نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۵، شماره ۵، صفحه ۸۷۵-۸۶۰ (۱۳۹۸)
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2019.126004.2543
شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0905.1398.35.860.97.5.1578.1610

تأثیر کودهای زیستی، عناصر ریزمغذی و کودهای شیمیایی بر عملکرد و عناصر موجود در گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) در شرایط تنش خشکی

مهدی پارسا[1*]، رضا کمائی[2] و بهناز یوسفی[2]

۱*- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران، پست الکترونیک: parsa@ferdowsi.um.ac.ir
۲- دانشجوی دکترای تخصصی فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۸ تاریخ اصلاح نهایی: شهریور ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۸

چکیده

به‌منظور بررسی اثر رژیم‌های مختلف آبیاری و ترکیب‌های مختلف کودی بر شاخص‌های عملکرد و عناصر موجود در گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در ۳ تکرار در سال زراعی ۹۷-۹۶، در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا گردید. فاکتورهای مورد آزمایش شامل سطوح مختلف رژیم‌های آبیاری در سه سطح ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (FC)، ۷۵٪ ظرفیت زراعی (FC) و ۵۰٪ ظرفیت زراعی (FC) و ۶ نوع کودهای مختلف زیستی و شیمیایی شامل: ۱- کود زیستی باکتریایی NPK+NPP، ۲- کود زیستی باکتریایی NPP، ۳- NPK، ۴- کود ریزمغذی (MIC) و ۵- MIC + کود آمینه اسید (AP) بود. در این آزمایش صفات وزن خشک، ارتفاع بوته، نیتروژن، فسفر، پتاسیم، سدیم، پروتئین، اسپد، درصد اسانس و عملکرد اسانس اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرهای اصلی رژیم‌های آبیاری و انواع مختلف کودی بر روی شاخص‌های وزن خشک، نیتروژن، فسفر، پروتئین و درصد اسانس در سطح ۱٪ و شاخص اسپد در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. بیشترین میزان وزن خشک (۱۴/۵۶ گرم) و فسفر (۰/۴۳٪) در تیمار آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی، نیتروژن (۲/۰۰۱٪)، پروتئین (۱۲/۵۱٪)، عدد اسپد (۴۵/۳) و پتاسیم (۱/۶۶٪) در تیمار کودی ترکیبی NPK+NPP و بیشترین میزان درصد اسانس (۱/۶۴٪) در تیمار آبیاری ۵۰٪ FC بود. نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از کودهای ترکیبی زیستی باکتریایی و شیمیایی در رژیم آبیاری کامل باعث افزایش شاخص‌های عملکرد و عناصر ماکرو شد.

واژه‌های کلیدی: عملکرد اسانس، عدد اسپد، نیتروژن، فسفر، نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.).

مقدمه

مقدار آب در دسترس از عوامل مهم اقلیمی بر توزیع و پراکنش گیاهان در سرتاسر جهان بوده و می‌تواند باعث تغییرات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه شود (Sodaeizadeh *et al*., 2016). تنش خشکی یکی از مهمترین عوامل محدودکننده عملکرد و تولید محصولات در گیاهان به‌شمار می‌آید (Kamrava *et al*., 2017). از عوامل بازدارنده تنش خشکی می‌توان به بازدارندگی فرایندهای تقسیم و رشد سلولی، بسته شدن روزنه‌ها و درنتیجه کاهش جریان دی‌اکسیدکربن به درون سلول‌های مزوفیل برگ اشاره کرد (Arve *et al*., 2011). تنش کم‌آبی همچنین دسترسی گیاه به نیتروژن، توان جذب نیتروژن و نیز فعالیت

آنزیم‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، عمدتاً نیترات ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز و همچنین برخی مطالعات نشان داده است که تنش ناشی از کمبود آب سبب کاهش رشد قسمت‌های مختلف گیاه اعم از ریشه‌ها و اندام‌های هوایی، کاهش سطح برگ، ارتفاع، وزن خشک، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش فتوسنتز، تعرق، تخریب آنزیم‌ها، پروتئین‌ها و تغییر در سنتز پروتئین‌ها، تجمع اسیدهای آمینه و کاهش کلروفیل می‌شود (Araya *et al*., 2010).

