتون (به مقدار ۱. تا ۱,۵٪) پولگگون (بیشتر در برگ های جوان وجود دارد) پینن، سابینن، سینئول و متیل‌استات نام برد. بر طبق گزارشات میزان منتول معیار اصلی برای تشخیص کیفیت اسانس نعناع فلفلی است (افلاطونی، ۲۰۰۵). شرط لازم برای داشتن اسانس با کیفیت مطلوب حداقل داشتن ۴۵٪ منتول، ۱۵-۱۸٪ منتون و ایزومنتول زیاد می‌باشد و ترکیبات نامطلوب مانند منتوفوران و پلی‌گونه کمتر از ۲ و ۴٪ باشد (صالحی سورمقی،۱۳۸۹).

مهمترین کشور تولید کننده نعناع آمریکا است. از کشورهای دیگر تولید کننده نعناع می‌توان از روسیه، بلغارستان، برزیل، ژاپن، فرانسه، آرژانتین و مجارستان نام برد (امیدبیگی، ۱۳۸۴). تولید جهانی اسانس نعناع فلفلی حدود ۸۰۰۰ تن در سال است (اکلس، ۱۹۹۴). پپرمینت محتوی ۱/۲ تا ۱/۵ درصد روغن‌های فرار است که ۳۰ تا ۷۰ درصد آن را منتول و استرهای منتول (آنونیموس، ۱۹۹۰) و بیش از ۴۰ ترکیب دیگر تشکیل می‌دهد. ترکیبات اصلی اسانس پپرمینت را ، منتول (۲۹ درصد)، منتون (۲۰ تا ۳۰ درصد) و متیل استات (۱ تا ۳ درصد) تشکیل می‌دهد. اسانس گیاه جهت مصارف دارویی از قسمت‌های هوایی گیاه در آغاز مرحله گلدهی و با روش تقطیر با بخار آب به دست می‌آید و به گونه‌ای استاندارد می‌شود که حاوی حداقل ۴۴درصد منتول، ۱۵ تا ۳۰ درصد منتون و ۵ درصد استر به علاوه انواع ترپنوییدها باشد. سایر ترکیباتی که در اسانس پپرمینت یافت می‌شوند، شامل فلاونویید(۱۲درصد)، پلی‌فنل‌های پلیمریزه شده (۱۹درصد)، ماروتن، توکوفرول، بتایین و کولین می-باشد (بلومنتال، ۱۹۹۸).

فاکتورهای محیطی مختلف از جمله میزان مواد غذایی موجود در خاک، شرایط اقلیمی منطقه کاشت (از جمله ارتفاع، دما و بارندگی) و زمان برداشت از جمله عوامل مهم تاثیرگذار روی میزان متابولیت-

های ثانویه گیاه می‌باشند. درجه حرارت مناسب به منظور تسریع در رشد و همچنین افزایش در تولید اسانس ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی گراد است و بعضی از محققان معتقدند که در درجه حرارت‌های بالاتر (۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی گراد) مقدار تولید اسانس در گیاه افزایش می‌یابد ولی میزان منتول اسانس کاهش می‌یابد (امید بیگی، ۱۳۷۴).

میزان اسانس سرشاخه این گیاه با توجه به شرایط متفاوت اقلیمی بین ۲/۵-۰/۱ درصد (لانگ و همکاران، ۱۹۹۶؛ زندانی و همکاران، ۲۰۰۲) و شامل منتول ۴۲-۲۸ درصد، منتون ۱۸-۲۸ درصد(لانگ و همکاران، ۱۹۹۶) ، منتوفوران ۸/۶ درصد و متیل استات ۳-۱۰ درصد است (مک کای و همکاران، ۲۰۰۶؛ اسمیت و همکاران، ۲۰۰۹، ترهان و همکاران، ۲۰۱۰). منتول و منتون اصلی‌ترین جزء اسانس بوده و خواص ضد میکروبی دارند (دای و همکاران، ۲۰۱۰؛ ترهان و همکاران، ۲۰۱۰). بر طبق استاندارد سازمان گیاه‌درمانی اروپا (ESCOP) ، مقدار منتول معیار اصلی در تعیین کیفیت اسانس نعناع فلفلی است (کومار و همکاران، ۲۰۰۴).

۲-۱۳ موارد استفاده نعناع فلفلی

۲-۱۳-۱ مصارف درمانی

در بیشتر دارونامه‌های چاپ شده به ویژه در دارونامه‌های اروپا و آمریکا، از میان گونه‌های نعناع فقط گونه نعناع فلفلی *Mentha piperita L.* را به سبب ترکیب منتول و آثارش روی علائم مشخصه تحریک‌پذیری روده، خنک‌کنندگی و تنفس دارای ارزش دارویی زیادی می‌دانند (صالحی سورمقی، ۱۳۸۹).

گیاه مذکور دارای اثرات ضدالتهاب، ضددرد، تب‌بر، ضدعفونی کننده، ضداسپاسم، ضدنفخ، خنک‌کننده و آنتی باکتریال قوی است (بهمنیار، ۱۳۸۹). نعناع فلفلی و به صورت اختصاصی‌تر اسانس آن کاربرد گسترده‌ای در طب دارد به صورت خلاصه می‌توان به خواصی از قبیل ضد درد، ضد

میکروب، ضد تهوع، ضد ویروس، ضد ورم، ضد اکسیدان، ضد خارش، ضد تب، خارج کننده سموم بدن و . . . اشاره کرد (صالحی سورمقی، ۱۳۸۶).

۲-۱۳-۲ رتبه‌بندی گیاهان دارویی براساس تعداد کل دارو

رتبه‌بندی گیاهان دارویی براساس تعداد کل دارو نشان می‌دهد که گیاه نعناع شامل گونه‌های نعناع فلفلی، نعناع اخضر(نعناع سبز) و پونه طبیعی با نام عمومی *Mentha* از جمله پرمصرف‌ترین گیاهانی هستند که در صنایع مختلف دارویی، غذایی و آرایشی و بهداشتی به کار می‌روند، آویشن نیز در رتبه بعدی قرار گرفته است (گل مکانی، ۱۳۸۶).

۲-۱۳-۳ داروهای ساخته شده از اسانس نعناع فلفلی

در حال حاضر در ایران از اسانس نعناع گونه *piperita* همراه دیگر گونه‌های گیاهی در ساخت داروهای گیاهی که در کشور به ثبت رسیده است، برای مثال قرص مکیدنی آلتادین (مورد استفاده در التهاب‌های مخاط گلو و دهان)، قرص‌های روکش دار آلیکوم (مورد استفاده در پایین آوردن فشار و چربی خون، تصلب شرایین، نفخ و بی اشتهایی)، گرانول پلانتاژل (مورد استفاده در اسهال‌های ساده)، قرص درگلیس (مورد استفاده در درمان زخم معده و زخم اثنی‌عشر، گاستریت و نفخ معده)، پودر کارامین (مورد استفاده در اختلال‌های هضم همراه نفخ)، شربت کاراوی میکسچر (مورد استفاده در دل درد نوزادان و اختلال‌های گوارشی در کودکان)، قرص مکیدنی ماسومنت (مورد استفاده در التهاب گلو در سرماخوردگی‌ها و سرفه)، قرص جویدنی مانت (مورد استفاده در اسپاسم‌های دستگاه گوارش، نفخ معده و به عنوان خوشبو کننده دهان)، ژل منتاژل (مورد استفاده در قارچ کچلی لای انگشتان پا و کشاله ران، ضدخارش و سوزش، گزیدگی‌ها و سوختگی‌های سطحی) استفاده می‌شود. بنابراین اسانس این گیاه می‌تواند به عنوان یک ماده ضدعفونی کننده در صنایع داروسازی و غذایی استفاده شود. مخلوطی از عصاره این گیاه، لیمو و مریم گلی به دست آمده که با تأثیر بر لنفوسیت های نوع T با ایدز مقابله می‌کند (بهمنیار، ۱۳۸۹).

۲-۱۳-۴ مصارف غذایی و صنعتی

مواد موثره نعناع برای ساختن آدامس به کار می‌رود، همچنین در صنعت شیرینی‌پزی، نوشابه‌سازی و در تهیه چاشنی‌های مختلف مورد استفاده قرار می گیرد (فاستر، ۱۹۹۰). نعناع فلفلی به دلیل خواص چاشنی و بادشکنی آن با دیگر گیاهانی که برای تولید چای استفاده می شوند در ارتباط است. از اسانس نعناع فلفلی برای تهیه آب‌های معطر یا محلول‌های الکلی نیز استفاده می شود. در اهواز کنار بسته‌های خرما شاخه‌ای از نعناع قرار می‌دهند که از کرم‌زدگی آن جلوگیری کند. اسانس نعناع را در شیرینی‌پزی برای ساخت و تهیه قرص نعناع به کار می‌برند که بسیار مطبوع و در عین حال ضدکرم روده است (بهمنیار، ۱۳۸۹).

۲-۱۳-۵ مصارف آرایشی و بهداشتی

منتول در ساخت خمیر دندان، محلول‌های زیبایی، عطرها بالاخص معطر ساختن سیگار و سیگارهای ترک اعتیاد مصرف دارد. از آن جا که منتول اسانس نعناع خاصیت ضدباکتریایی دارد، در تهیه محلول‌هایی برای شستشوی دهان و گلو کاربرد دارد (امید بیگی، ۱۳۸۴).

۲-۱۴ استفاده از کودهای زیستی بهترین راهکار در کشاورزی پایدار

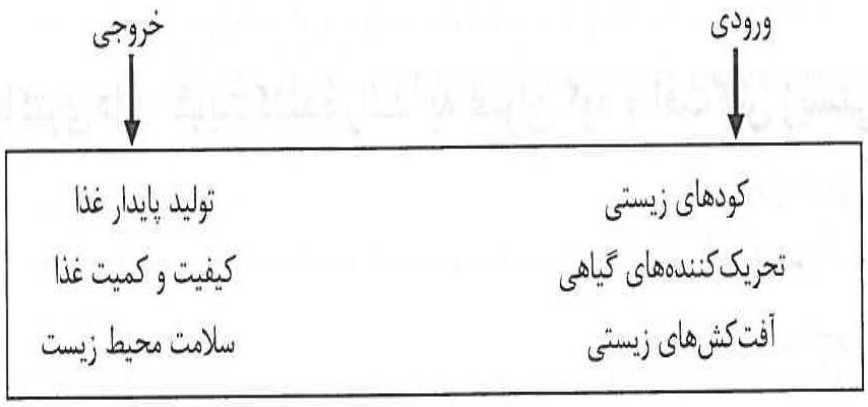
سلامت محصولات تولید شده در سیستم‌های مختلف از نظر وجود بقایای سموم و مواد شیمیایی و تاثیر آن‌ها بر سلامت انسان و محیط‌زیست، توجه ویژه‌ای را به روش‌های تولید نهاده‌های به کار رفته در امر تولید معطوف داشته است (گلایس مان، ۱۹۹۸).

پیامدهای کشاورزی رایج باعث توجه بیشتر به کشاورزی پایدار شده است. مهمترین عملیات و راهکارهایی که برای ایجاد پایداری در کشاورزی می توان انجام داد به طور مختصر به شرح زیر است (تالوکدار و جرمیدار، ۱۹۹۵):

- حداقلل خاکورزی یا سیستم‌های بدون خاکورزی
- کشت مخلوط
- استفاده از مالچ‌ها به خصوص مالچ‌های گیاهی و زنده

- تناوب زراعی مناسب
- تلفیق دام با زراعت
- مبارزه بیولوژیک یا مبارزه تلفیقی با آفات، بیماری‌ها و علف‌های هرز
- تغییر تارخ کاشت (به عنوان روشی برای به حداقل رساندن خسارت آفات و بیماری‌ها)
- استفاده از کودهای آلی
- استفاده از کودهای زیستی

مصرف زیاد کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها مشکلات زیست محیطی گوناگونی از جمله اثر گلخانه‌ای، نازک شدن لایه ازن و اسیدی شدن آب‌ها را ایجاد کرده است. این مشکلات می‌توانند با استفاده آفت-کش‌ها و کودهای زیستی طبیعی، سودمند و سازگار با محیط زیست مهار شوند.



شکل ۲-۳ نقش کودهای زیستی و آفت‌کش‌های زیستی در کشاورزی پایدار (صباحی و همکاران، ۱۳۸۰).

در اکثر نقاط دنیا از جمله کشور ما مصرف افراطی مواد شیمیایی برای دستیابی به عملکرد بالا در محصولات زراعی و میزان کمبود منابع باعث افزایش هزینه‌های تولید همراه با تخریب منابع خاکی، آبی و بیولوژیکی شده است. جدی بودن تخریب محیط‌زیست در اثر کاربرد روش‌های غلط موجب جلب توجه و علاقه‌مندی متخصصین به نظام‌های زراعی سالم و بادوام از نظر اکولوژیکی گردیده است،

به طوری که امروزه در اکثر محافل علمی صحبت از توسعه سیستم های پایدار کشاورزی به میان می-آید (اردکانی، ۱۳۸۰).

در خصوص عوامل موثر در برقراری پایداری در سیستم‌های زراعی، یکی از مهمترین مواردی که امروزه از جایگاه ویژه‌ای برخوردار گشته و تحقیقات زیادی نیز بر روی آن انجام می‌گیرد، استفاده از برخی میکروارگانیسم‌های مفید است که هم‌زیستی آن‌ها با گیاهان تامین کننده عناصر غذایی و رشد بهتر آن‌ها می‌باشد که اصطلاحاً به آن‌ها کودهای زیستی گفته می‌شود (اردکانی، ۱۳۸۰).

در مناطق خشک و نیمه خشک جهان از جمله ایران نه تنها برگشت مواد آلی به خاک کم است، بلکه به خاطر استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی و فعالیت شدید میکروارگانیسم‌ها تجزیه آن سریع‌تر می‌باشد. مقدار ماده آلی در بیش از ۶۰٪ خاک‌های زیر کشت ایران کمتر از ۱٪ و در بخش قابل توجهی از آن کمتر از ۰/۵٪ است. در چنین شرایطی گنجاندن کودهای زیستی در مدیریت عناصر غذایی بیش از پیش با اهمیت می‌نماید (جامی الاحمدی و همکاران، ۱۳۸۵).

رابطه متقابل کودهای زیستی و گیاهان میزبان می‌تواند منجر به دامنه‌ای از اثرات مثبت شود که این اثرات شامل افزایش رشد و نمو، مقاومت در برابر بیماری‌ها، بهبود بنیه گیاهان میزبان در برابر استرس‌های محیطی، تاخیر انداختن پیری برگ و ... می‌باشد (استورز و نوواک، ۲۰۰۰؛ لاکی و همکاران، ۲۰۰۲). کودهای زیستی در کنترل بیولوژیک بیماریهای گیاهی نیز نقش مفیدی دارند، به طوری که گزارش شده است که برخی از سویه‌های ازتوباکتر با سنتز مواد آنتی‌بیوتیک و ضدقارچی رشد قارچ‌هایی مانند فوزاریوم و هلمنتوسپریوم را در شرایط آزمایشگاهی کنترل می‌کنند (کادر و همکاران، ۲۰۰۲؛ کندی و همکاران، ۲۰۰۴). کودهای زیستی، عناصر غذایی را برای گیاهان فراهم می‌سازند، بیماری‌های خاک‌زی را کنترل و ساختمان خاک را حفظ می‌کنند. استفاده از کودهای زیستی مانند ورمی‌کمپوست و میکروارگانیسم‌های بهبوددهنده رشد گیاه (گوست، ۱۹۹۸) یکی از راهکارهای مؤثر در حفظ کیفیت مطلوب خاک محسوب می‌گردد که باعث افزایش واکنش‌های مفید

بین گیاه و میکروارگانیسم‌ها در ریزوسفر شده و توان گیاه را برای جذب بیشتر عناصر غذایی افزایش می‌دهد (کوکالیس- بولر، ۲۰۰۶).

باکتریهای ریزوسفری محرک رشد گیاه، کودهای زیستی مؤثر در افزایش عملکرد گیاهان محسوب می‌شوند که از طریق سازوکارهای مختلف مانند تولید فیتوهورمون‌ها، افزایش تحرک و قابلیت جذب عناصر، تثبیت بیولوژیک نیتروژن مولکولی و ... رشد و عملکرد گیاه را افزایش می‌دهند (وسی، ۲۰۰۳). همچنین نتایج بسیاری از تحقیقات نشان داده‌اند که تحمل گیاهانی که کود آلی دریافت کرده‌اند نسبت به تنش رطوبتی و حمله آفات و بیماری‌ها بیشتر از گیاهانی بوده که کود شیمیایی دریافت کرده اند (کاپور، ۲۰۰۰).

کودهای زیستی تولیدی شامل انواع گوناگون از باکتری‌ها یا قارچهای زنده‌ای هستند که توانایی تثبیت بیولوژیکی نیتروژن یا حل کردن و افزایش جذب فسفات موجود در خاک را دارند (وسی، ۲۰۰۴؛ ساحو و همکاران، ۲۰۰۰؛ نارولا و همکاران، ۲۰۰۰).

از دیگر نقش‌های مفید ریزجانداران خاکزی، می‌توان به تولید انواع هورمون‌های محرک رشد مانند اکسین‌ها، جیبرلین، سیتوکنین و اتیلن، همچنین به تولید اسیدهای آمینه مختلف، ویتامین‌ها و عوامل رشدی که ساختمان شیمیایی آن‌ها دقیقاً شناسایی نشده است، اشاره نمود (صالح راستین، ۱۳۸۴).

بررسی‌ها نشان داده است که استفاده از باکتری‌های آزادزی تثبیت کننده نیتروژن در خاک، علاوه بر رفع کمبود نیتروژن و بهبود حاصلخیزی خاک باعث افزایش عملکرد و همچنین کاهش آلودگی منابع آبی می‌شود (هانگریا و همکاران، ۱۹۹۷).

یک سیستم ریشه‌ای فعال، ترکیبات آلی را بطور منظم به محیط ریشه گیاه آزاد می‌کند. این ترکیبات سبب رشد و افزایش جامعه میکروبی خاک می‌شود. اهمیت جوامع میکروبی در یک اکوسیستم بدلیل نقشی است که در فرایندهای زیستی خاک که مرتبط با تولید و عملکرد گیاه است، ایفا می‌کنند (مندال و همکاران، ۲۰۰۷).

مصرف کودهای زیستی مانند ورمی‌کمپوست، میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات و ازتوباکتر در یک سیستم مبتنی بر کشت ارگانیک، ضمن حفظ سلامت محیط زیست، موجب افزایش کیفیت و پایداری عملکرد به ویژه در تولید گیاهان دارویی می‌شود (شارما، ۲۰۰۲). مدیریت کود یک عامل اصلی در کشت موفقیت‌آمیز گیاهان دارویی است (چاترجی، ۲۰۰۲).

در تولید گیاهان دارویی علاوه بر شرایط آب و هوایی، فاکتورها خاکی از اهمیت خاصی برخوردارند (قلی‌زاده، ۱۳۸۳؛ برنات، ۱۹۸۶). در بین فاکتورهای مربوط به خاک نقش عناصر غذایی اهمیت بیشتری دارند چرا که این عوامل به راحتی قابل تغییر بوده و می‌توان با تغییر آنها، تغییرات قابل توجهی در کمیت و کیفیت گیاهان دارویی ایجاد نمود (برنات، ۱۹۸۶).

تبریزی و همکاران (۱۳۸۷) اثر کودهای بیولوژیکی (میکوریزا، ازتوباکتر و آزوسپریلیوم، باکتری‌های حل‌کننده فسفات) را بر روی گیاه دارویی زوفا مطالعه و عنوان کردند که کودهای زیستی منجر به افزایش ارتفاع، قطر بوته، وزن تر و خشک بوته و عملکرد اسانس زوفا نسبت به شاهد شد.

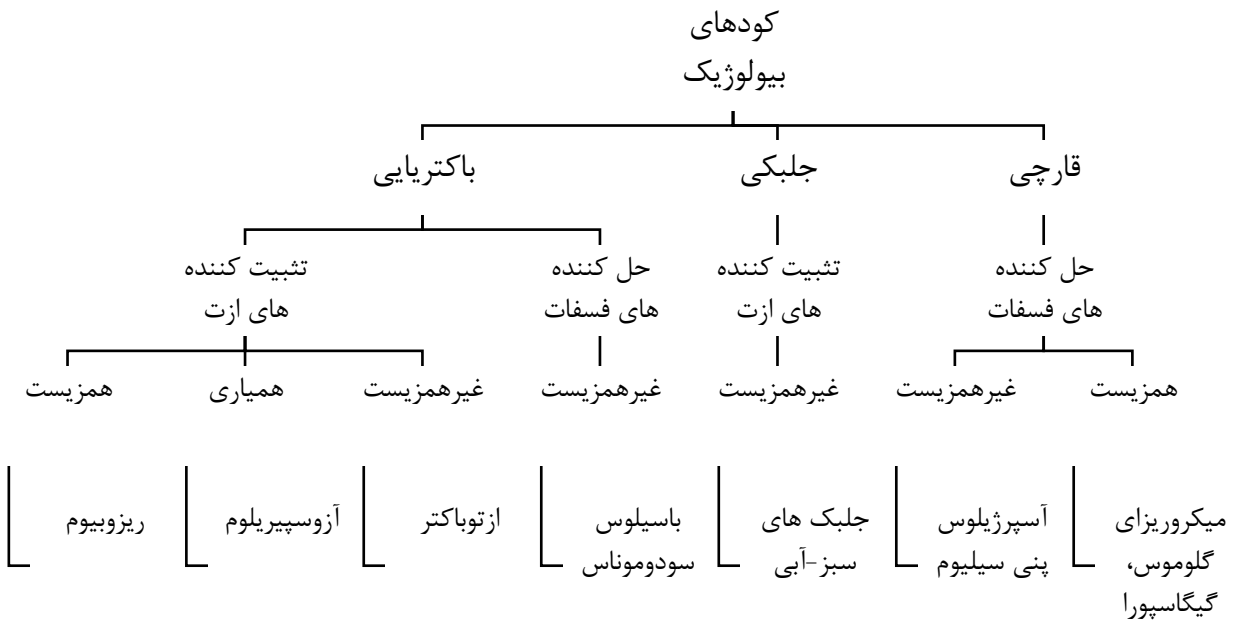
خرم‌دل(۱۳۸۷) بیان کرد که تلقیح سیاهدانه با کودهای بیولوژیک، ارتفاع بوته، تعداد کپسول در بوته، تعداد دانه در کپسول، وزن هزاردانه و عملکرد آن را به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار داد.