با وجود مطالعات گسترده‌ای که در مورد تأثیر تنش‌های محیطی بر رشد و عملکرد گیاهان زراعی انجام شده، اطلاعات در مورد واکنش گیاهان دارویی به این تنش‌ها اندک می‌باشد. Razavizadeh و همکاران (۲۰۱۴) با مطالعه‌ای که بر روی گیاه ریحان انجام دادند بیان کردند که تنش آبی اثر معنی‌داری بر رشد، عملکرد، مقدار کلروفیل و اسانس ریحان داشت. به‌طوری که با کاهش مقدار آب خاک، شاخص‌هایی مانند ارتفاع بوته، تعداد و سطح برگ‌ها، وزن تر و خشک برگ‌ها، ساقه و ریشه‌ها و عملکرد اسانس کاهش یافت.

به‌منظور افزایش تولید محصولات کشاورزی در واحد سطح، عملیات زراعی متعددی مانند مصرف کودهای شیمیایی انجام می‌شود. نتیجه این فعالیت طی سالیان اخیر، کاهش میزان باروری خاک، کاهش تنوع زیستی، اُفت کیفیت محصولات کشاورزی، بروز مشکلات متعدد زیست‌محیطی مانند آلودگی منابع آب، خاک و محیط‌زیست و انتقال زنجیره‌وار آنها به منابع غذایی انسان‌ها و تهدید سلامت جامعه بشری است (Jafari, 2014). به همین منظور، در طی سال‌های اخیر مطالعات گسترده‌ای در راستای بهبود و حفظ باروری خاک، بهبود کیفیت محصولات کشاورزی و حذف آلاینده‌های زیست‌محیطی انجام شده است. کاهش این مخاطرات زیست‌محیطی، همگام با افزایش عملکرد گیاهان زراعی، به‌ویژه در گیاهان دارویی، نیازمند بکارگیری تکنیک‌های نوین بهره‌برداری است (Inanlofar *et al*., 2014). یکی از این تکنیک‌ها، مطرح شدن دوباره استفاده از کودهای زیستی و آلی برای استفاده در کشاورزی برای دستیابی به اهداف کشاورزی پایدار و ارگانیک می‌باشد (Aghaalikhani *et al*., 2013).

کودهای زیستی شامل مواد نگهدارنده‌ای با جمعیت متراکم یک یا چند موجود زنده مفید خاک زی و یا به‌صورت فرآورده متابولیک این موجودات می‌باشند که قادر به افزایش حاصلخیزی خاک، افزایش رشد گیاه و عملکرد محصول هستند (Jafari, 2014). به‌طور کلی، از مزایای کودهای زیستی می‌توان به تأمین عناصر غذایی به‌صورت کاملاً متناسب با تغذیه طبیعی گیاهان، کمک به تنوع زیستی، تشدید فعالیت‌های حیات، بهبود کیفیت و حفظ سلامت محیط‌زیست و در مجموع حفظ و حمایت از سرمایه‌های ملی (آب، خاک و منابع انرژی غیر قابل تجدید) اشاره نمود (Stajkovic *et al*., 2011). ریزجانداران مورد استفاده در کودهای زیستی قادر به آماده‌سازی عناصر مغذی از حالت غیرقابل جذب به حالت قابل جذب در فرایند زیستی می‌باشند (Sharma, 2002). ازجمله این ریزجانداران می‌توان به باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) و ریزجانداران حل‌کننده فسفات اشاره نمود که هریک برای منظور خاصی مثل تثبیت نیتروژن، انحلال یون‌های فسفات، پتاسیم و آهن از ترکیب‌های نامحلول آنها استفاده می‌کنند (Gupta *et al*., 2012). اصطلاح PGPR برای باکتری‌های فعال ریزوسفری همانند آزوسپیریلوم، ازتوباکتر، باسیلوس و سودوموناس اطلاق می‌گردد که تأثیر مشخصی در افزایش رشد گیاه دارند (Mikovacki *et al*., 2010). ازتوباکتر در تثبیت بیولوژیک نیتروژن (Wensing *et al*., 2010) و باسیلوس و سودوموناس در تبدیل شکل‌های نامحلول فسفر به شکل‌های محلول و قابل دسترس گیاه (Ranjkar *et al*., 2007) اهمیت دارند. همچنین، این باکتری‌ها از طریق سازوکارهای مختلف دیگری مانند تولید سیدروفورها، سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها و تولید هورمون‌های گیاهی سبب تحریک رشد گیاه می‌شوند (Haj Sayed Hadi, 2011). تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر رشد و نمو گیاهان به‌خوبی شناخته شده است.