بدران و صفوات(۲۰۰۴) و سپس ال‌قدبان و همکاران (۲۰۰۶) نیز دریافتند که پاسخ رازیانه به کود زیستی به صورت افزایش رشد و عملکرد روغن و تغییر ترکیبات شیمیایی بروز می‌کند.

نیتروژن و فسفر مهم‌ترین عناصر محدودکننده رشد گیاهان به شمار می‌آیند (اسکات مانتال، ۱۹۹۸). اگرچه ممکن است خاک، مقدار زیادی از هر دو عنصر را داشته باشد، ولی همه آن مقدار برای گیاه قابل استفاده نباشد. بیشترین نیتروژن خاک در ترکیب با مواد آلی است. افزون بر این، پس از کوددهی، گیاه با ریزموجودات برای جذب نیتروژن محلول در دسترس رقابت می‌کند. مشکل فسفر متفاوت است. در خاک‌های اسیدی، حتی با افزودن مقدار قابل توجهی کود به خاک، فسفر با آهن و

آلومینیوم پیوند می‌خورد، این در حالی است که در خاک‌های قلیایی، فسفر به صورت فسفات کلسیم تثبیت می‌شود (هینگ سینگ، ۲۰۰۱).

۲-۱۴-۱ طبقه بندی کودهای زیستی:



شکل ۲-۴ طبقه‌بندی کودهای زیستی (شارما، ۲۰۰۳)

۲-۱۵ ورمی‌کمپوست

ورمی‌تکنولوژی یا ورمی‌فناوری عبارت است از فناوری پرورش کرم‌های خاکی با استفاده از فضولات، زباله‌ها، بقایا و ضایعات آلی و به کار بردن این کرم‌ها به جهت بهبود اکوسیستم‌ها و حفظ و بهبود حاصلخیزی خاک است (اسمایل، ۱۹۹۶).

ورمی‌کمپوست یکی دیگر از کودهای مناسب مورد استفاده در نظام کشاورزی پایدار می‌باشد. ورمی-کمپوست منبعی غنی از عناصر ماکرو، میکرو، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها و هورمون‌های محرک رشد گیاه است که سبب رشد زیاد و سریع گیاهان ازجمله گیاهان دارویی می‌گردد؛ همچنین قابلیت دسترسی به نیتروژن و فسفر را با افزایش تثبیت نیتروژن و محلول کردن فسفر افزایش می دهد (پرابا، ۲۰۰۷).

ورمی‌کمپوست شامل تولیداتی است که در اثر فعالیت کرم‌های خاکی در طیف وسیعی از مواد زائد آلی می‌باشد (ایوینش، ۲۰۱۱). در تعریفی دیگر ورمی‌کمپوست یک فرایند بیوتکنولوژی است که در آن کرم‌ها برای تبدیل مواد زائد آلی به هوموس به کار گرفته می‌شود. برخی از گونه‌های کرم خاکی قادر به مصرف طیف وسیعی از مواد زائد آلی از جمله لجن فاضلاب، مواد زائد حیوانی، باقی‌مانده‌های کشاورزی، زباله‌های داخلی و صنعتی هستند (یاداو و گراگ، ۲۰۱۱).

ورمی‌کمپوست حاصل یک فرایند نیمه‌هوازی است که طی تجزیه مشترک مواد آلی توسط کرم زباله یا کرم خاکی و میکروارگانیسم‌های خاکزی تولید می‌شود (حق‌پرست تنها، ۱۳۷۲؛ آتیه و همکاران ۲۰۰۰) کرم‌های خاکی با تکه‌تکه کردن مواد زاید، فعالیت میکروبی و تجزیه مواد آلی را افزایش می-دهند. بنابراین روی آن قسمت از مواد آلی که اکسایش یافته و تثبیت شده، سبب پدیده هوموسی شدن می‌شوند. در نتیجه این عمل مواد آلی دفعی از روده کرم، با مواد اولیه خود بسیار متفاوت است (مارتین و همکاران، ۱۹۹۷). گلن و همکاران (۱۹۹۲) بیان داشتند که استفاده از ورمی‌کمپوست یک راه جدید و مناسب برای تامین نیاز غذایی گیاه می‌باشد که علاوه بر آن کیفیت خاک را هم بهبود می‌بخشد. در هنگام استفاده از کرم خاکی حتی زه‌آب خروجی از بستر کرم دارای عناصر غذایی و فاکتورهای رشد بوده و می‌تواند ارزش تغذیه‌ای برای گیاه داشته باشد (محبوب خمامی، ۱۳۸۳). خاک‌های دارای ورمی‌کمپوست معمولاً نیتروژن، فسفر و پتاسیم بیشتری نسبت به خاک‌های اطراف خود دارند (محبوب خمامی، ۱۳۸۳). ورمی‌کمپوست غنی از هورمون‌های رشد و ویتامین‌ها بوده و به عنوان یک آفت‌کش قوی زیستی مطرح است (مارتین و همکاران، ۱۹۹۷). ورمی‌کمپوست از طرفی ظرفیت نگهداری رطوبت موجود در خاک را نیز افزایش می‌دهد و از آبشویی عناصر غذایی جلوگیری می‌کند (گالی و همکاران، ۱۹۹۰). از طرف دیگر ورمی‌کمپوست باعث بهبود ساختمان فیزیکی خاک و بهبود رشد ریشه گیاه می‌شود (داش و پترا، ۱۹۷۹). استفاده از ورمی کمپوست به عنوان کود آلی نمونه ای از توجه به سمت کشاورزی پایدار است (سوتار، ۲۰۱۰).

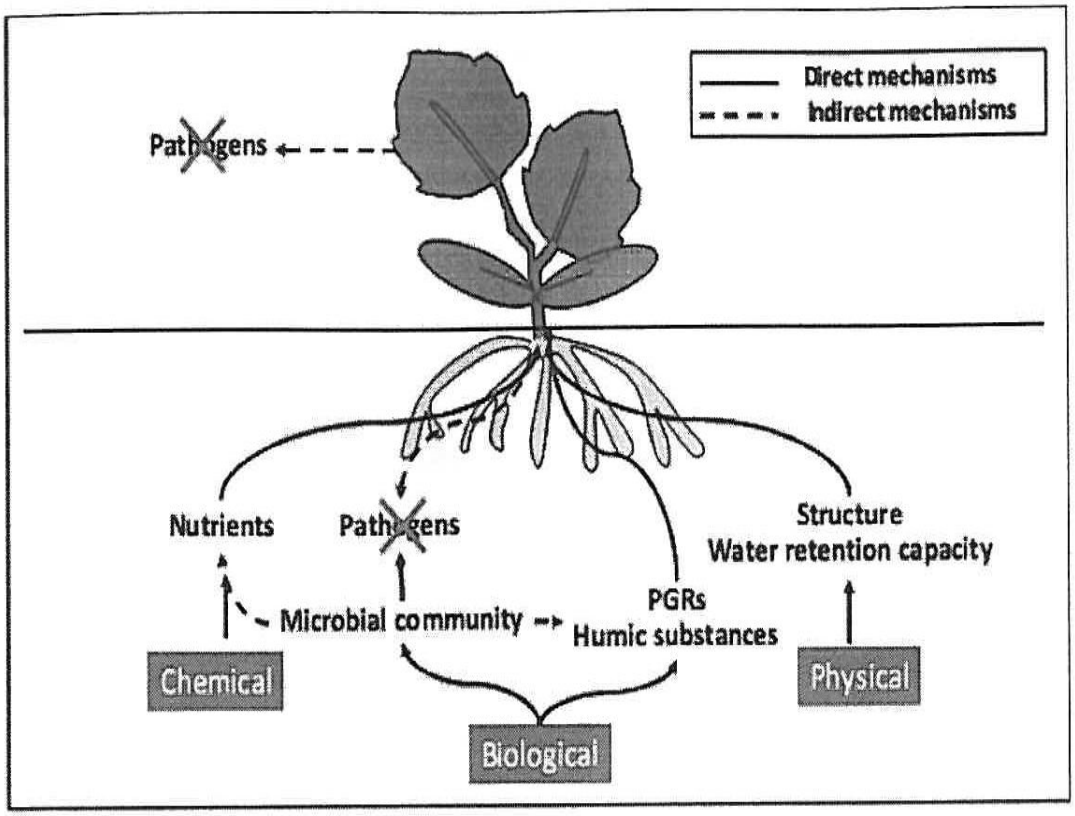
۲-۱۵-۱ تاثیر ورمی‌کمپوست در افزایش رشد

هیومیک اسید، فولیک اسید و سایر اسیدهای آلی که بوسیله میکروارگانیسم‌های موجود در ورمی-کمپوست تولید می‌شوند می‌توانند باعث افزایش رشد گیاه شوند (آرانکون و همکاران، ۲۰۰۷).

ورمی‌کمپوست به دلیل داشتن ماهیت آلی علاوه بر تامین بخشی از غذای گیاه، باعث آلودگی خاک نمی‌شود (سماوات و همکاران، ۱۳۸۰؛ کریمی و همکاران، ۱۳۷۸) در مورد اثرات مستقیم تأثیر ورمی-کمپوست بر رشد گیاه می‌توان گفت که ورمی‌کمپوست منبعی از مواد ماکرو و میکرو را برای گیاه تشکیل می‌دهد. اگرچه برخی از این مواد مغذی به شکل معدنی و به راحتی در دسترس گیاه هستند، اما بیشتر آن‌ها به تدریج و آهسته از طریق معدنی شدن مواد آلی را در اختیار گیاه قرار می‌دهند (چاویی، ۲۰۰۳).

ورمی‌کمپوست دارای تخلخل زیاد، قدرت جذب و نگهداری عناصر غذایی بالا، تهویه و زهکشی مناسب و ظرفیت نگهداری آب می‌باشد و استفاده از آن در کشاورزی پایدار، علاوه بر افزایش جمعیت و فعالیت ریزجانداران مفید خاک، در جهت فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه مفید می‌باشد (اکبری‌نیا و همکاران، ۱۳۸۲).

با افزایش سطوح کاربرد ورمی‌کمپوست در خاک، غلظت عناصر روی، مس و بور در خاک افزایش پیدا می‌کند (مامو و همکاران، ۱۹۹۸؛ موتاس و آروندا، ۲۰۰۳). طبق نتایج حاصل از آزمایشی در ترکیه، با کاربرد ورمی‌کمپوست در خاک، غلظت روی و مس قابل جذب خاک نسبت به شاهد افزایش معنی-داری پیدا کرد (ریدوان، ۲۰۰۴).



شکل ۲-۵ برخی از مکانیسم‌های پیشنهادی شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی که ورمی‌کمپوست ممکن است به طور مستقیم یا غیرمستقیم تاثیر بگذارد (لازکانو و دومینگز، ۲۰۱۱)

عناصر غذایی مورد نیاز برای گیاهان دارویی را می‌توان با استفاده از کودهای ورمی‌کمپوست در خاک تأمین کرد (میرزایی و همکاران، ۲۰۰۹). در تحقیقی مشخص شد که اثر ورمی‌کمپوست در کشت رازیانه باعث افزایش جذب عناصر غذایی و فتوسنتز در این گیاه می‌شود (درزی و همکاران، ۲۰۰۸). در مورد گیاه دارویی بابونه نیز کاربرد ورمی‌کمپوست، باعث افزایش شاخص‌های رشدی به دنبال افزایش جذب عناصر غذایی در این گیاه شد (عزیزی و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج تحقیقی بر روی گیاه دارویی بابونه رومی (*Anthemis nobilis*) نشان داد که کاربرد ورمی‌کمپوست سبب افزایش میزان اسانس و کیفیت آن گردید (لویک و پانک، ۲۰۰۵). آرگوالو و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه در مورد سیر(*Allium sativum*) بیان کردند که مصرف ورمی‌کمپوست از طریق تسریع در تشکیل پیاز موجب افزایش کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی نظیر فروکتان گردیده و متعاقب آن عملکرد محصول

سیر نیز بهبود می‌یابد. در این پژوهش ارتفاع بوته سیر نیز به دلیل بهبودی که در جذب عناصر معدنی و آب و پیامد آن در فرایند فتوسنتز صورت گرفته بود افزایش یافت.

۲-۱۵-۲ اثرات ورمی‌کمپوست بر اسانس گیاهان دارویی

در خصوص تأثیر ورمی‌کمپوست بر روی کمیت و کیفیت ماده مؤثره مشاهده شده که مصرف ورمی‌کمپوست سبب بهبود معنی‌دار مقدار اسانس و کیفیت آن در گیاه دارویی ریحان شد، به نحوی که میزان لینالول و متیل کاویکول موجود در اسانس بیشتر از تیمار شاهد بود (انور و همکاران، ۲۰۰۵). همچنین در آزمایشی مزرعه‌ای که بر روی گیاه دارویی رازیانه صورت گرفت، مشخص شد که کاربرد ۱۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست سبب افزایش تعداد گل، ارتفاع بوته، وزن هزاردانه، عملکرد بیولوژیک و مقدار اسانس گیاه مورد نظر گردید (درزی و همکاران، ۲۰۰۶).

۲-۱۶ میکوریزا آرباسکولار

واژه‌ی میکوریزا Mycorrhizae از دو کلمه Myco به معنی قارچ و Rhiza به معنی ریشه تشکیل شده است. علم دیرین شناسی با بررسی آثار فسیلی به جا مانده از میلیون‌ها سال قبل نشان داده است که همزیستی گیاهان با این قارچ ها قدمتی بس طولانی دارد. در فسیل‌های آهکی کشف شده مربوط به نهان‌زاد آوندی به نام راینیا که قدمت آن به بیش از ۴۰۰ میلیون سال قبل می‌رسد اندام‌های قارچی شناسایی شده که به آنچه امروزه تحت عنوان قارچ‌های میکوریزا آرباسکولار وزیکولار می-شناسیم شباهت بسیار زیادی نشان می‌دهد. براساس نوع رابطه‌ی قارچ با گیاه و نیز چگونگی ارتباط بین میسیلیوم قارچ و سلول ریشه، میکوریزا به سه گروه: «میکوریزای خارجی یا اکتومیکوریزا»، «میکوریزای داخلی یا آندومیکورزا» و «میکوریزای داخلی-خارجی یا اکتندومیکوریزا» تقسیم می‌شود (جهان و همکاران، ۱۳۹۱).

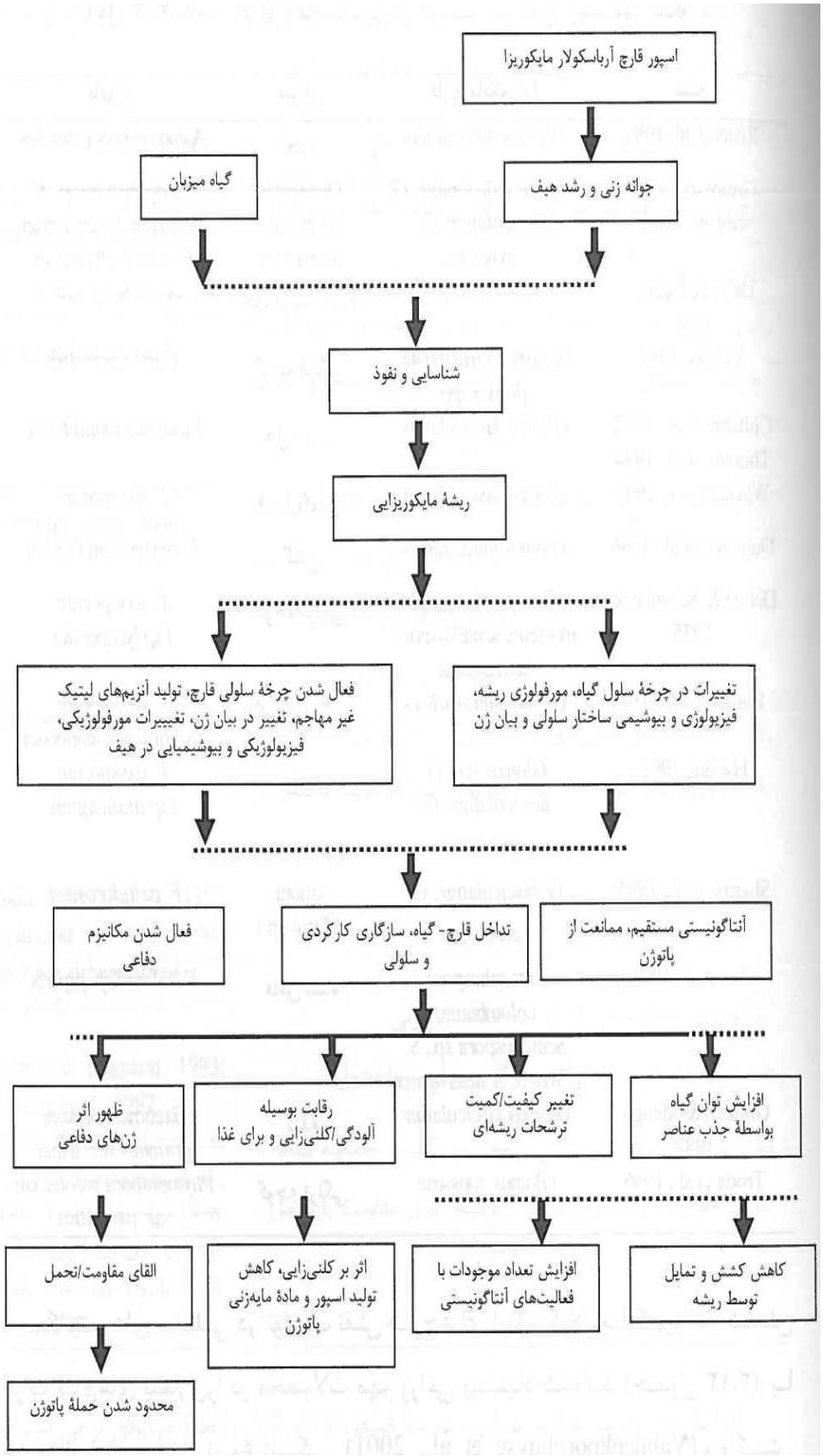
اثرات مواد شیمیایی بر افزایش تولید محصولات زراعی در کشاورزی به عنوان معجزه تکنولوژی عصر حاضر نامیده شده است (اشتون و کرافتس، ۱۹۷۳). با توجه به این مطلب که استفاده از مواد شیمیایی کشاورزی رایج، می‌تواند سبب به خطر افتادن سلامتی تولیدات کشاورزی شود (کارسون، ۱۹۶۲)، موجب شده است که تحقیقاتی در این زمینه جهت یافتن راه حل‌های مناسب صورت گیرد (گیبس و کارسون، ۱۹۸۵). میکوریزا آرباسکولار، به عنوان نوعی از میکروارگانیسم غالب در محیط ریشه‌ها بخشی از این راه حل است (پانکو و همکاران، ۱۹۹۱b).

اهمیت قارچ‌های میکوریزا آرباسکولار در کشاورزی پایدار، اساساً به نقش این قارچ‌ها بعنوان عامل رابط بین گیاه و خاک مربوط می‌شود. این قارچ‌ها عامل انتقال مواد غذایی بین گیاه و خاک بوده و در حفاظت (الیوت و کولمن، ۱۹۸۸) و تغذیه خاک (بسلن فایوی و نیوتن، ۱۹۹۱) همانند تغذیه گیاه تاثیر دارند (رید، ۱۹۸۴). اثرات مفید قارچ آرباسکولار میکوریزا AM بر کاربرد گیاه و سلامت خاک برای مدیریت پایدار اکوسیستم‌های کشاورزی ضروری هستند (جفریس و همکاران، ۲۰۰۳؛ باریوس، ۲۰۰۷). از آن جایی که قارچ‌های میکوریزا آرباسکولار موجب افزایش توانایی گیاه میزبان در جذب فسفر و عناصر معدنی خاک و بویژه از منابع غیرقابل دسترس آن‌ها می‌شوند، لذا به این ریزموجودات مفید، کودهای زیستی اطلاق می‌شود و عقیده بر این است که قارچ‌های میکوریزا آرباسکولار می‌توانند جایگزین خوبی برای بخشی از کودهای شیمیایی مصرف شده در اکوسیستم‌های مختلف باشند (موکارجا و چامولا، ۲۰۰۳).