هدف از این آزمایش بررسی برخی از خصوصیات فیزیولوژیک، عملکرد و میزان عناصر پرمصرف در گیاه دارویی نعناع فلفلی با کاربرد ترکیب‌های کودی زیستی و شیمیایی تحت رژیم‌های مختلف آبیاری بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۶ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط کنترل‌شده در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. ریزوم‌های نعناع فلفلی از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. گلدان‌های مورد استفاده از نوع پلاستیکی، با قطر دهانه ۱۹ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و گنجایش ۵ کیلوگرم با بستر کاشت مخلوط ماسه و خاک مزرعه با نسبت ۱:۱ به وزن ۴ کیلوگرم پر و در هر گلدان دو عدد ریزوم کشت شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است. در گلخانه شرایط رشد ازجمله دمای روز و شب، شدت و کیفیت نور و رطوبت نسبی در حد مطلوب حفظ شد. دمای کمینه و بیشینه گلخانه ۲۲ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۸٪ تا ۷۹٪ در طول این دوره حفظ شد و به‌دلیل کاشت در اوایل آذرماه، از نور مصنوعی استفاده شد. عوامل آزمایشی شامل رژیم آبیاری در سه سطح ظرفیت زراعی (۱۰۰، ۷۵ و ۵۰) و کودهای مختلف زیستی و شیمیایی شامل: ۱- کود زیستی باکتریایی ترکیبی (NPP) (نیترو باکتر (میکروارگانیسم‌های تثبیت‌کننده نیتروژن) + فسفوپاور باکتر (باکتری‌های حل‌کننده فسفات) + پتاپاور باکتر (میکروارگانیسم‌های حل‌کننده پتاسیم))، ۲- کود شیمیایی NPK (۲۰-۲۰-۲۰)، ۳-ترکیب کود زیستی باکتریایی ترکیبی و کود شیمیایی NPK (NPP+NPK)، ۴- کودهای ریزمغذی (به‌صورت سوسپانسیون محلول که شامل آهن، منگنز، روی، مس، بر، مولیبدات، کبالت، سیلیسیوم، سولفور و ویتامین‌ها می‌باشد) (MIC)، ۵- ترکیب کود ریزمغذی و کودهای اسید آمینه (MIC+AP) و ۶- شاهد بود. مقدار مصرف کودهای زیستی باکتریایی مطابق دستور استفاده، هر یک به‌میزان ۲CC در هر لیتر مورد استفاده قرار گرفت. همچنین مقدار مصرف ریزمغذی‌ها و کود آمینه اسید به میزان ۲CC در لیتر بود. کودها از شرکت دانش‌بنیان خوشه‌پروران زیست فناور تهیه شد. همچنین به‌میزان ۴۰ تن در هکتار کود دامی به بستر کاشت اضافه شد. اعمال تیمارهای رژیم آبی براساس روش وزنی بود. به‌طوری که ابتدا در کف هر یک از گلدان‌ها به مقدار مساوی سنگ‌ریزه (برای انجام زهکشی) ریخته شد و با استفاده از ترازو به‌صورت هم وزن از خاک پر شدند (در داخل هر گلدان ۴ گیلوگرم خاک). سپس با افزودن آب، خاک هر گلدان را به درجه اشباع رسانده و به‌مدت ۴۸ ساعت روی سطح مشبک قرار داده شد تا هر گلدان پس از زهکشی آب اضافی به ظرفیت زراعی برسد. در این مرحله گلدان‌ها به‌سرعت وزن شده و خاک آنها در دمای ۱۰۵ درجه به‌مدت ۴۸ ساعت کاملاً خشک گردید. در ادامه پس از مشخص شدن درصد وزنی رطوبت خاک در ظرفیت زراعی مزرعه، میزان رطوبت موجود در خاک برای اعمال تیمارهای رطوبتی مختلف مشخص شده تا با توزین روزانه گلدان، کسری آب محاسبه و مقدار آب مورد نیاز به گلدان‌ها اضافه شد. در طول دوره رشد به‌منظور دستیابی به میزان رطوبت قابل‌دسترس موجود در هر گلدان، از دستگاه TDR (Time Domain Reflectometer) استفاده گردید. به این طریق که لوله دستگاه را در عمق ۱۰ سانتی‌متری خاک گلدان قرار داده و میزان رطوبت قابل‌دسترس قرائت شد. زمان اعمال تنش خشکی و کودهای مختلف بعد از استقرار و سبز شدن گیاه نعناع فلفلی اعمال گردید.

طول دوره آزمایش (از زمان کاشت تا برداشت) ۱۷ هفته به طول انجامید. نمونه‌برداری در یک مرحله در اواخر دوره رشد انجام شد. برای بدست آوردن عملکرد ماده خشک، کل بوته‌های هر گلدان برداشت و پس از خشک کردن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد تا ثابت شدن وزن نمونه‌ها، وزن شدند. همچنین از شاخص‌های مورفولوژیکی که اندازه‌گیری شدند می‌توان به ارتفاع بوته، تعداد شاخه و قطر ساقه اشاره کرد.

برای اندازه‌گیری نیتروژن عصاره نمونه‌ها به روش هضم توسط اسید سولفوریک، اسید سالیسیلیک، آب اکسیژنه و سلنیم تهیه گردید. همچنین برای اندازه‌گیری عنصر فسفر، پتاسیم و سدیم عصاره نمونه‌ها توسط هضم به روش سوزاندن خشک و ترکیب با اسید کلریدریک تهیه گردید (Chapman & Pratt, 1961؛ Waling *et al*., 1989). مقدار نیتروژن موجود در عصاره تهیه شده با استفاده از دستگاه کجلدال تک اتوآنالیزر تعیین گردید. میزان فسفر با استفاده از روش رنگ‌سنجی (رنگ زرد مولیبدات وانادات) و با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Chapman & Pratt, 1961). میزان سدیم و پتاسیم برگ، با دستگاه فلیم‌فتومتر (UK Jenway) و محلول استاندارد سدیم و پتاسیم تعیین شد. برای اندازه‌گیری درصد پروتئین از رابطه ۱ استفاده شد.

رابطه ۱ درصد نیتروژن × ۶/۲۵ = پروتئین (٪)

برای اسانس‌گیری نمونه‌ها، مقدار ۳۰ گرم از نمونه خشک شده و پودر شده را همراه با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر درون بالن دستگاه کلونجر ریخته و اسانس‌گیری انجام شد و در نهایت برای جداسازی آب از اسانس از NA_2SO_4 استفاده شد (Singleton & Rossi, 1965). عملکرد اسانس از حاصل‌ضرب درصد اسانس در عملکرد اندام هوایی بر اساس رابطه ۲ محاسبه شد.

رابطه ۲ عملکرد اسانس (گرم در گلدان)= (عملکرد اندام هوایی × درصد اسانس)/۱۰۰

تجزیه‌های آماری براساس مدل آماری طرح‌های مورد استفاده توسط نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. مقایسه میانگین‌های هر صفت با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گردید.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

بافت خاک	نیتروژن (٪)	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)	اسیدیته	هدایت الکتریکی (dS/m)	OC (٪)
شنی لومی	۰/۱۲	۲۰/۵	۱۳۳	۷/۹۲	۱/۲	۱/۳۰

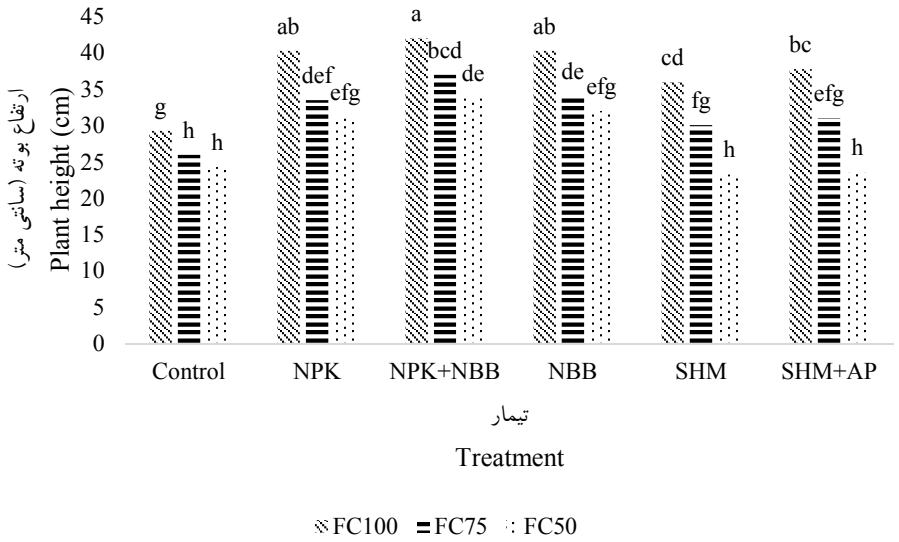
نتایج

وزن خشک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر روی وزن خشک در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست‌آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان وزن خشک کاهش یافت. در این کاهش بین هر سه تیمار خشکی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. به‌طوری که بیشترین مقدار وزن خشک در رژیم آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۱۴/۵۶ گرم در گلدان و کمترین آن در رژیم آبیاری ۵۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۸/۵ گرم در گلدان گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر وزن خشک تولیدی مشاهده شد. به‌نحوی که بیشترین میزان وزن خشک نعناع فلفلی در تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۱۴/۵ گرم در گلدان گزارش شد (جدول ۳).