قارچ‌های مایکوریزا یکی از انواع کودهای زیستی بوده که دارای رابطه همزیستی با ریشه اغلب گیاهان زراعی می‌باشند و از طریق افزایش جذب عناصر غذایی (مانند فسفر، نیتروژن و برخی عناصر ریزمغذی)، افزایش جذب آب، افزایش مقاومت در برابر تنش‌های زنده (عوامل بیماری‌زا) و غیرزنده (خشکی، شوری و ...) سبب بهبود رشد، نمو و عملکرد گیاهان میزبان در سیستم‌های کشاورزی پایدار می‌شوند (ویلیامز، ۱۹۹۲؛ سیلویا و همکاران، ۱۹۹۸).

همزیستی AM دارای نقش مهمی در کشاورزی پایدار می‌باشد. در یک آزمایش نشان داده شد که درصد طول ریشه کلونیزه شده گیاهان رشد یافته در خاک‌هایی از سیستم‌های کشاورزی با ورودی کم ۳۰-۶۰٪ بیشتر از گیاهان رشدیافته در سیستم‌های کشاورزی با ورودی بالا (رایج) بود (مادر و همکاران، ۲۰۰۰).

اسمیت و رید (۲۰۰۸) نیز بیان کردند که قارچ میکوریزا آرباسکولار علاوه بر توانایی برقرار کردن یک رابطه همزیستی با ۸۰٪ از اندام‌های ریشه خانواده‌های گیاهی، رشد گیاهان را از طریق افزایش جذب فسفر قابل دسترس خاک و دیگر مواد غذایی لازم برای رشد را بهبود می‌بخشند، هم چنین آنها با ایجاد ثبات در خاکدانه‌های خاک، فرسایش و اثرات تنش ناشی از عوامل زنده و غیرزنده خاک را کاهش می‌دهند.



شکل ۲-۶ مراحل کلیدی در ارتباط با قارچ آرباسکولار میکوریزا، گیاه میزبان و پاتوژن (بن فانت و پروتو، ۱۹۹۵).

قارچ‌های میکوریزا آرباسکولار جزء اصلی فلور محیط ریشه در بوم‌نظام‌های طبیعی می‌باشند. روابط همزیستی میکوریزا نقش اصلی در تجزیه مواد آلی خاک، معدنی شدن عناصر غذایی گیاهان و چرخه عناصر غذایی ایفا می‌کنند. اسیدیته خاک، میزان عناصر غذایی و اثر متقابل با سایر ریزموجودات الگوی کلونیزاسیون این قارچ را تحت تاثیر قرار می دهند (پنوار و همکاران، ۲۰۰۶).

خلیل و همکاران (۱۹۹۴) و لکزیان و همکاران (۱۳۸۳) عنوان کردند که بیشترین منفعت برای گیاهان از کلونیزه شدن میکوریزایی، زمانی که میزان حاصلخیزی خاک پایین باشد، حاصل می‌شود. در بالاترین سطوح حاصلخیزی خاک، کلونیزیه شدن میکوریزایی ممکن است برای رشد گیاه زیان آور باشد.

۲-۱۶-۱ تاثیر میکوریزا آرباسکولار بر روی رشد گیاه

۲-۱۶-۱-۱ جذب آب

در بسیاری از مناطق خشک و کم‌آب جهان، خشکی عامل محدودکننده تولیدات زراعی است. تلقیح ریشه گیاهان با قارچ میکوریزا آرباسکولار می‌تواند در بالا بردن تولیدات زراعی تحت شرایط خشکی، موثر باشد (ال-کاراکی و همکاران، ۲۰۰۴). قارچ میکوریزا آرباسکولار می‌تواند نقش مهمی در جذب آب و عناصر غذایی مخصوصاً در خاکهایی که مقدار فسفر قابل جذب پایینی دارند ایفا کند (مری، ۲۰۰۷؛ باگایوکا و همکاران، ۲۰۰۰). همزیستی میکوریزایی می‌تواند بر روی رابطه آب با گیاهان میزبان موثر باشد. گزارش شده است که آلودگی قارچ میکوریزایی جذب عناصر غذایی در گیاهان تحت شرایط استرس آب را افزایش می‌دهد، گیاهان میزبان قادر خواهند بود قابلیت هدایت هیدرولیکی ریشه را افزایش دهند و کارایی استفاده از آب بیشتر می‌شود (تورک و همکاران، ۲۰۰۶). برای قارچ میکوریزا آرباسکولار نقش واسطه‌ای جهت جذب آب در زمان استرس خشکی در خاک آلوده به عناصر سنگین پیشنهاد شده است (فراهانی و همکارانی، ۲۰۰۸). هیف‌های قارچ مایکوریزا می‌توانند به منافذ بسیار ریزی که حتی تارهای کشنده قادر به نفوذ در آنها نیستند وارد شده و باعث افزایش میزان جذب آب گردند (تیسدال، ۱۹۹۱).

۲-۱۶-۱-۲ جذب فسفر

یکی از مهمترین اثرات قارچ AM بر روی گیاهان کاهش کمبود فسفات می‌باشد (سلامتی خاک، ۲۰۱۰).

قارچ AM می‌تواند تاثیر خوبی بر افزایش قدرت اضافه کردند فسفر به خاکی که در آن کمبود فسفر و یا ظرفیت بالای تثبیت فسفر وجود دارد کمک کند. به عنوان مثال در یک خاک اسیدی، اضافه کردن قارچ AM و کود فسفات معدنی با یکدیگر بسیار موثر بر بالا بردن رشد ذرت در مقایسه با هنگامی است که کود فسفات معدنی به تنهایی اضافه شده است (ال نو و همکاران، ۲۰۰۹).

در بین عناصر غذایی، بیشترین نقش میکوریزا آرباسکولار در جذب فسفر است، زیرا فسفر کم تحرک-ترین عنصر غذایی است. فسفر عنصری است که تقریباً در خاک غیرمتحرک است، همچنین، قسمت اعظم فسفر موجود در خاک (۹۵ تا ۹۹٪) به صورت غیرمحلول و غیرقابل استفاده به صورت مستقیم است.

مهمترین و معتبرترین تأثیر رابطه همزیستی با قارچ‌های مایکوریزا، افزایش جذب عناصر معدنی به ویژه فسفر در گیاه میزبان می‌باشد. این تأثیر به خصوص در اراضی که فسفر محلول در خاک کم بوده یا در اثر خشکی ضریب پخشیدگی عنصر فسفر بسیار کاهش یافته است مشهودتر می باشد (شیرانی و همکاران، ۱۳۷۹).

۲-۱۶-۱-۳ بالا بردن جذب عناصر غذایی

در طی مطالعات متعدد گزارش شده است که AM می تواند جذب روی به وسیله گیاهان را حتی تحت شرایط مزرعه‌ای افزایش دهد (کاواگنارو، ۲۰۰۸).

۲-۱۶-۱-۴ جذب نیتروژن

قارچ‌های AM قادر به تثبیت نیتروژن اتمسفری نیستند، اما آن‌ها به طور قطع، تثبیت نیتروژن را از طریق باکتری‌های تولید کننده گره افزایش داده و با باکتری‌های آزادزی یا باکتری‌های تثبیت کننده

نیتروژن اثر متقابل مثبت دارند (باریت و همکاران،۱۹۹۲؛ بتلن فالوای، ۱۹۹۲). تلقیح میکوریزا آرباسکولار باعث افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌های تثبیت کننده نیتروژن می‌شود که احتمالاً به خاطر بهبود تغذیه و عرضه بیشتر عناصر غذایی است (رجالی، ۱۳۸۲).

میکوریزا آرباسکولار همچنین سبب افزایش تحمل گیاهچه به خشکی، دمای زیاد، آلودگی قارچ‌های بیماریزا و حتی اسیدیته بالای خاک می شود (چن، ۲۰۰۶).

میکوریزا آرباسکولار برای سلامتی انسان از طریق فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی مفید ، مناسب می‌باشد (گیانینازی و همکاران، ۲۰۱۰). به هر حال مهم است که به یاد داشته باشیم، اثر مفید قارچ AM بر مواد معدنی گیاه و محتوی متابولیت‌های ثانویه تنها به گونه قارچ میکوریزا آرباسکولار وابسته نیست بلکه به ژنوتیپ گیاه و رژیم کودی نیز وابسته می‌باشد (گیانینازی و همکاران، ۲۰۱۰؛ چادهاری و همکاران، ۲۰۰۸؛ پرنر و همکاران، ۲۰۰۸).

۲-۱۷ ازتوباکتر

ازتوباکتر از جمله کودهای زیستی است که به عنوان باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه مطرح بوده و امکان کاربرد گسترده آنها برای انواع گیاهان زراعی مورد توجه و تأکید قرار گرفته است (بیاری و همکاران، ۲۰۰۸). ازتوباکتر نخستین بار توسط بیجرنیک در سال ۱۹۰۱ در هلند شناسایی شد و اولین گونه از خانواده آن کروکوکوم نام گرفت (مرکوواکی و میلیک، ۲۰۰۱).

ازتوباکتر علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن از طریق افزایش تحرک و قابلیت جذب عناصر غذایی و به ویژه تولید هورمون‌های رشد گیاهی موجب بهبود شرایط تغذیه و رشد گیاه می‌شوند. به علاوه این باکتری از طریق کنترل عوامل بیماری‌زا، به طور غیر مستقیم نیز به حفظ سلامت گیاه کمک می‌نماید (مرکوواکی و میلیک، ۲۰۰۱).

ازتوباکتر یک باکتری هوازی است که می‌تواند در فشار کم اکسیژن نیز به رشد خود ادامه دهد، محدوده pH برای رشد در حضور ترکیبات نیتروژنی از ۴/۸ تا ۸/۵ بوده ولی pH مناسب برای رشد و تثبیت نیتروژن ۷ تا ۷/۵ است (شیوپراساد و پگ، ۱۹۸۹).

گونه‌های مختلف ازتوباکتر در شرایط مختلف آب و هوایی از منطقه بسیار گرم حاره تا مناطق قطبی یافت می‌شوند. ازتوباکتر معمولاً به حالت آزاد در سطح خاک و همچنین در قسمت ریزوسفر گیاهان مختلف وجود دارند. با افزایش عمق خاک جمعیت ازتوباکترها کاهش پیدا می‌کند و درجه حرارت مناسب برای فعالیت این میکروارگانیسم‌ها بین ۲۰-۳۰ درجه سانتیگراد است (کروم، ۱۹۹۸).

به دلیل هوازی بودن ازتوباکتر، این میکروارگانیسم‌ها شرایط بی‌هوازی را نمی‌توانند تحمل کنند و بهترین رطوبت برای این باکتری رطوبت در حد ظرفیت مزرعه می‌باشد. به همین دلیل سلول‌های ازتوباکتر در سطح ریشه حضور ندارند، ولی در منطقه ریزوسفر به وفور یافت می‌شوند. ازتوباکتر، جزوه باکتری‌های گرم منفی و کروی متعلق به خانواده ازتوباکتریاسه است. دارای کپسول و کیست می‌باشد، بنابراین بهتر از باکتری‌های دیگر می‌تواند شرایط نامساعد محیط و تغییر فصل را تحمل کند. به خاطر وجود این کیست، باکتری قادر است برای مدتی نسبتاً طولانی، دمای صفر درجه‌ی سانتی‌گراد را تحمل کند (جهان و همکاران، ۱۳۹۱).

در تعریفی دیگر می‌توان گفت که *Azetobacter* جز باکتری‌های آزادزی و هوازی‌ای است که نیتروژن هوا را تثبیت می‌کند. آزمایشات زیادی در بررسی اثرات تلقیح ازتوباکتر بر روی گیاهان زراعی انجام شده است (لاکشمینارایان، ۱۹۹۳). آزوسپیریلوم (*Azospirillum spp*) و ازتوباکتر (*Azotobacter spp*) از مهمترین باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌باشند که علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک، با تولید مقادیر قابل ملاحظه‌ی هورمون‌های محرک رشد به ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکینین، رشد و نمو و عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می دهند (خلید و همکاران، ۲۰۰۴؛ زهیر و همکاران، ۲۰۰۴) باکتریهای جنس ازتوباکتر آزادزی بوده و باکتریهای جنس آزوسپیریلوم رابطه‌ی همیاری با گیاه میزبان دارند. ازتوباکتر قادر به تولید ترکیب-های ضدقارچی بر علیه بیماریهای گیاهی بوده و همچنین سبب تقویت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه شده که در، نهایت بهبود رشد گیاه را به‌دنبال دارد (چن جی، ۲۰۰۶). گزارش شده است که یکی از دلایل افزایش رشد گیاهان مختلف تحت تاثیر ازتوباکتر، تولید انواع هورمون‌های گیاهی مانند اکسین،

سیتوکنین، جیبرلین و کنترل بیماری‌های گیاهی توسط این باکتری می‌باشد (کارلتی، ۲۰۰۲). در آزمایش گلدانی تلقیح ازتوباکتر با بذر خردل و خاک، میزان پوسیدگی ناشی از قارچ اسکلروتینا را به میزان قابل توجهی در این گیاه کاهش داد. این کاهش بیماری به علت بهبود رشد گیاه ناشی از تولید سیدروفور و محروم شدن عامل بیماری‌زا از آهن توسط این باکتری می‌باشد (سانجا و همکاران، ۱۹۹۴).

مارتینز تولدو و همکاران (۱۹۸۸) نیز بیان کردند که ازتوباکترها توانایی ساختن ویتامین‌های B1، B2، B6 و B12، پانتوتنیک اسید و کینوتینیک اسید را دارا بوده و تولید این ویتامین‌ها تحت شرایط دی‌ازوتروفیک و تغذیه کافی کربن افزایش می‌یابد. همچنین ازتوباکترها، قادر به ساختن اسیدهای آمینه مانند آرژنین، سرین، تریپتوفان، هیستیدین، سیستین، پالمتیک اسید و انواع عوامل رشد مانند اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها هستند. نتایج پژوهش دیگری نشان می‌دهد که ازتوباکتر با ترشح اسید ایندول استیک باعث افزایش طول ریشه گیاهان می‌گردد (احمد و همکاران، ۲۰۰۵). ناگفته نماند که ازتوباکتر به عنوان یک باکتری کمک‌کننده در سیستم‌های همزیستی ریزوبیومی و میکوریزایی نیز نقش چشمگیری دارد (ماندار و همکاران، ۱۹۹۸).

فصل سوم

مواد و روش ها

۳-۱ زمان و مکان آزمایش

این تحقیق در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج واقع در ماهدشت کرج در سال زراعی ۱۳۹۱ انجام شد. ماهدشت در عرض ۳۵ درجه و ۴۶ دقیقه شمالی و طول ۵۰ درجه و ۵۳ دقیقه غربی، با ارتفاع ۱۲۹۴ متر از سطح دریا در دشت جنوبی رشته کوه‌های البرز قرار دارد. برطبق اطلاعات هواشناسی متوسط بارش سالانه ماهدشت ۱۶۸/۱ میلیمتر و متوسط درجه حرارت سالانه آن ۱۴/۹ درجه سانتیگراد است.

۳-۱-۱ مشخصات آب و هوایی و نوع خاک محل آزمایش

ماهدشت دارای ویژگی‌های اقلیمی نیمه خشک می‌باشد. مساحت مزرعه ۲۲ هکتار و منبع آب مصرفی آن چاه عمیق است. براساس آنالیز خاک، مزرعه دارای بافت خاک شنی لومی بوده که مشخصات کامل‌تر آن در جدول ۳-۱ بیان شده است. در جدول ۳-۲ نیز آنالیز ورمی‌کمپوست به کار رفته در آزمایش نشان داده شده است.

جدول ۳-۱ آنالیز نمونه خاک مزرعه

عمق خاک (cm)	شوری (ds/m^2)	pH	OC (٪)	N (٪)	K a.v.a(mg/kg)	P a.v.a(mg/kg)	Physical test		
							C	SI	S
۰-۳۰	۵/۸۲	۷/۸۱	۰/۸۵	۰/۱۷	۲۴۰	۷/۶۸	۳۴	۲۲	۴۴

جدول ۳-۲ آنالیز نمونه ورمی کمپوست

قابلیت هدایت الکتریکی($EC \times ۱۰^{۲}$) دسی زیمنس بر متر مربع ۱:۵	اسیدیته در عصاره Ph ۱:۵	نیتروژن کل (N) ٪	پتاسیم کل (K) ٪	کربن‌آلی (OC) ٪	فسفر کل (P) ٪	رطوبت %	آهن کل (Fe) میلی گرم در کیلوگرم
۴/۹۱	۷/۰۰	۱/۵۸	۰/۳۵	۲۵/۲۶	۰/۳۲۸	۶/۳۷	۷۳۳۹

۳-۲ روش کار در مزرعه

۳-۲-۱ تهیه زمین

برای انجام این آزمایش زمینی به مساحت ۱۲۰۰ مترمربع در نظر گرفته شد. عملیات آماده‌سازی زمین به منظور تهیه بستر مناسب برای رشد گیاه در فروردین ماه انجام شد. کشت به صورت جوی و پشته انجام گرفت. کرت‌ها بوسیله یک پشته نکاشت از هم جدا شدند. و بین هر تکرار ۳ متر فاصله اعمال شد که در این فاصله جوی‌های ورود و زهکش آب هر تکرار قرار داده شد.

۳-۳ طرح آزمایش

آزمایش به صورت اسپیلت پلات فاکتوریل بر پایه طرح بلوکهای کامل تصادفی با ۳ تکرار بر روی گیاه نعناع فلفلی صورت گرفت. تیمارهای مورد بررسی شامل ورمی‌کمپوست به عنوان فاکتور اصلی در ۳ سطح v_0(عدم‌مصرف ورمی‌کمپوست)، v_1(مصرف ۳ تن ورمی‌کمپوست در هکتار) و v_2(مصرف ۶ تن ورمی‌کمپوست در هکتار) و ترکیبات تیماری قارچ میکوریزا آرباسکولار و باکتری ازتوباکتر به عنوان فاکتورهای فرعی، که میکوریزا آرباسکولار در ۲ سطح m_0(عدم‌مصرف میکوریزا آرباسکولار) و m_1(

مصرف میکوریزا آرباسکولار) و ازتوباکتر هم در دو سطح a_0(عدم‌مصرف ازتوباکتر) و a_1(مصرف ازتوباکتر) بودند. ابعاد کرت‌ها در این آزمایش ۱۳/۵ مترمربع در نظر گرفته شد که طول هر کرت ۴/۵ و عرض آن ۳ متر تعیین گردید. برای هر بلوک یک جوی ورود آب در بالای بلوک و یک جوی خروج آب در زیر بلوک در نظر گرفته شد.

تکرار اول

$V_0M_1A_1$	$V_0M_0A_1$	$V_0M_1A_0$	$V_0M_0A_0$	$V_1M_0A_0$	$V_1M_1A_0$	$V_1M_1A_1$	$V_1M_0A_1$	$V_2M_0A_0$	$V_2M_0A_1$	$V_2M_1A_0$	$V_2M_1A_1$

تکرار دوم

$V_1M_0A_0$	$V_1M_1A_0$	$V_1M_0A_1$	$V_1M_1A_1$	$V_0M_1A_0$	$V_0M_0A_0$	$V_0M_1A_1$	$V_0M_0A_1$	$V_2M_0A_1$	$V_2M_1A_1$	$V_2M_0A_0$	$V_2M_1A_0$

تکرار سوم

$V_1M_0A_1$	$V_1M_1A_1$	$V_1M_0A_0$	$V_1M_1A_0$	$V_2M_1A_1$	$V_2M_0A_0$	$V_2M_1A_0$	$V_2M_0A_1$	$V_0M_1A_1$	$V_0M_0A_1$	$V_0M_0A_0$	$V_0M_1A_0$

شکل ۳-۱ نقشه طرح بعد از تصادفی کردن تیمارها در تکرارها تا آب هر تکرار وارد تکرار قبل یا بعد نشود.

۳-۴ عملیات زراعی

۳-۴-۱ کاشت

در هر کرت ۴ پشته با عرض ۴۰ سانتی متری و به فاصله ۵۰ سانتی متر از هم برای کاشت قلمه‌ها تعبیه شد. برای کاشت قلمه‌ها، ابتدا شیاری بر روی هر پشته ایجاد شد و ورمی‌کمپوست در درون شیارها قرار داده شد، روی آن با خاک پوشانده و روی خاک قارچ میکوریزا آرباسکولار به مقدار ۱۰ گرم ریخته شد و دوباره روی قارچ نیز با خاک پوشانده و بعد قلمه نعناع فلفلی روی آنها قرار داده شد تا قلمه‌ها بعد از استقرار کامل و ایجاد ریشه با میکوریزا آرباسکولار و ورمی‌کمپوست ارتباط برقرار کنند. برای تلقیح قلمه‌ها با ازتوباکتر هم بعد از تهیه باکتری با آب مخلوط و در یک محیط سایه و به دور از نور مستقیم خورشید قلمه‌ها درون ظرف حاوی باکتری به مدت نیم ساعت قرار داده شد تا تلقیح به صورت کامل انجام شود.

کاشت قلمه ها در تاریخ ۱۳۹۱/۲/۲۹ انجام شد. فاصله بوته‌ها بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر و روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. بعد کاشت بلافاصله زمین برای استقرار بهتر قلمه‌ها در خاک تحت آبیاری قرار گرفت.