ارتفاع بوته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف و همچنین اثر متقابل آنها در سطح ۱٪ بر روی ارتفاع گیاه معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج بدست‌آمده نشان داد که اثر متقابل آبیاری با ظرفیت زراعی ۱۰۰ و کود ترکیبی NPK+NPP بالاترین میانگین را به خود اختصاص داد که در مقایسه با تیمار شاهد ارتفاع گیاه را ۱/۴ برابر افزایش داد. ارتفاع گیاه تقریباً در تمام تیمارهای حاوی رژیم آبیاری ۵۰٪ ظرفیت زراعی کاهش یافت، به‌نحوی که کمترین میزان ارتفاع مربوط به تیمار ترکیبی ۵۰٪ رژیم آبیاری و کود ریزمغذی به‌میزان ۲۳/۳ سانتی‌متر بود (شکل ۱).



شکل ۱- اثر متقابل رژیم‌های مختلف آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر ارتفاع بوته

میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

نیتروژن

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر روی درصد نیتروژن در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست‌آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی درصد نیتروژن کاهش یافت. بیشترین درصد نیتروژن در رژیم آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۱/۹٪ و کمترین آن در رژیم آبیاری ۵۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۱/۶۴٪ گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر درصد نیتروژن مشاهده شد. به‌طوری که بیشترین درصد نیتروژن نعناع فلفلی در تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۲/۰۰۱٪ و کمترین درصد نیتروژن تیمار شاهد بدون کود به میزان ۱/۵۷٪ گزارش شد (جدول ۳).

فسفر

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر روی درصد فسفر در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست‌آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی درصد فسفر کاهش یافت. در این کاهش بین هر سه تیمار خشکی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بیشترین درصد فسفر در رژیم

آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۰/۴۳٪ و کمترین آن در رژیم آبیاری ۵۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۰/۳۱٪ گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر درصد فسفر مشاهده شد. بیشترین درصد فسفر نعناع فلفلی در تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۰/۴۲٪ و کمترین درصد فسفر تیمار شاهد بدون کود به میزان ۰/۳۰۳٪ گزارش شد (جدول ۳).

پتاسیم

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری بر روی درصد پتاسیم معنی‌دار نبود ولی مصرف کودهای مختلف بر روی درصد پتاسیم در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست‌آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد که تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر درصد پتاسیم مشاهده شد. به‌طوری که بیشترین درصد پتاسیم نعناع فلفلی در تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۱/۶۶٪ و کمترین درصد پتاسیم تیمار شاهد بدون کود به میزان ۱/۱۶٪ گزارش شد (جدول ۳).

سدیم

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری در سطح ۱٪ معنی‌دار بود ولی مصرف کودهای مختلف بر روی درصد سدیم و همچنین اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست‌آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان درصد سدیم افزایش یافت. در این افزایش بین هر سه تیمار خشکی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. به‌طوری که بیشترین درصد سدیم در رژیم آبیاری ۵۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۰/۱۹٪ و کمترین آن در رژیم آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۰/۱۲٪ گزارش شد (جدول ۳).

پروتئین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر روی درصد پروتئین در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست‌آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان درصد پروتئین کاهش یافت. بیشترین درصد پروتئین در رژیم آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۱۲/۴۳٪ و کمترین آن در رژیم آبیاری ۵۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۱۰/۳۲٪ گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر درصد پروتئین مشاهده شد. به‌نحوی که بیشترین درصد پروتئین نعناع فلفلی در تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۱۲/۵۱٪ و کمترین درصد پروتئین در تیمار شاهد بدون کود به میزان ۹/۸۷٪ گزارش شد (جدول ۳).