۳-۴-۲ داشت

عملیات وجین علف‌های هرز، در طول آزمایش به صورت وجین دستی بین ردیف‌ها و روی ردیف‌ها انجام شد. از مهمترین علف‌های هرزی که در طول آزمایش در مزرعه دیده شد می‌توان به تاج خروس(*Amaranthus*)، پیچک صحرایی(*Convolvulus arvensis*) و خارشتر(*Alhagi camelorum*) و . . . اشاره کرد. به دلیل سطحی بودن ریشه نعناع فلفلی و چون این گیاه به صورت قلمه کاشته می‌شود، آبیاری کرت‌ها در ماه اول کاشت هفته‌ای ۳ بار انجام شد تا قلمه‌ها در خاک تثبیت شده و جوانه بزنند. بعد از مطمئن شدن از جوانه‌زدن قلمه‌ها، آبیاری تا پایان چین اول هفته‌ای

۲ بار انجام شد. در طول دوره رشد گیاه بعد از چین اول با توجه به وضعیت آب و هوا آبیاری به هفته-ای ۱ بار و گاهی ۲ بار تغییر یافت.

در این آزمایش از هیچ‌گونه سموم شیمیایی مانند علف‌کش، آفت‌کش و یا کود شیمیایی استفاده نشد.

۳-۴-۳ برداشت

بهترین زمان برداشت نعناع فلفلی ۵۰٪ گلدهی مزرعه می‌باشد. از آن جایی که نعناع فلفلی گیاهی چند ساله می‌باشد و در هر سال به طور متوسط ۲ چین صورت می‌گیرد، در این طرح آزمایشی هم ۲ چین صورت گرفت. چین اول در مرداد ۹۱ و چین دوم در آذر ۹۱ انجام شد. برای نمونه گیری دو خط کاشت کناری کرت به عنوان حاشیه کنار گذاشته شد و از دو خط وسط کرت با رعایت اثرات حاشیه گیاهان موجود در نیم مترمربع با فاصله ۲ تا ۳ سانتی متری از سطح خاک برداشت شدند. بعد از برداشت، نمونه‌ها برای آنالیز و خشک شدن به محیط خشک و خنک منتقل شدند.

۳-۵ خشک کردن اندام‌های رویشی

بعد از برداشت و اندازه‌گیری خصوصیات مورفولوژیک گیاه، اجزای مختلف اندام هوایی(ساقه، برگ و گل آذین) از هم تفکیک و توزین شد و هر یک به طور جداگانه در سایه به مدت یک هفته قرار داده شد تا خشک شوند. بعد از خشک شدن هم اجزای گیاه دوباره هر یک از اجزا به طور جداگانه توزین و تا زمان انتقال به آزمایشگاه برای استخراج اسانس در کیسه‌های نایلونی و در مکان خنک و خشک نگهداری شدند.

۳-۶ صفات اندازه‌گیری شده و روش اندازه‌گیری

به منظور بررسی تاثیر ورمی‌کمپوست، قارچ میکوریزا آرباسکولار و ازتوباکتر بر گیاه نعناع فلفلی صفاتی از قبیل: ارتفاع گیاه، درصد کلونیزاسیون ریشه، کلروفیل، وزن خشک اندام هوایی، درصد اسانس، عملکرد اسانس و ترکیبات اصلی اسانس اندازه‌گیری شد.

۳-۶-۱ ارتفاع بوته

ارتفاع بوته در هر دو چین از انتهای گل آذین تا دو سانت بالای خاک ساقه اندازه‌گیری و میانگین ارتفاع بوته‌های برداشت شده از هر کرت محاسبه و به عنوان ارتفاع بوته مطرح شد.

۳-۶-۲ کلروفیل

برای سنجش کلروفیل برگ، از دستگاه اسپد مدل CL-01 استفاده شد و عدد قرائت شده از اسپد برای ۵ بوته بعد از میانگین گیری به عنوان کلروفیل برگ گزارش شد. باید توجه داشت که عدد اسپد به معنی مقدار کلروفیل در گیاه نیست ، بلکه اسپد تخمینی از غلظت کلروفیل در برگ را به ما می-دهد که همبستگی بالایی با مقدار کلروفیل در برگ دارد. بنابراین در بخش نتایج و بحث منظور از کلروفیل غلظت کروفیل است نه مقدار کلروفیل.

۳-۶-۳ تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه

برای تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه با قارچ میکوریزا آرباسکولار، از روش Slide Method استفاده شد. برای این منظور، در ابتدا ریشه‌های مویین جدا شده از گیاه با آب به خوبی شستشو داده شدند تا ذرات خاک از آن جدا شوند. برای انتقال ریشه‌ها از مزرعه به آزمایشگاه از محلول آب و الکل به نسبت ۵۰:۵۰ استفاده شد. در آزمایشگاه KOH 10% ساخته شد و ریشه‌ها برای رنگبری درون محلول قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در محلول نگهداری شد تا ریشه‌ها به طور کامل رنگبری شوند. بعد از ۲۴ ساعت ریشه‌ها از KOH 10% خارج و با آب مقطر شستشو داده شد. بعد از شستشو با آب

ریشه‌ها به مدت ۲ تا ۳ دقیقه در HCL قرار داده شد تا خاصیت بازی ریشه که توسط KOH ایجاد شده بود خنثی شود. سپس ریشه‌ها به ماده رنگی تریپان بلو آغشته شد و به مدت ۲۴ ساعت نیز در آن نگهداری شد تا به طور کامل رنگ‌آمیزی شوند. بعد از مدت مذکور از ریشه‌های رنگ آمیزی شده قطعات ۱ سانتی متری تهیه و روی لام قرار داده شد تا با استفاده از میکروسکوپ قطعات ریشه آلوده و غیرآلوده به قارچ میکوریزا آرباسکولار از هم تفکیک شوند.

برای بدست آوردن درصد کلونیزاسیون از رابطه زیر استفاده شد:

۱۰۰ * (تعداد قطعات مشاهده شده/تعداد قطعات آلوده به میکوریزا)= درصد کلونیزاسیون

۳-۶-۴ استخراج اسانس

استخراج اسانس در آزمایشگاه گیاهشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود و به روش تقطیر با آب و به وسیله دستگاه کلونجر صورت گرفت. برای استخراج اسانس نمونه‌های ۳۰ گرمی از اندام‌های هوایی خشک شده نعناع فلفلی که شامل هر دو چین بود تهیه و به همراه ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر (نسبت ماده خشک به آب مقطر باید ۱:۱۰ باشد) در بالن ژوژه ۵۰۰ میلی لیتری دستگاه کلونجر قرار داده شد. مدت زمان اسانس‌گیری از زمانی که مخلوط درون بالن یعنی ماده خشک گیاه و آب مقطر شروع به جوشیدن می کنند ۳ ساعت به طول می‌انجامد. چون وزن اسانس از آب مقطر سنگین‌تر است در لوله جداسازی روی آب قرار می‌گیرد.

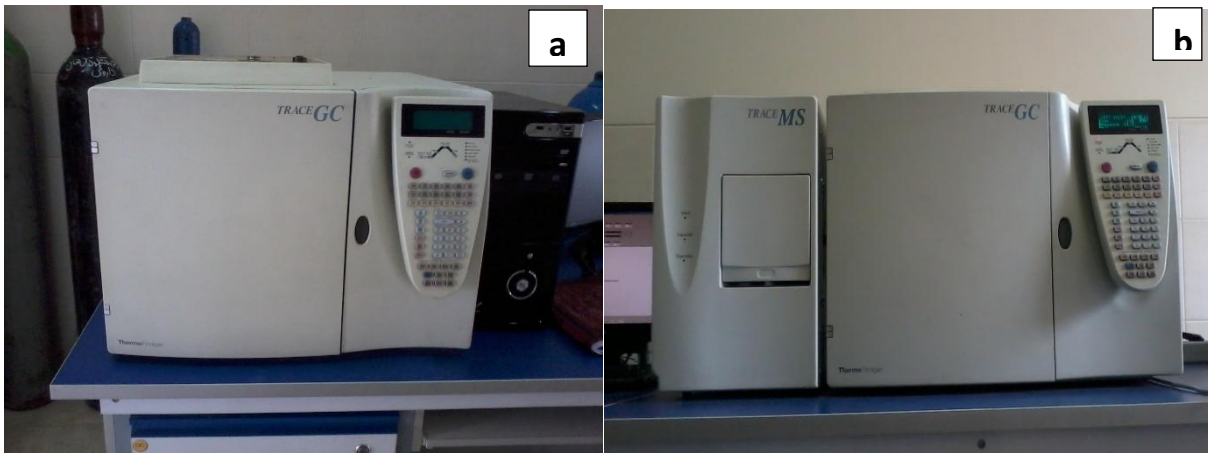
شکل ۳-۲ دستگاه کلونجر

۳-۶-۵ تجزیه و اندازه گیری ترکیبات موجود در اسانس

به علت پیچیدگی ترکیبات اسانس از نظر شیمیایی یکی از مناسب‌ترین روش تجزیه آنها روش تجزیه گاز کروماتوگرافی (GC) می‌باشد. دستگاه گاز کروماتوگرافی مورد استفاده مدل TRACE GC شرکت Thermo Quesr-Finnigan، با گاز حامل N_2 و سرعت گاز حامل ۱/۱ با ستونی به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر بود. شناسایی ترکیبات از طریق زمان نگهداری در ستون دستگاه کروماتوگرافی گازی و بررسی طیف جرمی آنها صورت گرفت. کامپیوتر متصل به دستگاه، بر طبق راوبط از پیش تعیین شده مساحت زیر نمودار را محاسبه و به عنوان درصد ترکیبات اسانس ارائه می دهد.

اسانس گیاهان مورد نظر پس از آماده سازی، به دستگاه GC/MS تزریق گردیدن تا نوع ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آن مشخص شود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت می گیرد. دستگاه GC/MA مورد استفاده

در این آزمایش مدل TRACE GC و از شرکت Thermo Quesr-Finnigan بود.



شکل ۳-۳ (a) دستگاه GC مدل TRACE GC (b) دستگاه GC/MS مدل TRACE GC.

۳-۷ روش تجزیه و تحلیل داده ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزارهای SAS و MSTATC استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD و در سطح احتمال ۵ درصد انجام پذیرفت. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel انجام گرفت.

فصل چهار

نتایج و بحث

۴-۱ ارتفاع گیاه

بررسی جدول تجزیه واریانس (جدول ۴-۱) نشان می‌دهد که هیچ کدام از اثرات ساده و متقابل در این آزمایش نتوانستند بر ارتفاع گیاه اختلاف معنی‌داری بوجود آورند. با توجه به میانگین‌ها در بین تیمارها، تیمار $v_0m_1a_0$ (یعنی عدم استفاده از ورمی‌کمپوست و عدم تلقیح ازتوباکتر در کنار مصرف میکوریزا آرباسکولار) بالاترین ارتفاع بوته با طول ۵۵/۱۵ سانتیمتر و تیمار $v_0m_1a_1$ (یعنی عدم استفاده از ورمی‌کمپوست و استفاده از میکوریزا آرباسکولار و تلقیح با ازتوباکتر) کمترین ارتفاع بوته با طول ۴۱/۳۳ را به خود اختصاص دادند.

جدول۴-۱ جدول تجزیه واریانس اثرات ورمی‌کمپوست، میکوریزا آرباسکولار و ازتوباکتر بر میانگین مربعات صفات مورفولویک نعناع فلفلی

منبع تغییرات	df	ارتفاع	کلونیزاسیون	کلروفیل	وزن خشک اندام هوایی
تکرار	۲	۶۹/۵۱	۰/۱۰۵	۱۸/۳۱	۶۶۳۰۳/۵۹
ورمی‌کمپوست	۲	۳/۶۱	۰/۰۶۵*	۱۹۰/۰۹	۶۳۸۷/۱۹
خطای a	۴	۱۴/۸۶	۰/۰۰۹	۶۳/۸۷	۱۵۲۵۷/۱۰
میکوریزا آرباسکولار	۱	۱۷/۲۵	۰/۱۸۸**	۴۰/۶۱	۱۴۹/۶۷
ازتوباکتر	۱	۲/۷۱	۰/۰۱۳	۹/۲۳	۲۷۶۵۳/۷۵
ورمی‌کمپوست*میکوریزا آرباسکولار	۲	۱۵/۴۱	۰/۰۵۱	۱۷/۲۳	۸۷۸۵/۷۸
ورمی‌کمپوست*ازتوباکتر	۲	۹۹/۶۷	۰/۰۰۳	۳/۱۸	۱۲۸۱۴/۱۶
میکوریزا آرباسکولار*ازتوباکتر	۱	۱۵۸/۹۶	۰/۱۶۷**	۱/۹۷	۱۱۵۷/۳۰
ورمی‌کمپوست*میکوریزا آرباسکولار*ازتوباکتر	۲	۶۰/۱۵	۰/۰۳۶	۱۵/۹۸	۱۶۲۲۶/۳۹
خطای b	۱۸	۱۰۳/۷۳	۰/۰۱۸	۲۰/۳۰	۱۸۳۲۴/۷۸
٪ضریب تغییرات		۲۰/۸۶	۲۴/۶۹	۱۷/۴۸	۲۸/۲۷

* و **به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

با نگاهی به میانگین‌ها می‌توان نتیجه گرفت که تلقیح گیاه با ازتوباکتر باعث افزایش ارتفاع بوته می‌شود، ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبوده است.

حضور ازتوباکتر در محیط ریشه باعث می‌شود که گیاه توانایی ساخت و ترشح برخی مواد بیولوژیکی فعال مانند اکسین‌ها، جیبرلین‌ها، ویتامین‌های گروه B، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتنیک، بیوتین و غیره را بدست آورد که در افزایش رشد، فرایند فتوسنتز و تولید سطح سبز نقش مؤثری ایفا می‌کنند . همچنین کودهای زیستی از طریق تولید ترشحات حل کننده و کاهش اسیدیته، عناصر مختلف غذایی را به صورت محلول در اختیار گیاه قرار می دهند (کادر و همکاران ۲۰۰۲؛ هان و لی، ۲۰۰۶؛ رادماچر، ۱۹۹۴).

شالان (۲۰۰۵) نشان داد که تلقیح بذر سیاهدانه با کودهای بیولوژیکی نظیر آزوسپیریلوم، ازتوباکتر و سودوموناس باعث بهبود خصوصیات رشدی گیاه، نظیر ارتفاع گیاه که علت اصلی این امر افزایش جذب مواد غذایی توسط گیاه بوده، تلقیح میکروبی همچنین باعث بهبود خصوصیات خاک نظیر محتوای ماده آلی و افزایش محتوای نیتروژن قابل دسترس خاک می‌شود.

تبریزی و همکاران (۱۳۸۷) در آزمایشی که اثر کودهای زیستی میکوریزا، ازتوباکتر و آزوسپریلیوم و باکتری های حل‌کننده فسفات را بر گیاه دارویی زوفا بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که تلقیح گیاه با ازتوباکتر منجر به افزایش ارتفاع گیاه نسبت به گیاه شاهد می‌شود، که نتایج تحقیقات خرم‌دل و همکاران (۱۳۸۷) بر گیاه سیاهدانه، یوسف و همکاران (۲۰۰۴) بر گیاه مریم‌گلی را تصدیق می‌کند، ولی با نتایجی که ما در این آزمایش گرفته‌ایم مطابقت ندارد.

بررسی اثر قارچ میکوریزا آرباسکولار بر ارتفاع بوته نشان داد که بین استفاده و عدم‌استفاده آن از لحاظ ارتفاع بوته تفاوت معنی‌دار وجود ندارد. به طور کلی استفاده میکوریزا آرباسکولار نسبت به عدم استفاده آن سبب افزایش ارتفاع گیاه گردید ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. قارچ میکوریزا آرباسکولار از طریق افزایش آب و عناصر غذایی سبب افزایش فتوسنتز شده و این امر موجب تولید اسیمیلات بیشتر و بهبود رشد گیاه شده و در نتیجه ارتفاع بوته نیز افزایش پیدا می‌کند. بر این-اساس گزارشات اردکانی (۱۳۷۸)، غلامی و همکاران(۱۳۷۸)، شیرانی‌راد (۱۳۷۷)، تالکودار و جرمیدار

(۱۹۹۵)، احتشامی و همکاران (۱۳۸۶) و پاول و همکاران (۱۹۸۴) در زمینه افزایش ارتفاع بوته در اثر استفاده میکوریزا آرباسکولار موید نتیجه فوق می‌باشد.

۴-۲ وزن خشک اندام هوایی

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۴-۱) می‌توان نتیجه گرفت که هیچ‌کدام از اثرات ساده و متقابل ورمی‌کمپوست، میکوریزا آرباسکولار و ازتوباکتر بر وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار نبود. با توجه به میانگین‌ها می‌توان نتیجه گرفت که بیشترین مقدار وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار $v_1m_1a_0$(مصرف ۳ تن در هکتار ورمی‌کمپوست به همراه مصرف میکوریزا آرباسکولار و عدم تلقیح با ازتوباکتر) با وزن ۵۶۵/۷۳۵ کیلوگرم در هکتار و کمترین وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار $v_2m_0a_1$ (مصرف ۶ تن در هکتار ورمی‌کمپوست، عدم مصرف میکوریزا آرباسکولار و تلقیح با ازتوباکتر) با وزن ۳۶۸/۵۱ کیلوگرم در هکتار بوده است.

اردکانی و طرفدار (۱۳۸۰) معتقدند که کاربرد میکوریزا آرباسکولار سبب افزایش وزن خشک گیاه نسبت به حالت عدم استفاده از آن می شود. دلیل آن این طور بیان شده است که میکوریزا آرباسکولار از راه افزایش جذب آب و عناصر غذایی سبب افزایش عمل فتوسنتز در گیاه و در نتیجه تولید مواد فتوسنتزی بیشتر و بهبود در رشد گیاه می گردد. کوپتا و همکاران (۲۰۰۶) نیز در مطالعه خود عنوان کردند که زیست توده ریحان در شرایط تلقیح با سه گونه قارچ میکوریزا افزایش یافت. آنها دلیل این امر را افزایش راندمان مصرف آب و بهبود جذب و دسترسی به عناصر غذایی برای گیاه تحت شرایط تلقیح با قارچ همزیست ذکر کردند. که این گزارش با تحقیق احتشامی و همکاران (۱۳۸۶)، حسنی و همکاران (۱۳۹۰)، امیرآبادی و همکاران (۱۳۸۸) نیز مطابقت می کند.

۴-۳ کلونیزاسیون

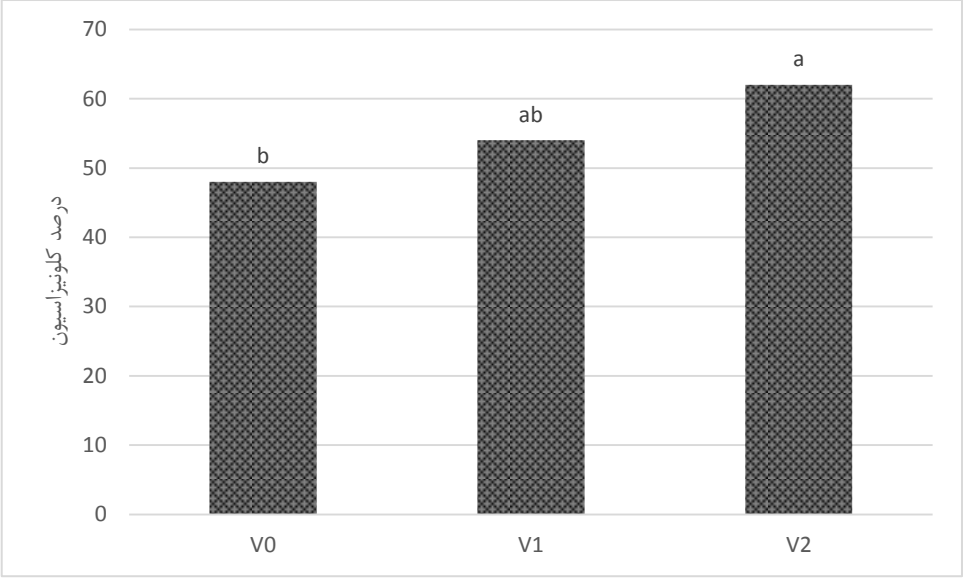
با نگاه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۴-۱) می‌توان گفت که اثر ساده ورمی‌کمپوست (در سطح ۵٪) و اثر ساده میکوریزا آرباسکولار و اثر متقابل میکوریزا آرباسکولار* ازتوباکتر (در سطح ۱٪) باعث ایجاد اختلاف معنی‌داری در کلونیزاسیون ریشه شدند. تیمارهایی که بالاترین و پایین‌ترین درصد کلونیزاسیون را داشتند به ترتیب تیمار $v_1m_1a_1$ با ۷۶٪و $v_1m_0a_1$ با ۲۴٪ کلونیزاسیون بودند. با بررسی میانگین تیمارهای می‌توان به نتایج جالبی دست یافت. میانگین‌ها نشان دادند که کرت‌هایی هم که در آنها از میکوریزا آرباسکولار استفاده نشده است آثاری از کلونیزاسیون وجود دارد که دلیل آن می‌تواند استفاده از میکوریزا آرباسکولار در زراعت‌های پیشین باشد که در این زمین انجام شده، و یا می‌تواند به علت ورود آب کرت‌های مجاور که میکوریزا آرباسکولار در آنها استفاده شده بود باشد.

با توجه به شکل ۴-۱ می‌توان گفت که مصرف ۶ تن در هکتار ورمی‌کمپوست توانسته است تاثیر معنی‌داری روی درصد کلونیزاسیون ریشه داشته باشد.

گزارش کیل و همکاران (۱۹۸۷) نیز مبین آن بود که استعمال ورمی‌کمپوست از طریق تأثیر بر تحریک رشد ریشه، موجب افزایش درصد همزیستی ریشه در گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia sp*) گردید. درزی و همکاران (۱۳۸۷) در مورد رازیانه بیان داشته‌اند که استعمال ورمی کمپوست باعث افرایش همزیستی ریشه با قارچ میکوریزا می‌شود که دلیل آن را اینگونه توجیه می‌کنند که عناصر غذایی موجود در ورمی‌کمپوست از طریق تحریک رشد ریشه رازیانه، موجب بهبود درصد همزیستی ریشه با میکوریزا شده‌اند.

گزارش شیواپوترا و همکاران (۲۰۰۴) نیز مبین آن بود که مصرف ورمی‌کمپوست تحت شرایط گلخانه‌ای در گیاه خربزه، سبب بهبود قابل ملاحظه درصد همزیستی ریشه در مقایسه با شاهد گردید. در برخی از پژوهش‌ها نتیجه متناقض با تحقیق حاضر نیز بدست آمده است. در این خصوص، ساینز و همکاران (۱۹۹۸) در یک تحقیق گلخانه‌ای که روی گیاهان شبدر قرمز و خیار انجام دادند، مشاهده

نمودند که مصرف ورمی‌کمپوست حاصل از ضایعات شهری موجب کاهش معنی‌دار درصد کلونیزاسیون ریشه در گیاه شبدر قرمز گردید. این محققین دلیل کاهش در همزیستی میکوریزایی را به مصرف زیاد این نوع ورمی‌کمپوست و متعاقب آن به فراهمی زیاد فسفر در محیط رشد ریشه نسبت دادند و نتیجه گرفتند که برای حفظ مطلوب همزیستی میکوریزایی در سیستم‌های کشاورزی پایدار، ابتدا باید مبادرت به تعیین دقیق عناصر غذایی مورد نیاز کرد و سپس برای مصرف مقادیر مناسب ورمی-کمپوست اقدام کرد.



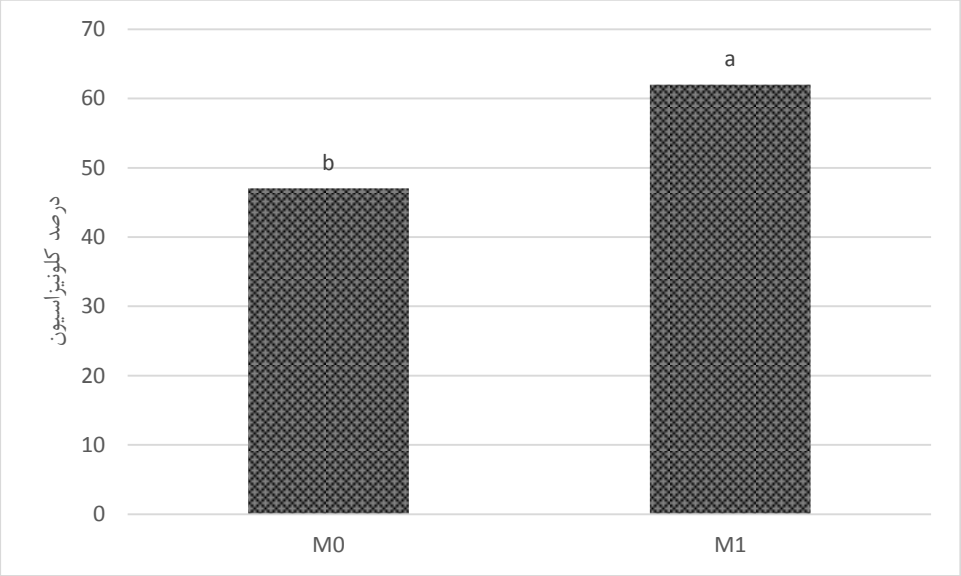
شکل۴-۱ تاثیر سطوح مختلف ورمی‌کمپوست بر درصد کلونیزاسیون ریشه نعناع فلفلی

با نگاهی به شکل ۴-۲ می‌توان اینگونه استنباط نمود که مصرف میکوریزا آرباسکولار با ایجاد یک رابطه همزیستی مناسب توانسته است درصد کلونیزاسیون خوبی را با ریشه نعناع فلفلی ایجاد نماید.

حسنی و همکاران (۱۳۹۰) در تحقیق خود که برای بررسی چگونگی کلونیزاسیون دو گونه متفاوت قارچ میکوریزا آرباسکولار بر روی گیاه ریحان انجام دادند به این نتیجه رسیدند که گونه *Glomus mosseae* نسبت به گونه *Glomus intraradices* بهتر با گیاه رابطه همزیستی بر قرار می‌کند که غلامی و کوچکی (۱۳۸۰) دلیل آن را اینگونه بیان کردند که: افزایش درصد کلونیزاسیون در یک

گونه قارچی نسبت به گونه دیگر، به گونه گیاهی و نوع قارچ بستگی دارد و حتی ایزوله‌های یک گونه که از مناطق مختلف جمع آوری شده باشند از نظر درصد کلونیزاسیون اختلاف دارند .

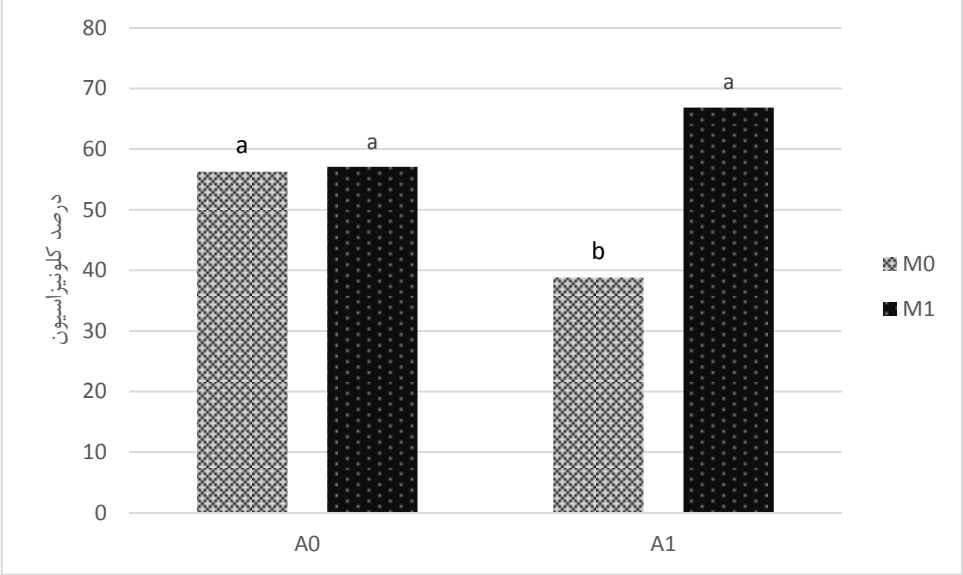
ال کاراکی و همکاران (۲۰۰۱) و گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) در دو آزمایش جداگانه به ترتیب روی گیاهان گوجه فرنگی و نعناع در شرایط مزرعه به این نتیجه دست یافتند که گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزی دارای درصد کلونیزاسیون، عملکرد و جذب عناصر غذایی بالاتری بودند. نتیجه تحقیقات کاپور و همکاران (۲۰۰۲)روی شوید و نوعی زیره مبین آن بود که تلقیح ریشه این دو گیاه با گونه‌های مختلف میکوریزا، موجب افزایش بارز درصد همزیستی ریشه گردید، به نحوی که به طور میانگین میزان این همزیستی در دو گیاه مذکور به ترتیب درحدود ۷۹ و ۷۳ درصد گردید و این در حالی بود که مقدار آن در تیمار شاهد فقط در حدود دو درصد بود. نتایج تحقیقات راتی و همکاران(۲۰۰۱) و آریاگادا و همکاران(۲۰۰۷) درزی و همکاران (۱۳۸۷) به ترتیب روی گیاهان دارویی علف لیمو، اوکالیپتوس و رازیانه نیز مؤید این مطلب است.



شکل ۴-۲ تاثیر سطوح مختلف میکوریزا آرباسکولار بر درصد کلونیزاسیون ریشه نعناع فلفلی

بل و همکاران (۲۰۰۳) گزارش نمودند که کاربرد هم زمان باکتری ازتوباکتر و قارچ میکوریزی اثرات مثبت و سینرژیستی روی گیاه گندم داشت و دلایل آن را تأثیر ازتوباکتر در افزایش رشد ریشه‌های

مویی (وجود ریشه‌های مویی فراوان، زمینه مناسبی را جهت نفوذ قارچ به درون سلول های ریشه فراهم می آورد) و افزایش رشد طولی میسیلیوم های قارچ و نفوذ آنها به لایه‌های زیرین خاک دانسته-اند، که این امر امکان دسترسی گیاه به عناصر غذایی را افزایش می‌دهد. نتایج نشان داد که اثرات سینرژیستی کودهای بیولوژیک (قارچ میکوریزی و ازتوباکتر) باعث افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه، غلظت فسفر و عملکرد ماده خشک و رقیق شدن غلظت برخی از عناصر معدنی گردیده است. امیرآبادی و همکاران (۱۳۸۸) هم در تحقیقی تأثیر کاربرد مایه تلقیح ازتوباکتر و قارچ میکوریزی بر جذب برخی عناصر معدنی توسط ذرت علوفه‌ای (رقم سینگل کراس ۷۰۴) در سطوح مختلف فسفر را بررسی کردند به این نتیجه رسیدند که میکوریزا آرباسکولار به تنهایی و در ترکیب تیماری با ازتوباکتر می‌تواند باعث افزایش کلونیزاسیون شود. که این نتیجه با توجه به شکل ۴-۳ و نتایج حاصل از بررسی حاضر تطابق ندارد.



شکل ۴-۳ اثر متقابل میکوریزا آرباسکولار × ازتوباکتر بر درصد کلونیزاسیون ریشه نعناع فلفلی

۴-۴ کلروفیل

با دقت در جدول تجزیه واریانس (جدول ۴-۱) می‌توان نتیجه گرفت که هیچ کدام از عوامل مورد بررسی بر غلظت کلروفیل برگ نعناع فلفلی تاثیر معنی‌داری نداشته‌اند. ولی بیشترین مقدار کلروفیل

گزارش شده از دستگاه اسپد مربوط به تیمار $v_1m_0a_0$ و کمترین کلروفیل مربوط به ترکیب تیماری $v_2m_0a_1$ می‌باشد.

حسنی و همکاران (۱۳۹۰) نیز که بر روی تأثیر دو گونه قارچ میکوریزا آرباسکولار و (*Glomus intraradices* و *Glomus mosseae*) بر رشد، مقادیر کلروفیل و جذب فسفر در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L*) تحت شرایط تنش خشکی آزمایش می‌کردند به این نتیجه رسیدند که میکوریزا آرباسکولار بر کلروفیل برگ اثر معنی‌داری ندارد.

مفاخری و همکاران (۱۳۹۰) با تحقیقی که بر روی گیاه دارویی بادرشبو انجام دادند به این نتیجه رسیدند که ورمی‌کمپوست باعث افزایش کلروفیل برگ می‌شود. آنان دلیل این امر را این گونه ذکر کردند که: مصرف مقادیر مناسب ورمی‌کمپوست از طریق بهبود فعالیت‌های میکروبی خاک و تولید تنظیم‌کننده‌های رشد توسط این میکروارگانیسم‌ها و نیز در دسترس قرار دادن مقدار بیشتری مواد غذایی برای گیاه، سبب افزایش مقدار کلروفیل برگ، بالا رفتن میزان فتوسنتز و در نتیجه افزایش ماده خشک گیاهی می‌گردد. نتایج بدست آمده در آزمایش آنان با یافته‌های گزارش شده درباره رازیانه، ریحان، نخود (*Cicer arietinum*) و چای مطابقت دارد (هزاریکا و همکاران، ۲۰۰۰، درزی و همکاران، ۲۰۰۶؛ عزیزی و همکاران، ۲۰۰۷؛ الوال، ۲۰۰۴).

۴-۵ درصد اسانس

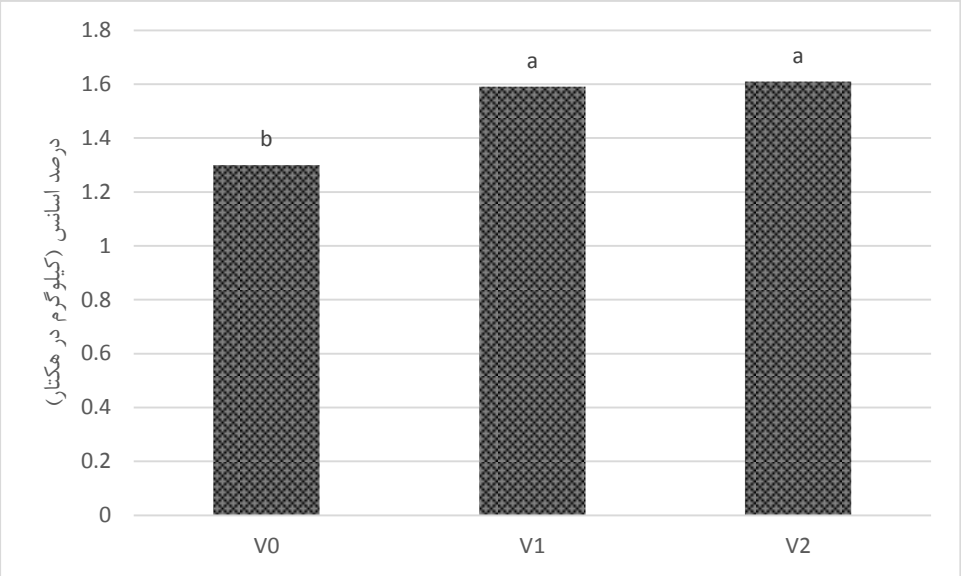
با نگاهی به جدول تجزیه واریانس (جدول ۴-۲) می‌توان نتیجه گرفت که اثر ساده ورمی‌کمپوست در سطح ۵٪ باعث ایجاد اختلاف معنی‌داری در درصد اسانس نعناع فلفلی گردیده است. با توجه به میانگین‌ها می‌توان گفت که تیمار $v_2m_1a_0$ با مقدار ۱/۸۹٪ و تیمار $v_0m_1a_0$ با ۱/۲۹٪ به ترتیب بیشترین و کمترین درصد اسانس را به خود اختصاص دادند.

جدول ۴-۲ جدول تجزیه واریانس اثرات ورمی‌کمپوست، میکوریزا آرباسکولار و ازتوباکتر بر میانگین مربعات صفات کیفی گیاه نعناع فلفلی

منبع تغییرات	df	درصد اسانس	عملکرد اسانس	منتول	منتون
تکرار	۲	۰/۰۱۱	۱۲/۰۷۶	۲/۴۹۲	۰/۱۹۷
ورمی‌کمپوست	۲	۰/۳۵۱*	۶/۷۰۵	۱/۴۲۱	۰/۰۸۱
خطای a	۴	۰/۰۲۴	۳/۳۸۸	۰/۶۳۴	۰/۰۶۴
میکوریزا آرباسکولار	۱	۰/۰۲۵۳	۲/۴۵۴	۰/۱۹۱	۰/۲۷۲
ازتوباکتر	۱	۰/۰۱۶	۳/۰۲۸	۰/۱۱۸	۰/۵۵۰*
ورمی‌کمپوست*میکوریزا آرباسکولار	۲	۰/۰۵۰	۴/۰۹۷	۱/۳۸۱	۰/۰۰۱
ورمی‌کمپوست*ازتوباکتر	۲	۰/۱۶۱	۱۲/۱۲۹	۲/۴۳۸	۰/۴۵۰*
میکوریزا آرباسکولار *ازتوباکتر	۱	۰/۱۰۰	۲/۲۹۰	۰/۸۳۴	۰/۱۰۳
ورمی‌کمپوست*میکوریزا آرباسکولار*ازتوباکتر	۲	۰/۰۱۳	۳/۹۰۰	۰/۸۲۷	۰/۰۶۰
خطای b	۱۸	۰/۱۰۳	۶/۰۷۹	۱/۲۱۲	۰/۱۰۸
٪ضریب تغییرات		۲۱/۳۸	۳۴/۵۴	۳۳/۵۲	۳۶/۵۴

* و **به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

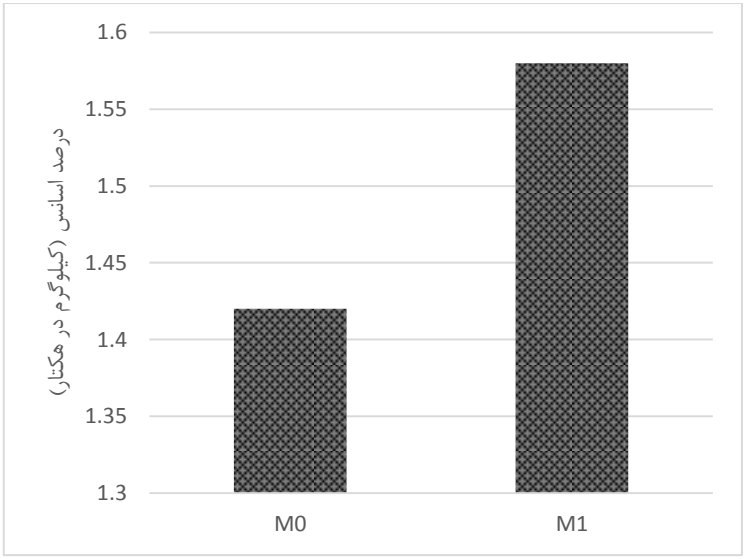
شکل ۴-۴ نشان می‌دهد که بالاترین درصد اسانس مربوط به مصرف ۳ و۶ تن درهکتار ورمی‌کمپوست است که از لحاظ آماری با هم اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهند ولی نسبت به شاهد عملکرد بهتری داشته‌اند.



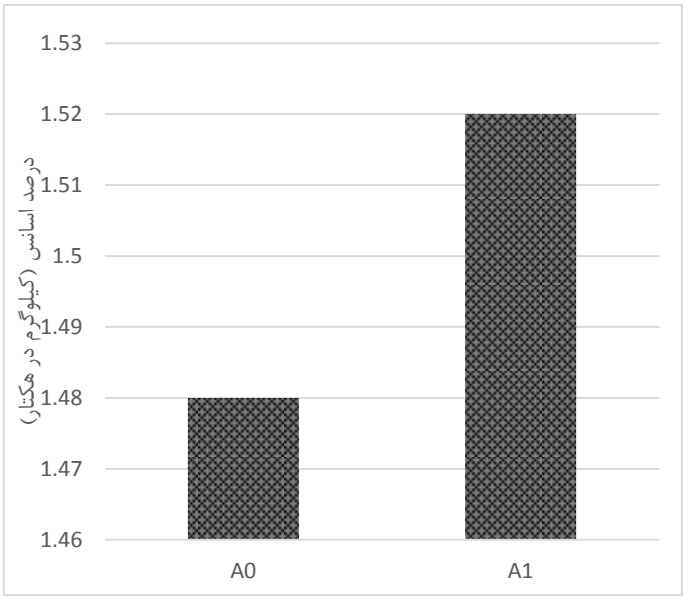
شکل ۴-۴ اثر سطوح مختلف ورمی‌کمپوست بر درصد اسانس نعناع فلفلی

در پژوهشی که با استفاده از مقادیر مختلف ورمی‌کمپوست بر روی گیاه دارویی ریحان صورت گرفت انور و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که مصرف ۵ تن ورمی کمپوست همراه با کود شیمیایی(NPK به میزان ۵۰، ۲۵ و ۲۵ کیلوگرم در هکتار) برتری محسوسی از نظر میزان اسانس نسبت به شاهد داشت. آنها اظهار داشتند که افزودن ورمی کمپوست به خاک نه تنها فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را افزایش داده است بلکه با بهبود شرایط فیزیکی و فرایندهای حیاتی خاک، ضمن ایجاد یک بستر مناسب برای رشد ریشه، موجبات افزایش دسترسی به عناصر معدنی و در نهایت بهبود میزان اسانس را نیز فراهم آورده است. سایر بررسی‌های صورت گرفته نشان داده است که اثر مطلوب ورمی-کمپوست به دلیل بهبود خصوصیات میکروبی و بیولوژیکی محیط کشت (آتیه و همکاران، ۲۰۰۰) و نیز تنظیم pH و افزایش معنی دار ظرفیت نگهداری آب می‌باشد (مک گینیس و همکاران، ۲۰۰۳). نتایج این آزمایش با نتیجه قلاوند و همکاران (۱۳۹۰) که بر روی تأثیر نهاده های زیستی و آلی بر کمیت و کیفیت اسانس و میزان جذب برخی عناصر در گیاه دارویی انیسون(*Pimpinella anisum* *L*.) تحقیق کردند نیز مطابقت دارد و نتایج آزمایش ما را نیز تایید می‌کند.

همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کاربرد میکوریزا آرباسکولار در مقابل عدم کاربرد میکوریزا آرباسکولار و تلقیح گیاه با ازتوباکتر در مقابل عدم‌تلقیح گیاه با ازتوباکتر باعث افزایش درصد اسانس نعناع فلفلی شد ولی این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. شکل‌های ۴-۵ و ۴-۶ این نتیجه را بهتر نشان می‌دهند.



شکل ۴-۵ تاثیر سطوح مختلف میکوریزا آرباسکولار بر درصد اسانس نعناع فلفلی



شکل ۴-۶ تاثیر سطوح مختلف ازتوباکتر بر درصد اسانس نعناع فلفلی

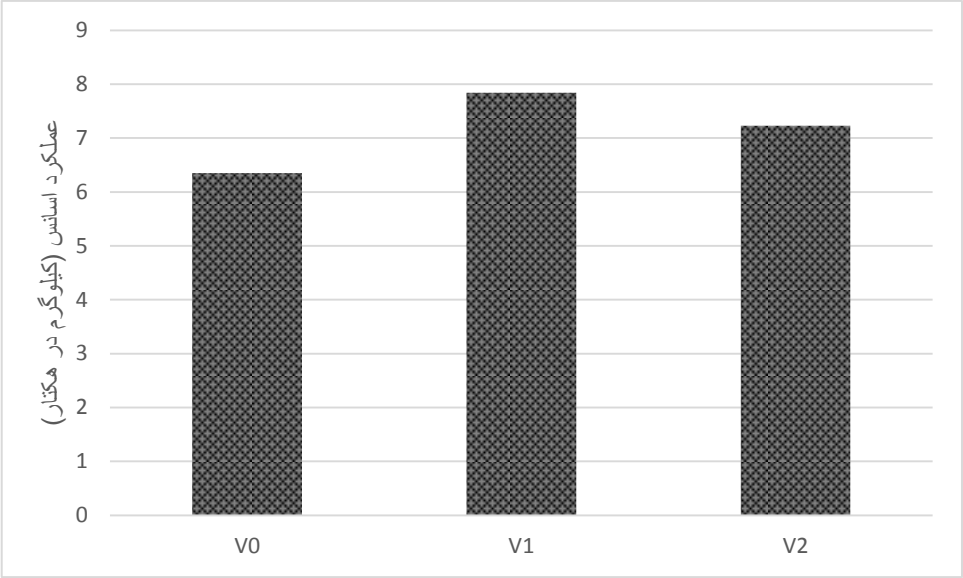
در مطالعه دیگری که روی گیاه دارویی نعناع انجام گرفت گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند، که تلقیح گیاه نعناع با گونه‌ای قارچ VAM به نام (*Glomus fasiculatum*) به طور قابل ملاحظه‌ای میزان اسانس را افزایش داد. آنها دریافتند که همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه گیاه نعناع از طریق افزایش جذب آب و عناصر پر مصرف در بهبود میزان اسانس مؤثر بوده است .

در تفسیر نتیجه حاصل از بهبود میزان اسانس در اثر مصرف مایه تلقیح میکوریزایی، می‌توان اظهار داشت از آنجایی که اسانس‌ها ترکیب‌هایی ترپنوئیدی بوده که واحدهای سازنده آنها (ایزوپرنوئیدها) مانند ایزوپنتنیل پیروفسفات(IPP) و دی متیل آلیل پیروفسفات(DMAPP)، نیاز مبرم به NADPH و ATP دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیبهای اخیر ضروری می‌باشد (لومیس و کورتو، ۱۹۷۲) از این رو همزیستی میکوریزایی از طریق جذب کارآمد فسفر و تا حدودی نیتروژن توسط ریشه رازیانه، موجب افزایش اسانس این گیاه دارویی شد. این موضوع با نتیجه تحقیق کاپور و همکاران (۲۰۰۴) مطابقت دارد.

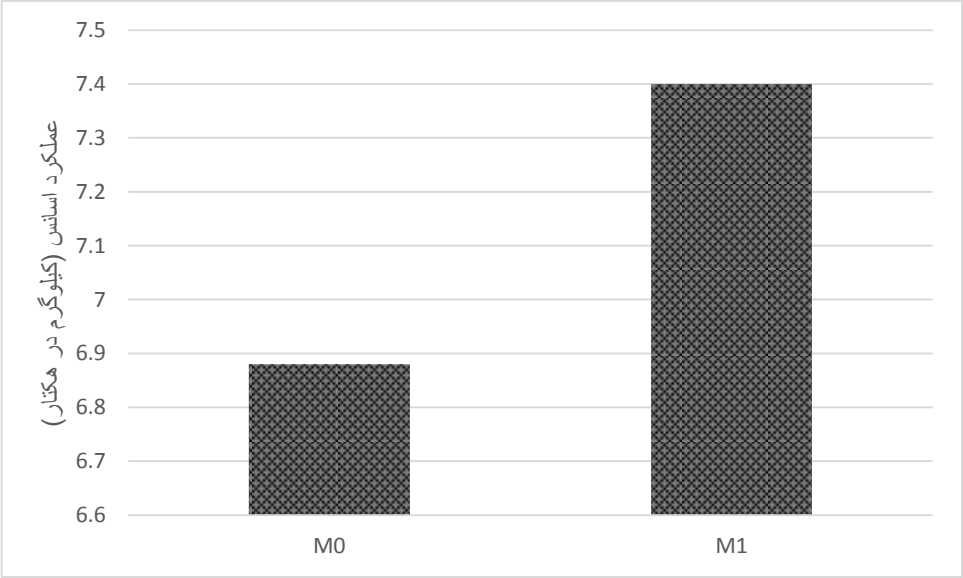
۴-۶ عملکرد اسانس

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۴-۲) نشان می‌دهد که هیچ کدام از عوامل آزمایش نتوانستند بر عملکرد اسانس تاثیر معنی‌داری داشته باشند. با این وجود بیشترین و کمترین عملکرد اسانس به ترتیب مربوط به تیمارهای $v_1m_1a_0$ با ۹/۳۷ کیلوگرم در هکتار اسانس و $v_2m_0a_1$ با ۵/۳۲ کیلوگرم در هکتار اسانس می‌باشد. عملکرد اسانس تیمار $v_1m_1a_0$ که بیشترین عملکرد اسانس را به خود تعلق داده است نسبت به تیمار شاهد ۴۰/۵۵٪ افزایش نشان داد.

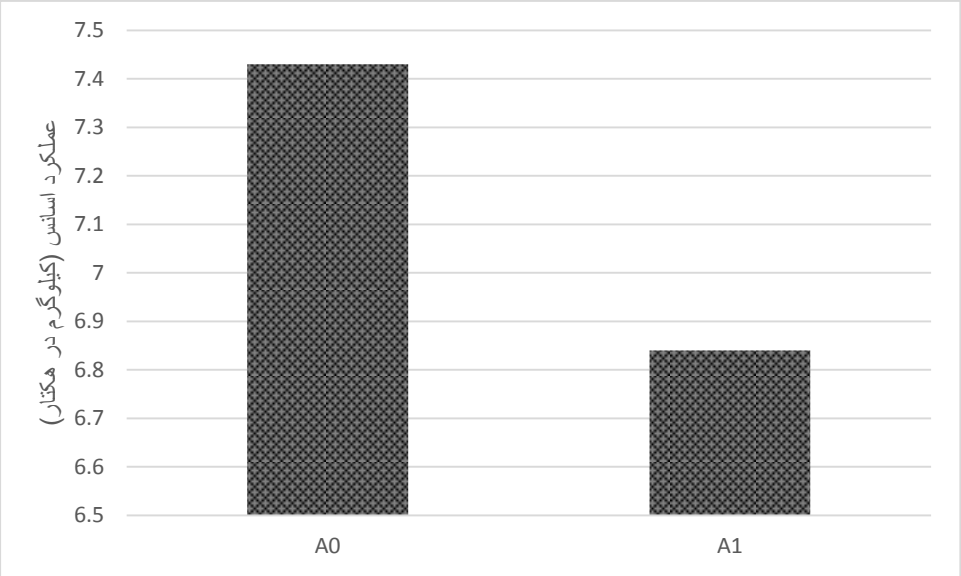
با توجه به شکل‌های ۴-۷، ۴-۸ و ۴-۹ می‌توان نتیجه گرفت که در این آزمایش مصرف ۳ تن در هکتار ورمی‌کمپوست، کاربرد میکوریزا آرباسکولار و عدم تلقیح ازتوباکتر نسبت به تیمارهای دیگر تاثیر مثبت بیشتری بر روی عملکرد اسانس داشتند.



شکل ۴-۷ تاثیر سطوح مختلف ورمی‌کمپوست بر عملکرد اسانس نعناع فلفلی



شکل ۴-۸ تاثیر سطوح مختلف میکوریزا آرباسکولار بر عملکرد اسانس نعناع فلفلی



شکل ۴-۹ تاثیر سطوح مختلف ازتوباکتر بر عملکرد اسانس نعناع فلفلی

در تحقیقی، اثر تیمارهای مختلف کودی بر اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی مورد بررسی قرار گرفت، نتایج این آزمایش نشان داد که عملکرد اسانس در تیمارهای ورمی‌کمپوست، کود گاوی، ازتوباکتر و آزوسپریلیوم با تیمار شاهد (استفاده از کودهای شیمیایی) برابری می کرد (کارلا، ۲۰۰۳).

در آزمایشی در کشور کوبا اثر کودهای زیستی بر دو گیاه دارویی بابونه و همیشه بهار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حکایت از آن داشت که کاربرد این کودها در گیاه همیشه بهار باعث افزایش عملکرد اسانس و بهبود کیفیت دارویی آن شد، در حالی که در بابونه باعث افزایش عملکرد گل شد اما بر کیفیت اسانس اثری نداشت (سانچز گووین، ۲۰۰۵).

در تحقیق دیگری که به همین منظور بر روی نعناع انجام گرفت فریتس و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که تلقیح ریشه این گیاه با چهار گونه میکوریزای VAM سبب افزایش محسوس، میزان اسانس نعناع در مقایسه با تیمار شاهد شد. همچنین محققان یاد شده بهبود تغذیه معدنی گیاه به ویژه فسفر، که از طریق همزیستی میکوریزایی حاصل شده بود را به عنوان دلیل عمده افزایش بارز میزان اسانس ذکر کردند و این درحالی است که کاربرد فسفر معدنی به تنهایی هیچ گونه تأثیری بر بهبود مقدار اسانس در نعناع نداشت .

مطالعه خاوساد و همکاران (۲۰۰۶) هم که با استفاده از یک گونه قارچ VAMبر روی گیاه دارویی مرزنجوش انجام گرفته بود نیز نشان‌دهنده آن بود که مقدار اسانس در این گیاه به طور چشمگیری در مقایسه با شاهد افزایش یافت. در آزمایش دیگری عملکرد اسانس گیاه رازیانه تحت تاثیر ورمی-کمپوست قرار گرفت و در مقایسیه با شاهد افزایش یافت (مرادی و همکاران، ۲۰۱۱).

۴-۷ منتول

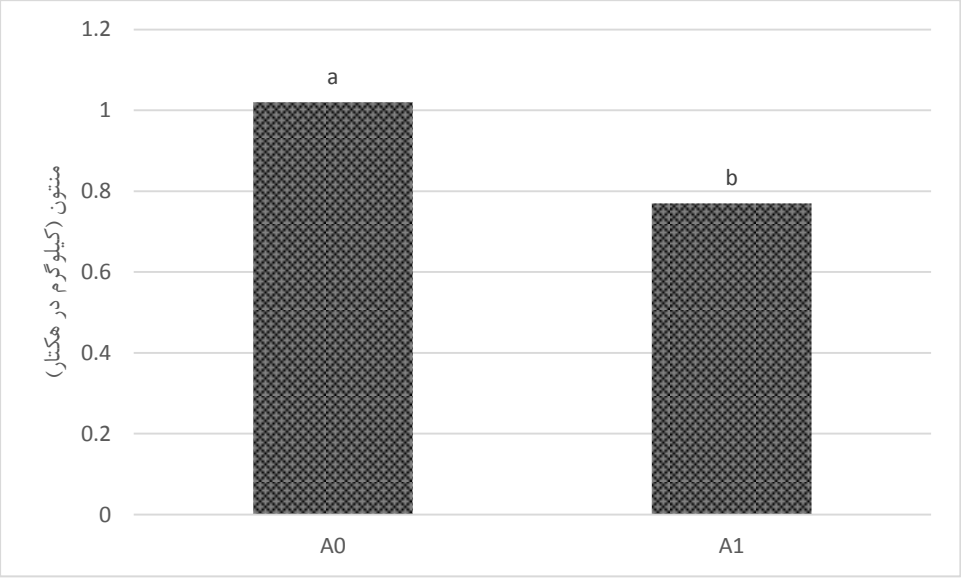
با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۴-۲) می‌توان بیان کرد که اثرات ساده و اثرات متقابل مواد آزمایش هیچ‌کدام نتوانستند باعث ایجاد اختلاف معنی‌داری بر مقدار منتول موجود در اسانس نعناع فلفلی شوند. ترکیب تیماری $v_1m_1a_0$ با مقدار ۴/۳۲ کیلوگرم در هکتار منتول و ترکیب تیماری $v_0m_0a_0$ با مقدار ۲/۵۱ کیلوگرم در هکتار منتول به ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدار منتول در تیمارهای آزمایشی بودند، که با افزایش ۴۹/۹٪ مقدار منتول همراه بوده است.

گراس و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند که همزیستی میکوریزایی از طریق تأثیر بر جذب مناسب عناصر غذایی و بهره‌گیری مطلوب فاکتورهای رشدی توسط رازیانه، موجب افزایش میزان آنتول در اسانس می‌شود. در رابطه با نقش کودهای زیستی بر روی کمیت و کیفیت اسانس رازیانه کاپور و همکاران (۲۰۰۴) نشان، دادند که همزیستی ریشه رازیانه با دو گونه از قارچهای میکوریزای وزیکولار آرباسکولار به طور معنی-داری موجب بهبود میزان اسانس و کیفیت آن می‌شود، به نحوی که میزان ماده ارزشمند آنتول در اسانس در مقایسه با شاهد افزایش می‌یابد ولی میزان فنکون و لیمونن آن کاهش می یابد، که با نتایج آزمایش ما تطابق ندارد.

۸-۴ منتون

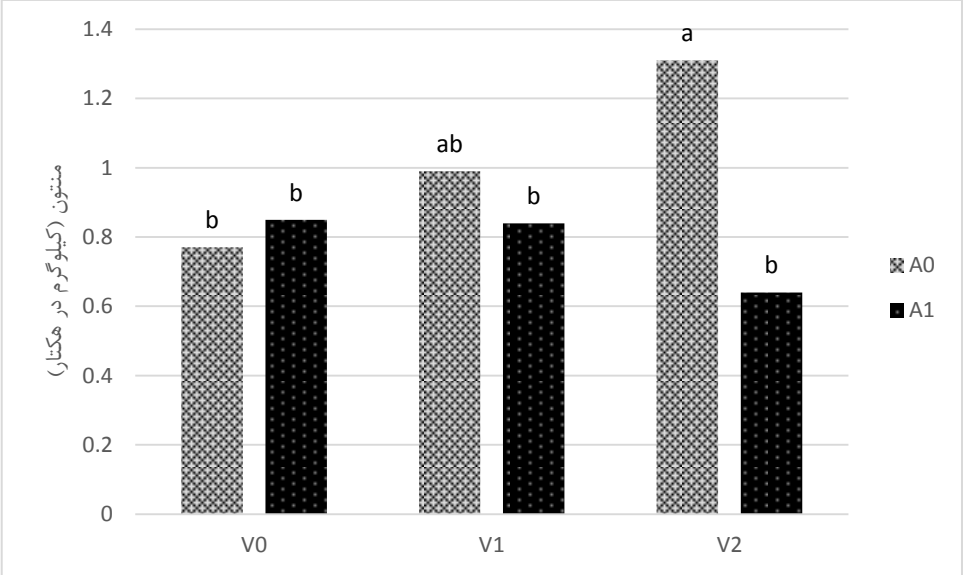
با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۴-۲) می‌توان گفت که اثر ساده ازتوباکتر و اثر متقابل ورمی‌کمپوست× ازتوباکتر (در سطح ۵٪) بر میزان منتون معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها تایید می‌کند که تیمار $v_2m_1a_0$ و $v_2m_0a_1$ به ترتیب با ۱/۴ و ۰/۵۳ کیلوگرم در هکتار منتون دارای بیشترین و کمترین مقدار منتون در هکتار می‌باشند.

با دقت در شکل ۴-۱۰ می‌توان گفت که عدم تلقیح گیاه با ازتوباکتر نسبت به تلقیح گیاه با ازتوباکتر بیشتر باعث افزایش منتون موجود در اسانس می‌شود، پس می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از ازتوباکتر باعث کاهش منتون شده که این موضوع می‌تواند برای کیفیت اسانس مفید باشد. چون همانگونه که در فصل‌های گذشته بیان شد کیفیت اسانس نعناع فلفلی را با مقدار منتول آن می-سنجند، به این صورت که هر چه مقدار منتول در اسانس بیشتر باشد اسانس از کیفیت بالاتری برخوردار است و منتون زیاد در اسانس باعث کاهش کیفیت اسانس از لحاظ دارویی و تجاری می‌شود. در پژوهشی خلیل (۲۰۰۶) نشان داد که استفاده از کودهای بیولوژیک ازجمله *Azotobacter chroococum* ، سبب افزایش معنی دار عملکرد کمی و مواد مؤثره در گیاه دارویی اسفرزه شد که با نتیجه ما برابری می‌کند.



شکل۴-۱۰ تاثیر سطوح مختلف ازتوباکتر بر مقدار منتون اسانس نعناع فلفلی

شکل ۴-۱۱ نشان می‌دهد که مصرف ورمی‌کمپوست در غیاب ازتوباکتر می‌تواند باعث افزایش منتون اسانس شود که این امر از لحاظ کیفی برای اسانس مطلوب نیست.



شکل۴-۱۱ اثر متقابل ورمی‌کمپوست× ازتوباکتر بر مقدار منتون اسانس نعناع فلفلی

در خصوص تأثیر ورمی‌کمپوست بر روی کمیت و کیفیت ماده مؤثره مشاهده شده است که مصرف ورمی‌کمپوست سبب بهبود معنی‌دار مقدار اسانس و کیفیت آن در گیاه دارویی ریحان شد، به نحوی که میزان لینالول و متیل کاویکول موجود در اسانس بیشتر از تیمار شاهد بود (انور و همکاران، ۲۰۰۵).

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان اینگونه استنباط کرد که مصرف ۳ و ۶ تن در هکتار ورمی-کمپوست از لحاظ آماری با هم تفاوتی ندارند و می‌توان هر دو سطوح را برای استفاده پیشنهاد داد. ولی باید به این نکته نیز توجه کرد چون نعناع فلفلی یک گیاه چند ساله است و امکان کودهی در سال‌های بعد وجود ندارد توصیه می‌شود که ۶ تن در هکتار ورمی کمپوست استفاده شود. ولی اگر گیاه ما یک گیاه یکساله باشد برای صرفه جویی در هزینه‌ها می‌توان از سطح ۳ تن در هکتار ورمی-کمپوست استفاده کرد.

در تفسیر نتایج متوجه شدیم که ازتوباکتر می‌تواند نقش تعیین کننده‌ای در کیفیت اسانس بازی کند و باعث افزایش آن شود. بنابراین توصیه می‌شود که اگر نعناع فلفلی برای استفاده از اسانس کاشته می‌شود از ازتوباکتر هم برای تیمار آن استفاده گردد تا اسانس بدست آمده از کیفیت بهتری برخوردار باشد.

پیشنهادات

به دلیل چندساله بودن گیاه نعناع فلفلی و با توجه به نتایج علمی و عملی بدست آمده پیشنهاد می‌گردد که این آزمایش در سال‌های بعد هم ادامه باید. چون محققان معتقدند که نعناع فلفلی در سال‌های دوم و سوم نتایج بهتری را از خود در کنار کودهای زیستی نشان می‌دهد.

می‌توان از سطوح دیگر ورمی‌کمپوست نیز استفاده کرد، و مشاهده نمود که این سطوح چه نتایجی را از خود نشان می‌دهند.

همان طور در فصل ۴ گفته شد سویه‌های مختلف قارچ میکوریزا می‌توانند نتایج متفاوتی را از خود نشان دهند، بر همین اساس توصیه می‌شود که از سویه‌های دیگر قارچ میکوریزا نیز در آزمایشات مشابه استفاده شود.

مکان‌های جغرافیایی هم یک از پارامترهایی است که می‌تواند در انجام آزمایشات علمی تعیین-کننده باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد که این آزمایش در مکان‌های جغرافیایی دیگر نیز انجام شود و نتایج بدست آمده از آن با نتایج حاصل از آزمایش ما مورد مقایسه قرار گیرد.

منابع

اردکانی م. ر، (۱۳۸۰) " **اکولوژی**". انتشارات دانشگاه تهران، تهران. ۲۵۶ صفحه.

آزادبخت م، (۱۳۷۸) " **رده بندی گیاهان دارویی**". موسسه فرهنگی انتشارات تیمورزاده، تهران. ۴۰۱ صفحه.

اکبری‌نیا ا، قلاوند ا، سفیدکن ف، رضایی م.ب و شریفی عاشورآبادی ا، (۱۳۸۲) "**بررسی تاثیرکودهای شیمیایی، دامی و تلفیقی بر عملکرد و میزان ترکیبات اسانس دانه گیاه دارویی زنیان**". پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی، شماره۶۱: ص ۳۲-۴۱.

امیدبیگی ر، (۱۳۷۳) " **کشت گیاهان دارویی و نکاتی مهم پیرامون آن**". مجله رازی، شماره ۷: ص ۲۴-۳۹

امیدبیگی ر، (۱۳۷۴) " **رهیافتهای تولید و فراوری گیاهان دارویی**". جلد اول. انتشارات بنیاد جانبازان. ۲۸۳ صفحه.

امید بیگی ر، (۱۳۷۵) " **داروهای گیاهی از گذشته تا کنون** " مجله صنایع آرایشی و بهداشتی، شماره ۱۹، ص ۳۶-۶۵.

امیدبیگی ر، (۱۳۷۹) " **رهیافت های تولید و فراوری گیاهان دارویی**". جلد اول. چاپ اول. ویرایش دوم. انتشارات آستان قدس رضوی، ۲۸۳ صفحه.

امید بیگی ر، (۱۳۸۴) " **تولید و فراوری گیاهان دارویی** " جلد اول، چاپ دوم، انتشارات آستان قدس رضوی، ۳۴۷ صفحه.

آینه‌چی ی، (۱۳۶۵) " **مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران**"، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۱۹۴ صفحه.

بهمنیار ش، (۱۳۸۹) " **نعناع فلفلی یک گیاه دارویی با ارزش**".مجله کشاورزی و توسعه پایدار، شماره ۳۰ و ۳۱.

تبریزی ل، کوچکی ع، و قربانی ر، (۱۳۸۷) " **ارزیابی اثر کودهای بیولوژیکی بر ویژگی‌های رشد، عملکرد و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا**" مجله پژوهش‌های زراعی ایران، شماره ۶ دوره ۱: ص ۱۲۶-۱۳۶.

جامی الاحمدی م، کامکار ب، و مهدوی دامغانی ع، (۱۳۸۵) "**کشاورزی، کود و محیط زیست**". چاپ اول، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.

جایمند ک و رضایی م، (۱۳۸۵) "**دستگاههای تقطیر، روش های آزمون و شاخص بازداری در تجزیه اسانس**". انجمن گیاهان دارویی، ۳۵۰ صفحه.

جهان م و نصیری محلاتی م، (۱۳۹۱) " **حاصلخیزی خاک و کودهای بیولوژیک**". انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ۲۵۰ صفحه.

حق پرست تنها م، (۱۳۷۲) "**خاکزیان و خاک های زراعی**". انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، ص ۸۳-۹۸.

خاوازی ک، اسدی رحمانی ه و ملکوتی م، (۱۳۸۴) " **ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور**" چاپ اول، انتشارات سنا، تهران، ۶۱۰ صفحه.

خرم‌دل س، (۱۳۸۷)، پایان‌نامه کارشنای‌ارشد زراعت: " **اثر کودهای بیولوژیک نیتروژن و فسفر بر خصوصیات کمی سیاهدانه**" ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

درزی م، قلاوند ت.ا و رجالی ف، (۱۳۸۷)"**بررسی اثر کاربرد میکوریزا، ورمی‌کمپوست و کود فسفات زیستی بر گلدهی، عملکرد بیولوژیک و همزیستی ریشه، در گیاه دارویی رازیانه**"مجله علوم زراعی ایران، شماره ۱۰دوره ۱: ص ۸۸-۱۰۹.

سفید کن ف، شریفی عاشورآبادی ا، لباسچی م.ح، میرزا م، ابراهیمی ع، جایمند ک، نجف پور نوایی م.د، باهرنیک ز، عسگری ف، نجفی آشتیانی ا و عباس زاده ب، (۱۳۸۷) " **برنامه راهبردی گیاهان دارویی. موسسه جنگلها و مراتع** ".

رجالی ف، صالح‌راستین ن، ملکوتی م.ج. و علیزاده ع، (۱۳۸۲) **" بررسی پتانسیل همزیستی قارچ-های میکوریزا آرباسکولار و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در برخی دیمزارهای گندم استان آذربایجان شرقی"** مجله علوم آب و خاک، شماره ۱۷، دوره ۱: ص ۸۰-۸۹.

زرگری ع، (۱۳۶۹) **"گیاهان دارویی.جلد چهارم"** چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه تهران.

سماوات س، لکزیان ا و ضمیرپور ع، (۱۳۸۰) **" تاثیر ورمی‌کمپوست بر روی شاخص های رشد گیاه گوجه فرنگی"** مجله علوم و صنایع کشاورزی، شماره ۲، دوره ۱۵: ص ۸۹-۹۳.

شولتس، هارت ویک. کروگر، هانس، (۱۳۸۰) **" آشنایی با نعناع و نعناع فلفلی (اصول به نژادی، کاشت، داشت، برداشت و عمل آوری)"**. مقاله، نشر خورنوش.

شیرانی ا، علیزاده ع و هاشمی دزفولی ا،(۱۳۷۹) **"بررسی اثر قارچ آربوسکولار مایکوریزا، فسفر و تنش خشکی بر کارآیی جذب عناصر غذایی در گیاه گندم"** مجله نهال و بذر، شماره ۱۶: ص ۳۴۹-۳۲۷.

صالح‌راستین ن، (۱۳۸۴) **" مدیریت پایدار از دیدگاه بیولوژی خاک. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور"** (مجموعه مقالات- چاپ دوم). انتشارات سنا، تهران، ایران. صفحه ۵-۳۱.

صالحی سورمقی م،(۱۳۸۹)**"گیاهان دارویی و گیاه درمانی"**، چاپ سوم، انتشارات دنیای تغذیه.

صباحی ح، میرزایی تالارپشتی ر، فرزانه س و مهدوی دامغانی ع، (۱۳۸۰) **"کتاب جامع کودهای زیستی"** (ترجمه)، انتشارات دانشگاه شهید بهشتی، ۶۵۰ صفحه.

ضیائی ع، (۱۳۸۱) **" تاریخچه طب گیاهی "** فصلنامه گیاهان دارویی، شماره۲، ص ۴۳-۵۱.

عباس زاده ب، (۱۳۸۴)، پایان نامه کارشناسی ارشد: **" تاثیر سطوح مختلف و روش های مصرف کود نیتروژن بر میزان اسانس بادرنجبویه "** ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

غلامی ا و کوچکی ع، (۱۳۸۰) **"میکوریزا در کشاورزی پایدار"** (ترجمه) انتشارات دانشگاه شاهرود، شاهرود، ۲۱۲ صفحه.

قلاوند ا، خالص رو ش، سفیدکن ف و اصغرزاده ا، (۱۳۹۰) **" تاثیر نهاده‌های زیستی و آلی بر کمیت و کیفیت اسانس و میزان جذب عناصر در گیاه دارویی انیسون (*Pimpinella anisum L.*)** ". فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، شماره ۲۷ دوره ۴: ص ۵۵۱-۵۶۰.

قلی‌زاده آ، (۱۳۸۳)، پایان نامه ارشد: **" تاثیر تنش خشکی و مصرف زئولیت طبیعی بر خصوصیات فیزیومورفولوژیکی گیاه دارویی بادرشبی (*Drococephalum moldavica*)"**، ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان.

کریمی‌زارچی م و کلباسی م ، (۱۳۷۸) **" بررسی هوادهی و مخلوط کردن بر فرآیند تولید کمپوست و کیفیت کمپوست تولیدی از زباله های شهری"** ششمین کنگره علوم خاک ایران، مشهد، ص ۷.

گل مکانی ت، (۱۳۸۶)، پایان نامه دوره کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی: **"اثر روش‌های مختلف استخراج(تقطیر با آب، به کمک ماکروویو و به کمک امواج مافوق صوت) بر راندامان استحصال اسانس آویشن باغی و شیرازی و مقایسه کیفی اسانس های استخراج شده"**، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران.

لکزیان ا، شیبانی س، بهادریان م و شاددل ل، (۱۳۸۳) **"میکروبولوژی خاک"**(ترجمه)، انتشارات سخن‌گستر، مشهد، ۵۵۵ صفحه.

محبوب خمامی ع، (۱۳۸۳) **"اثر کود بیولوژیکی مایع به صورت اسپری برگی بر تغذیه و شاخص های رشد دیفن باخیا و آگلونما"** پژوهشنامه علوم، ص۱۸۴ -۱۸۸.

مکی زاده تفتی م، چایی چی م.ر، نصرالله زاده ص و خاوازی ک، (۱۳۹۱) **" اثر کاربرد منابع مختلف نیتروژن بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه مرزه "**فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران جلد ۲۸، شماره ۲: ۳۳۰-۳۴۱.

نادری بروجردی غ، (۱۳۸۰) **"گیاهان دارویی"** جلد اول، مرکز تحقیقاتی گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی اراک، ۲۳۸ صفحه.

نیکخواه ف، (۱۳۸۷)، پایان نامه کارشناسی ارشد: **"اثر زمان برداشت و استخراج بر کمیت و کیفیت اسانس سه گونه آویشن (*T.vulgaris, T. pubescens, Thymus daenensis*)"**، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

Aflatuni A. (2005) **"The Yield and Essential Oil Content of Mint (*Mentha Ssp*) in Northern Ostrobothnia"** Dissertation (Master)- University Of Oulu, Finland.

Ahmad F. Ahmad I. and Khan M.S. (2005) **"Indole Acetic Acid Production by Indigenous Isolated of Azotobacter and Fluorescent Pseudomonas in The Presence and Absence of Tryphtophan"** Turk.J. Boil., 29: pp29-34.

Al-Karaki G. N. and Hammad R.(2001) **"Mycorrhiza Influence on Fruit Yield and Mineral Content of Tomato Grown under Salt Stress"** Journal Plant Nutrition., 24: pp1311-1323.

Al-Karaki G.N. Mcmichael B. and Andzak L. (2004) **"Field Response of Wheat to Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Drought Stress"** Mycorrhiza 14(4): pp263-369.

Anwar M. Patra D.D. Chand S. and Khanuja S.P.S. (2005) **"Effect of Organic Manures and Inorganic Fertilizer on Growth, Herb and Oil Yield, Nutrient Accumulation, and Oil Quality of French Basil"**

Communications in Soil Science and Plant Analysis., 36(13-14): pp1737-1746..

Arancon N.Q. Edwards C.A. and Dick L. (2007) **"Vermicompost Tea Production and Plant Growth Impact"** Biocycle., 48: pp51-52.

Arguello J.A. Ledesma A. Nunez S.B. Rodriguez C.H. and Goldfarb M.D.D. (2006) **"Vermicompost Effects on Blubbing Dynamics, Nonstructural Carbohydrate Content, Yield, and Quality of Rosado Paragay Garlic"** Hort. Sci., 4(3): pp589-592.

Arriagada C. A. Herrera M. A. and Ocampo J. A. (2007) **"Beneficial Effect of Saprobe and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth of Eucalyptus Globules Co-Cultured with Glycine Max in Soil Contaminated with Heavy Metals"** J. Environmental Management., 84: pp93-99.

Arun K.S. (2002) **"A Handbook of Organic Farming"**, Pub. Agrobios, India.

Ashton F.M. and Crafts A.S. (1973) **"Mode of Action of Herbicides"** . John Wiley and Sons, New York.

Atiyeh R.M. Edwards C.A. Subler S. and Metzger G.D. (2000) **"Earthworm-Processed Organic Wastes as Components of Horticultural Potting Media for Growing Marigold and Vegetable Seedlings"** Compost Science and Utilization, 8(3): pp215-223.

Atiyeh R.M. Subler S. Edwards C.A. Bachman G. Metzger J.D. and Shuster W. (2000) **"Effects of Vermicomposts and Compost on Plant Growth in Horticultural Container Media and Soil"** Pedobiologia. 44: pp579–590.

Azizi M. Rezwanee F. Hassanzadeh Khayat M. Lackzian A. and Neamati H. (2008) **"The Effect of Different Levels of Vermicompost and Irrigation on Morphological Properties and Essential Oil Content**

of German Chamomile (*Matricutria Vecutitia*)" Iranian Journal of Medicinal and Aromatocic Plants., 1: pp82-93.

Azizi M. Lakzian A. and Bagani M. (2007). **"Effect of Different Amount of Vermicompost and Vermivash on Morphological Factors and Essential Oil Content Of Basil"** . Agricultural Sciences., 2: pp5-8.

Badran F.S. and Safwat M.S. (2004) **"Response of Fennel Plants to Organic Manure and Bio Fertilizers in Replacement of Chemical Fertilization"** Egytian Journal of Agriculture Research., 82(2): pp247-256.

Bagayoko M. George E. Romheld V. and Buerkert A. (2000) **"Effects of Mycorrhiza and Phosphorus on Growth and Uptake of Millet, Cowoea and Sorghum on Western African Soil"** . J. Of Sci. Cambridge., 135, pp399-407.

Barea J.M. Azon R. and Azcon-Aguilar C. (1992) **"Vesicular Mycorrhizal Fungi in Nitrogen- Fixing Systems"** Methods Microbial., 24: pp392-416.

Barrios E. (2007) **"Soil Biota, Ecosystem Services and Land Productivity"** Ecol. Econ., 64: pp269-285.

Baser K.H.C. (1999) **" Industrial Utilization of Medicinal and Plants"** Acta. Hort., 503: pp177-192.

Behl R. K. Sharma H. Kumar V. and Singh K. P. (2003) **"Effect of Dual Inoculation of VA Mycorrhiza and Azotobacter Chroococcum on Above Flag Leaf Characters in Wheat"** Agronomy and Soil Science., 49: pp25–31.

Bernath j. (1995) **" medicinal plants"** vol. 3, jowhar offset press, india, no. 205.

Bethlen Faivay G.J. and Newton W.E. (1991) **"Agro-Ecological Aspects of The Mycorrhizae Nitrogen- Fixing Legume Symbiosis"** . pp349-354.

Bethlen Falvay G.J. (1992) **"Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Nitrogen Fixing Legumes: Problems and Prospects"** Methods Microbial., 24: pp375-389.

Biyari A. Gholami, A. and Asadi Rahmani H. (2008) **"Sustainable Production and Improvement of Nutrient Absorption by Maize in Reaction to Seed Inoculation by PGPR"** , Proceeding of The 2nd National Iranian Agroecology Conference, Gorgan, Iran, P. 8. (In Persian).

Blumenthal M. The Complete German Commission E Monographs: **"Therapeutic Guide to Herbal Medicines"** . Austin: American Botanical Council, 1998.

Bonfante P. and Perotto S. (1995) **"Strategies of Arbuscular Mycorrhiza Funfi When Infecting Host Plants"** New Phytologist ., 130: pp3-21.

Carletti S. (2002) **"Use of Plant Growth-Promoting Rhizobacteran in Plant Micro Propagation"** Available in Urll: Htpp:// Www.Ag.Auburn.Edu/Arjentina/Pdf. Manusceipts/Corlett.Pdf.

Carrubba A. La Torre R. and Matranga A. (2002) **"Cultivation Trials of Some Aromatic and Medicinal Plants in A Semi-Arid Mediterranean Environment"**, Proceedings of an International Conference On MAP, Acta Horticulture (ISHS).

Cavagnaro T.R. (2008) **"The Role Arbuscular Mycorrhizas in Improving Plant Zinc Nutrition under Low Soil Zinc Concentration"**.Areview. J. of Plant Soil., 304: pp315-325.

Chaoui H.I. Zibilske L.M. and Ohno T. (2003) **"Effects of Earthworm Casts and Compos on Soil Microbial Activity and Plant Nutrient Availability"** Soil Bio. and Biochem., 35: pp295-302.

Chatterjee S.K. (2002) **"Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants in India a Commercial Approach"** Proceedings of an International Conference on MAP, Acta Horticulture (ISHS)., 576: pp191-202.

Chaudhary V. Kapoor R. and Bhatnagar A.K. (2008) **"Effectiveness of Two Arbuscular Mycorrhiza Fungi on Concentrations of Essential Oil and Artemisinin in Three Accessions of Artemisia Annnua L"** Appl. Soil Ecol., 40: pp174-181.

Chen J. (2006) **"The Combined Use of Chemical and Organic Fertilizers and/or Biofertilizer for Crop Growth and Soil Fertility"** International Workshop on Sustained Management of The Soil-Rhizosphere System For Efficient Crop Production And Fertilizer Use, 16-20 October, Thailand, 11p..

Copetta A. Lingua G. and Berta G. (2006) **"Effects of Three AM Fungi on Growth, Distribution of Glandular Hairs, and Essential Oil Production in *Ocimum Basilicum L.* Var. Genovese"** Mycorrhiza., 16: pp485-494.

Crume A. (1998) **"Azotobacter Soil Microbiology"** Available in Urll: Http:// Www.Biol_Cses%20204684%20/20 Azotobacter.Htm.

Dai J. Orsat V. Raghavan G.S.V. and Yaylayan V. (2010). **"Investigation of Various Factors For The Extraction of Peppermint (*Mentha Piperita L.*) Leaves"**. J. Food Engineering., 96(3): pp540.

Darzi M. Ghalavand A. and Rejali F. (2008) **"Effect of Mycorrhiza, Vermicompost and Phpsphate Biofertilizer Application on Flowing, Biological Yield and Root Colonization in Fenel (*Feoniculum Vulgare*)"** Iranian Journal of Crop Sciences., 10(1): pp88-109.

Darzi M.T. Ghalavand A. Rejali F. and Sefidkon F. (2006) **"Effect of Biofertilizers Application on Yield and Yield Components in Fennl (*Foeniculum Vulgare*Mill.)"** Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants., 22(4): pp276-292.

Dash M.C. and Petra U.C. (1979) **"Wormcast Production and Nitrogen Contribution to Soil by a Tropical Earthworm Population from a Grassland Site in Orissa India"** Rev. Ecol. Biol. Sol., 16: pp79–83.

Eccles R. (1994) **"Menthol Cooling Compounds"** . J. Pharm.Pharmacol., 46(6): pp18-30

El-Ghadban E.A.E. Shalan M.N. and Abdel. Latif T.A.T. (2006) **"Influence of Biofertilizers on Growth, Volatile Oil Yield and Conctituents of Fennel (*Foeniculum Vulgare Mill*)"** Egyptian Journal of Agriculture Research., 84(3): pp977-992.

Elliott E.T. and Coleman D.C. (1988) **"Let The Soil Work for us"** Ecol. Bull.,39: pp23- 32.

Farahani H.A. Labaschi M.H. and Hamid A. (2008) **"Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Phosphorus and Water Stress on Quantity and Quality Characteristics of Coriander"** Adv. in Natural and Appl.Sci., 2(2): pp55-59.

Foster S. (1996) **"Peppermint: *MenthaPiperita* "** , American Botanical Council-Botantical Series., 306: pp3-8.

Foster S. (1990,) **"Peppermint, Mentha Piperita"**, in Botanical Series; American Botanical Council: Austin, Tx, 306.

Freitas M.S.M. Martins M.A. and Vieira E.I.J.C. (2004) **"Yield and Quality of Essential Oils of Mentha Arvensis in Response to Inoculation with Arbuscularmycorrhizal Fungi"** Pesquisa Agropecuaria Brasileira., 39(9): pp887-894.

Galli E. Tomati U. Grappelli A. and Di Lena G. (1990) **"Effect of Earthworm Casts on Protein Synthesis in Agaricus Bisporus"** Biol. Fertil. Soils., 9: pp290–291.

Ghost B.C. and Bhat R. (1998) **"Environmental Hazards of Nitrogen Loading in Wetland Rice Fields"** Environ. Pollut., 102: pp123– 126.

Gianinazzi S. Gollette A. Binet M.N. Tuinen D. and Redecke D. (2010) **"Aroecology: The Key Rolle of Arbuscular Mycorrhiza in Ecosystem Services"** Mycorrhiza., 20: pp519- 530.

Gibbs M. and Carson (Ed) C. (1985) **"Crop Productivity- Research Imperatives Revisited"** an International Conference Held at Boyne High Lands Inn, Mi., 13-18, Ct- 1985.

Glenn R.D. Mallesh B.C. Kubra B. and Bagyaraj D.J. (1992) **"Influence of Vermicompost Application on The Available Macronutrients and Selected Microbial Populations in a Paddy Field"** Soil Biology and Biochemistry., 24: pp1317–1320.

Gliessman S.R. (1998), **"Arroecology: Ecological Processs in Sustainable Agriculture"**, Coc Press. Isbn: 1-5750 4-043-3.

Gosling P. Hodge A. Googlass G. and Bending G.D. (2006) **"Arbuscular Mycorrhiza Fungi and Organic Farming"** Agriculture, Ecosystems and Environment., 113: pp17- 35.

Griffe P. Metha S. and Shankar D. (2003) **"Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye-Yielding Plants (Madps)"** Forward, Preface and Introduction, FAO.

Gross M. Friedman J. Dudai N. Larkov O. Cohen Y. and Bar E. (2002) **"Biosynthesis of Estragole and T-Anethole in Bitter Fennel (*Foeniculum Vulgare Mill. Var. Vulgare*) Chemotypes. Changes in SAM: Phenylpropene O-Methyltranferase Activities During Development"** Plant Science., 163: pp1047-1053.

Gupta M. L. Prasad A. Ram M. and Kumar S. (2002) **"Effect of The Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungus Glomus Fasciculatum on The Essential Oil Yield Related Characters AndNutrient Acquisition in The Crops of Different Cultivars of Menthol Mint (*Mentha Arvensis*) Under Field Conditions"** Bioresource Technology., 81: pp77-79.

Gupta S. Arora D.K. and Srivastava A.K. (1995) **"Growth Promoting of Tomato Plants by Rhizobacteria and Imposition of Energy Stress on Rhizoctonia Solani"** Soil Biology and Biochemistry., 27(8): pp1051-1058.

Han H, Supanjani K, and Lee D. 2006. **"Effect of Coinoculation with Phosphate and Potassium Solubilizing Bacteria on Mineral Uptake and Growth Of Pepper and Cucumber"**, Plant Soil Environ; 52 (3): pp130 - 6.

Han H.S. and Lee K. D. (2006) **"Effect of Coculation with Phosphate and Potassium Co-In Solubilizing Bacteria on Mineral Uptake and Growth of Pepper and Cucumber"** Plant, Soil and Environment., 52: pp130- 136.

Hazarika D. K. Taluk Dar N. C. Phookan A. K. Saikia U. N. Das B. C. and Deka P. C. (2000) **"Influence of Vesicular Arbascular Mycorrhizal Fungi and Phosphate Solubilizng Bacteria on Nursery Establishment and Growth of Tea Seedlings in Assam"** Symposium No. 12, Assam Agricultural University, Jorhat- Assam, India.

Hinsinger P. (2001) **"Bioavailability of Soil Inorganic P in The Rhizosphere as Affected by Root- Induced Chemical Changes: a Review"** Plant And Soil., 237: pp173-195.

Hungria M. Andrade D.S. Colozzi-Filho A. and Balota E.L.. (1997) **"Interacao Entre Microrganismos Do Solo, Feijoeriro E Milho Em Monoculture Consorcio"** Pesquisa Agrogecuaria Brasileira., 32: pp807-818.

Ievinsh G. (2011) **"Vermicompost Treatment Differentially Affects Seed Germination, Seedling Growth and Physiological Status of Vegetable Crop Species"** Plant Growth Regul., 64: pp169-181.

Inoue S. Kheoruenromne I. Suddhiprakarn A. and Thanachit S. (2009) **"Effects of Arbuscular Mycorrhiza Fungi on Phosphorus Uptake and Growth Pf Baby Corn on a Sandt Soil"** Departemant of Soil Science, Faculty Of Agriculture. Kasetsart University, Babgkok, 10900.

Ismail S. (1996) **"Vermitech (Vemicompost and Vermivash)"** Ins. of Resear. In Soil Bio. and Biotech. Tamil Nadu. India.

Jat R. S. and Ahlawat I. P. S. (2004) **"Effect of Vermicompost, Biofertilizer and Phosphorus on Growth, Yield and Nutrient Uptake by Gram (*Cicer arietinum*) and Their Residual Effect on Fodder Maize (*Zea mays*)"** Indian Journal of Agricultural Sciences., 74(7): pp359-361.

Jeffries P. Gianinazzi S. Peretto S. Turnau K. and Barea J.M. (2003) **"The Contribution of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Sustainable Maintenance of Plant Health and Soil Fertility"** Biolfertil. Soil., 3: pp1-16.

Kader M.A. Main M.H. and Hoque M.S. (2002) **"Effects of Azotobacter Inoculant in The Yield and Nitrogen Uptake by Wheet"** Online. Biologic Science,. 2(4) : pp259-261.

Kalra A. (2003), **"Organic Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants. a Hope For Sustainability and Quality Enhancement. Journal of Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye-Yielding Plants (Madps)"** , FAO, 198p.

Kapoor R. Giri B. and Mukerji K. G. (2002) **"*Glomus Macrocarpum*: a Potential Bioinoculant to Improve Essential Oil Quality and Concentration in Dill (*Anethum Graveolens L.*) and Carum (*Trachyspermum Ammi Sprague*)"** World J. Microbiol. Biotechnol., 18: pp459-463.

Kapoor R. Giri B. and Mukerji K.G. (2004) **"Improved Growth and Essential Oil Yield and Quality in Foeniculum Vulgare Mill on**

Mycorrhizal Inoculation Supplemented with P-Fertilizer" Bioresource Technology., 93: pp307-311.

Kennedy I.R. Choudhury A.T.M. and Kecske's M.L. (2004) **"non-Symbiotic Bacterial Diazotrophs in Crop- Farming Systems: Can Their Potential for Plant Growth Promotion be Better Exploited?"** Soil Boil. Biochem. 26: 1229-1244.

Khalid A. Arshad M. and Zahir A.Z. (2004) **"Screening Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Improving Growth and Yield of Wheat"** Journal of Applied Microbiology., 96(3): pp473-480.

Khalil M.Y. (2006) **"how-far Would Plantago Afra L. Respond to Bio and Organic Manures Amendements"** Research Journal of Biological Sciences., 2(1): pp12- 21.

Khaosaad T. Vierheilig H. Nell M. Zitterl-Eglseer K. and Novak J. (2006) **"Arbuscular Mycorrhiza Alter The Concentration of Essential Oils in Oregano (*Origanum Sp., Lamiaceae*)"** Mycorrhiza., 16: pp443-446.

Kokalis-Buerelle N. Kloepper J.W. and Reddy M.S. (2006) **"Plant Growth-Promoting Rhizobacteria as Transplant Amendments and Their Affects on Indigenous Rhizosphere Icroorganisms"** Journal of Applied Soil Ecology., 31: pp91-100.

Kuepper G. (2000). **"Manure a for Organic Crop Production"** . Attar. Fayetteville. ar 72702 Available Onling (July 2004) Ato: Www.Attra.Org/Attra-Pub/Manur, Htm.

Kumar A. Samarth R. M and Yasmeen S. (2004) **"Anticancer and Radioprotective Potentials of Mentha Piperita L"** Biofactors., 22 (1-4): pp87 - 91.

Lakshminarayana K. (1993) **"Influence of Azotobacter on Nutrition of Plant and Crop Productivity"** Proc. Indian. Nat. Sci. Acad., 59: pp303–308.

Lazcano C. and Dominguez J. (2011) **"The Use of Vermicompost Sustainable Agriculture", Nova Science Publishers, Inc, ISBN 978-1-61324-785-3.**

Leung A.Y and Foster S. (1996) **"Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs and Cosmetic"** John Wiley and Sons. Pp: 369 - 70.

Loomis W.D. and Corteau R. (1972) **"Essential Oil Biosynthesis"** . Recently Advance Phytochem., 6: pp147- 185.

Lucy M. Reed E. and Bernard R. (2004) **"Applications of Free Living Plant Growth- Promoting Rhizobacteria"** Antonie Van Leeuwenhook., 86: pp1-25.

Luic J. and Pankb. (2005) **" Effect of Vermicompost and Levels on Growth and Oil Yield of Roman Chamomile"** Scientia Pharmaceutica., 46: pp63-69.

Mader P. Edenhofer S. Boller T. Wiemken A. and Niggli U. (2000) **"Arbuscular Mycorrhizal in a Long-Term Field Tial Comparing Low-Input (Organic. Biological) and High-Input (Conventional) Farming Systems in a Crop Rotation"** Boil Fertile. Soils., 31(2): pp150-156.

Maffei M. Chialva F. and Sacco T. (2004) **"Are Leaf Area Index (LAI) Productivity In Peppermint?"** Flavor and Fragrance Journal., 9(3): pp119-124.

Mamo M. Rosen C.J Halbach T.R and Moncrief J.F (1998) **"Corn Yield and Nitrogen Uptake in Sandy Soils Amended with Vermicompost And Municipal Solid Waste Compost"** Production Agriculture., 11: pp460-475.

Mandal A. Patra AK. Singh D. Swarup A. and Ebhin Masto R. (2007) **"Effect of Long-Term Application of Manure and Fertilizer on Biological and Biochemical Activities in Soil During Crop Development Stages"** Bioresource Technology., 98: pp3585–3592.

Mandhare V.K. Patilm P.L. and Gadeker D.A. (1998) **"Phosphorus Uptake of Onion as Influenced by Glomus Fasciculatum, Azotobacter and Phosphorus Level"** Agricultureal Science Digest., 18: pp228-230.

Martin J. P. Black J. H. and Hawthorne R. M. (1997) **"Influence of Earthworm Processed Pig Manure on The Growth and Yield of Green House Tomatoes"** Bioresource Technology., 75: pp175– 180.

Martinz-Toledo M.V.V. Gonzalez J. Dela Rubia T. and Moreno J. (1988) **"Effect of Inoculation with Azotobacter Chroococum on Nitrogen Activity of Zea Mays Roots Growth in Agricultural Soil Under Aseptic and non-Stile Conditions"** Boil, Fertile, Soil G., : 170-173.

Matos G.D. and Arrunda. M. (2003) **"Vermicompost as Natural Adsorbent for Removing Metal Ions From Laboratory Effluents"** Process Biochemistry., 39: pp81-88.

Mcginnis M. Cooke A. Bilderback T. and Lorscheider M. (2003) **"Organic Fertilizers for Basil Transplant Production"** Acta Horticulturea., 491: pp213- 218.

Mckay D.L. and Blumberg J.B. (2006) **"a Review of The Bioactivity and Potential Health Benefits of Peppermint Tea (*Mentha Piperita L.*)"** Phytotherapy Res., 20 (8): pp619 - 33.

Meyer A. (2007) **"The Mycorrhizal Fungus- a Lifelong Partner of The Grapevine"** Wynboer. a Technical Guide for Wine Producers., 76: pp72-74.

Mirzaei R. Kambozia J. Sabahi H. and Mahdavi A. (2009) **"Effect of Different Organic Fertilizers on Soil Physicochemical Properties,**

Production and Biomass Yield of Tomato (*Lycopersicon Esculentum*)" Iranian Journal of Crops Researches., 7(1): pp257-267.

Moradi R. Rezvani Moghaddam P. Nasiri Mahallati M. and Nezhadali A. (2011) **" Effects of Organic and Biological Fertilizer on Fruit Yield and Essential Oil of Sweet Fenel (Foeniculum Vulgar Var. Dulce)"** Span. J. Agric. Rec., 9(2): pp546-553.

Mrkovaki N. and Milic C. (2001) **"Use of Azotobacter Chroococcum As Potential Usefulin Agricultural"** Application. Ann. Microbial., 50: pp145-158.

Mukerji K. G. and Chamola B. P. (2003). **"Compendium of Mycorrhizal Research",** A.P.H. Publisher. New Delhi, P. 310.

Narula N. Kumar V. Behl R.K. Deubel A. Gransee A. and Merbach W. (2000). **"Oil Yield Related Characters and Nutrient Acquisition in The Crops of Different Cultivars of Menthol Mint (*Mentha Arvensis*) under Field Conditions"** , Bioresource Technology.

Kalra A. (2003) **"Organic Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants. a Hope for Sustainability and Quality Enhancement"** Journal of Organic Production of Medicinal., Aromatic and Dye-Yielding Plants (Madps), FAO, 198p.81: pp77-79.

Pankow W. W. Boller T. and Wiemken A. (1991b) **"Structure, Function and Ecololgy of The Mycorrhizal Symbiosis"** Experiential., 47: pp311-394.

Panwar J. and Tarafdar J.C. (2006) **"Arbuscular Mycorrhizal Fungal Dynamic under Nitragyna Parvifolia (Roxb)Korth in Thar Desert"** Applied Soil Ecology., 34: pp200-208.

Perner H. Rohn S. Driemel G. Batt N. Schwarz D. Kroh L.W. and George E. (2008) **" Effect of Nitrogen Species Supply and Mycorrhiza**

Colonization on Organosulfur and Phenolic Compounds in Onions" J. Agric. Food Chem., 56: pp3538-3545.

Poudel D.D. Hoawath W.R. Lanini W.T. Temple S.R. and Van Bruggen A.H.C. (2002) "**Comparison of Soil N Availability and Conventional Farming Systems in Northern California. Agriculture"** Ecosystems and Environment., 90: pp125-137.

Prabha M.L. Jayraaj I.A. Jayraaj R. and Rao D.S. (2007) **"Effect of Vermicompost on Growth Parameters of Selected Vegetable and Medicinal Plants"** Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences., 9: pp321- 326.

Rademacher W. (1994) **"Gibberellin Formation in Microorganisms"** Plant Growth Regulation., 15(3): pp303-314.

Rajendran K. and Devaraj P. (2004) **"Biomass and Nutrient Distribution and Their Return of *Casuarina Equisetifolia* Inoculated with Biofertilizers in Farm Land"** Biomass and Bioenergy., 26: pp235-249.

Ratti N. Kumar S. Verma H. N. and Gautam S. P. (2001) **"Improvement in Bioavailability of Tricalcium Phosphate to Cymbopogon Martinii Var. Motia by Rhizobacteria, AMF and Azospirillum Inoculation"** Microbiol. Res., 156: pp145-149.

Reid C.P.P. (1984) **"Mycorrhizae: a Root-Soil Interface in Plant Nutrition. P. 29-50. in R.L. Todd and J.E. Giddens (Ed) Microbial-Plant Interactions"** Asa Spec.Publ. 47- Asa. Cssa. and Sssa, Madison, Wl.

Ridvan K. (2004) **"Cu and Zn Accumulation in Earth Worm Lumbricus Terrestrist in Sewag Sludge Amended Soil and Fraction of Cu and Zn Casts and Surrounding"** Soil Sci., 22: pp141- 145.

Sahu S.N. and Jana B.B. (2000) **"Enhancement of The Fertilizer Value of Rock Phosphate Engineered Through Phosphate-Solubilizing Bacteria"** Ecol. Eng., 15: pp27–39.

Sainz M.J. Taboada-Castro M.T. and Vilarino A. (1998) **"Growth, Mineral Nutrition and Mycorrhizal Colonization of Red Clover and Cucumber Plants Grown in a Soil Amended with Composted Urban Wastes"** Plant and Soil., 205(1): pp85-92.

Sanches Govin E. Rodrigues Gonzales H. and Carballo Guerra C. (2005) **"Influencia de Los Abonos Organicos Y Biofertilizantes En La Calidad De Las Especies Medicinales *Calendula Officinalis L.* and *Matricaria Recutita L.*"** Revista Cubana de Plantas Medicinales., 10(1): pp1-6.

Schachtman D.P. Reid R.J. and Aylin S.M. (1998) **"Phosphorus Uptake be Plants: from Soil to Cell"** Plant Physiology., 116: pp447-453.

Schmidt E. Bail S. Buchbauer G. Stoilova I. Atanasova T. Stoyanova A. Krastanov A. and Jirovetz L. (2009) **"Chemical Composition, Olfactory Evaluation and Antioxidant Effects of Essential Oil from *Mentha Piperita L*"** Nat Prod Commun., 4 (8): pp1107 - 12.

Shaalan M.N. (2005) **"Influence of Biofertilizers and Chicken Manure on Growth, Yield and Seeds Quality of (Nigella Sativa L.) Plants"** Egyptian Journal of Agricultural Research., 83: pp811-828.

Sharma A.K. (2002). **"Biofertilizers for Sustainable Griculture"**, Agrobios, India, 407p.

Sharma A.K. (2002). **"Biofertilizers for Sustainable Agriculture"**, A Handbook of Organic Farming. Agrobios, India, 300p.

Shivprasad S. and Page W.J. (1989) **"Catechol Formation and Melanization be Na Dependent Azotobacter Chroococcum: Aprotective Mechanism for Aero Adaptation"** Appl Environ Microbial., 55(7): pp1811-1817.

Singh D. Chand S. Anvar M. and Patra D. (2003) **"Effect of Organic and Inorganic Amendment on Growth and Nutrient Accumulation by Isabgol (Plantago Ovata) In Sodic Soil Under Greenhouse**

Conditions" Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science., 25(2): pp414-419.

Smith S.E. and Read D.J. (2008) **"Mycorrhizal Symbiosis"** 3rd End. Academic, London.

Soil Health. (2010). **"Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Plants"** . Soil Health- Part 3, 3.2 Mycorrhizal Associations. Http:/Www.Soilhealth.Com/Soils (Accessed 26/10/2010).

Sturz A.V .and Nowak J. (2000) **"Endophytic Communities of Rhizobacteria and The Strategies Required to Create Yield Enhancing Association with Crops"** Applied Soil Ecology., 15: pp183-190.

Suthar S. (2010) **"Evidence of Plant Hormone-Like Substances in Vermivash: an Ecologically Safe Option Synthetic Chemical for Sustainable Farming"** Ecol Eng., 36: pp1089-1092.

Sylvia D.M. and Williams S.E. (1992). **"Vesicular- Arbuscular Mycorrhizae and Environmental Stress: 101-124. In: Bethlenfalvay, G.J. and Linderman, R.G., (Eds.). Mycorrhizae In Sustainable Agriculture",** Amer Society of Agronomy., Medison Wisconsin, 124p.

Talukdar N.C. and Germida J.J. (1995) **"Growth and Yield of Lentil and Wheat Inoculated with Three Glomus Isolates from Saskatchewan Soils"** Mycorrhiza., 5: pp145-152.

Tisdall J.M. (1991) **"Fungal Hyphae and Structural Stability of Soil"** Australian Journal of Soil Research., 29(6): pp729-743.

Turk M.A. Assaf T.A. Hameed K.M. and Al-Tawaha A.M. (2006) **"Significance of Mycorrhiza"** World J. of Agric. Sci., 2(1): 16-20.

Vessey J.K (2003) **"Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biofertilizers"** Plant and Soil., 255: pp571- 586.

Wallace J. (2001). **"Organic Field Crop Handbook"**, Pub. Canadian Organic Growers. Ottana, Ontario.

Wu S.C. Caob Z.H. Lib Z.G. Cheunga K.C. and Wong M.H. (2005) **"Effects of Biofertilizer Containing N-Fixer, P and K Solubilizers and AM Fungi on Maize Growth: a Greenhouse Trial"** Geoderma., 125: pp155–166.

Yadav A. and Grag V.K. (2011) **"Industrial Wastes and Sludges Management by Vermicomposting"** Rev. Environ. Sci.Biotechnol.

Yazdani D. Jamshidi A.H. and Mogab F. (2002) **"Comparison on Menthol Content of Cultivated Peppermint at Different Regions of Iran"** J. Medicinal Plants., 1 (3): pp73 - 7.

Youssef A.A. Edri A.E. and Gomaa A.M. (2004) **"a Comparative Study Between Some Plant Growth Regulators and Certain Growth Hormones Producing Microorganisms on Growth and Essential Oil Composition of *Salvia Officinalis L*"** Plant Annals of Agricultural Science., 49: pp299-311.

Zahir A.Z. Arshad M. and Frankenberger W.F. (2004) **"Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Applications and Perspectives in Agriculture"** Advances in Agronomy., 81: pp97-168.

Abstract

Nowadays there is an increasingly interest in herbal medicines due to adverse effects of chemical drugs. On the other hand, use of extensive agriculture and innovation of new methods in management of resources utilization for achieving aims of sustainable agriculture have get special importance and hence, use of biofertilizers for reducing in consumption of chemical fertilizers and for increasing of plant yield has became an important challenge for achieving sustainable agriculture. Biofertilizers are composed of different types of free-living microorganisms, having ability to convert basic nutrients from unavailable forms to available ones via biological processes. In this thesis, the effects of vermicompost, arbuscular mycorrhizal fungi and azotobacter on the yield and essential oil of *Mentha piperita L*. were evaluated without using chemical fertilizers as a split plot on factorial by using of randomized complete block design (RCBD) with three replications. The treatments involved vermicompost as the main factor in six levels including: V_0 (no vermicompost), V_1 (3 tons of vermicompost enriched per hectare) and V_2 (6 tons of vermicompost enriched per hectare) and compositions of arbuscular mycorrhizal fungi and azotobacter as the sub-factors both in two levels where arbuscular mycorrhizal fungi treatments included: M_0 (no arbuscular mycorrhizal fungi) and M_1 (using arbuscular mycorrhizal fungi) and azotobacter treatments included: A_0 (no azotobacter) and A_1 (using azotobacter). This research was performed at research farm of Islamic Azad University, Karaj Branch in Mahdasht, Iran. The results showed that vermicompost basic effect on colonization and essential oil percent characteristics has significant relationship in 5% level. Studying the averages shows that using 6 tons of vermicompost enriched per hectare has the best yield between characteristics which have significant relationship in vermicompost factor – 22.58 and 19.25 percent increasing for colonization and essential oil percent respectively compared to the control. Using vermicompost via Improvement in plant yield due to improvement in microbial and biological characteristics of culture medium and regulation of its pH in addition to meaningful increasing in water maintaining capacity may be reason for these findings. Also, there was a significant relationship between the basic effect of arbuscular mycorrhizal fungi for colonization characteristic and the control. This significant relationship, observed only in 1% level caused in 24.19 percent increasing in colonization compared to control. On the other hand, there was a significant relationship in menthon content of essential oil of the plant between azotobacter treatment and control in 5% level; however, unexpectedly the treatment caused in a 32.47 percent decrease in menthon content compared to control. Finally, there were significant relationships between colonization characteristic in arbuscular mycorrhizal fungi and azotobacter treatments in 1% level and also between menthon content of essential oil of the plant in vermicompost and azotobacter treatments in 5% level.

KeyWords: azotobacter, arbuscular mycorrhizal fungi, *Mentha piperita L*. and vermicompost.

Shahrood University

Faculty: Agriculture

Thesis M. Sc

Effect of Vermicompost, Mycorrhizal Symbiosis and Azotobacter on Yield and Essential Oil of Mint (*Mentha piperita L.*) .

M.Mahmudi Jirhandeh

Supervisors

Dr. A. Gholami

Advisor

Dr. M.R. Ardakani

Dr.H. Abbasdokht

February 2014