اسپد

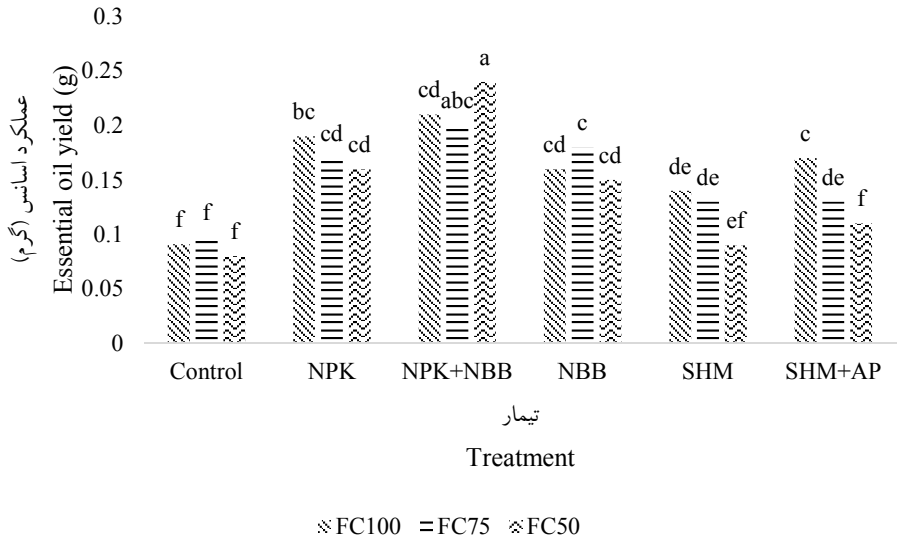
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری در سطح ۱٪ و مصرف کودهای مختلف بر روی عدد اسپد در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست‌آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان عدد اسپد کاهش یافت. بیشترین میزان عدد اسپد در رژیم آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۴۵/۰۶ و کمترین آن در رژیم آبیاری ۵۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۴۰/۹۸ گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر میزان عدد اسپد مشاهده شد. به‌طوری که بیشترین میزان عدد اسپد نعناع فلفلی در تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۴۵/۳٪ و کمترین میزان عدد اسپد در تیمار شاهد بدون کود به میزان ۴۰/۲۸ گزارش شد (جدول ۳).

درصد اسانس

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر روی درصد اسانس در سطح ۱٪ معنی دار بود، ولی اثر متقابل آنها معنی دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست‌آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی درصد اسانس افزایش یافت. در این افزایش بین هر سه تیمار خشکی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بیشترین درصد اسانس در رژیم آبیاری ۵۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۱/۶۴٪ و کمترین آن در رژیم آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۱/۱۲٪ گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر درصد اسانس مشاهده شد. بیشترین درصد اسانس نعناع فلفلی در کود ترکیبی NPK+NPP به میزان ۱/۵۷٪ و کمترین درصد اسانس در تیمار شاهد به میزان ۱/۱۱٪ مشاهده شد (جدول ۳).

عملکرد اسانس

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف در سطح ۱٪ و همچنین اثر متقابل آنها در سطح ۵٪ بر روی عملکرد اسانس معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج بدست‌آمده نشان داد که اثر متقابل آبیاری با ظرفیت زراعی ۵۰ و کود ترکیبی NPP+NPK بالاترین میانگین را به خود اختصاص داد که در مقایسه با شاهد عملکرد اسانس را بیش از ۲/۵ برابر افزایش داد. بیشترین میزان عملکرد اسانس را تیمار رژیم آبیاری ۵۰٪ ظرفیت زراعی با کود ترکیبی NPP+NPK به میزان ۰/۲۳ گرم و کمترین میزان عملکرد اسانس مربوط به تیمار رژیم آبیاری ۵۰٪ ظرفیت زراعی و تیمار شاهد بدون کود به میزان ۰/۰۸ گرم بدست آمد (شکل ۲).



شکل ۲- اثر متقابل رژیم‌های مختلف آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر عملکرد اسانس

میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی نعناع فلفلی تحت رژیم‌های مختلف آبیاری و ترکیب‌های مختلف کود

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		وزن خشک	ارتفاع	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	سدیم	پروتئین	اسپد	درصد اسانس	عملکرد اسانس
خشکی	۲	۱۶۱/۱**	۴۱۸/۱**	۰/۵۲**	۰/۰۶۳**	۰/۰۰۵ns	۰/۰۲**	۲۰/۱۸**	۷۵/۹**	۱/۲۶**	۰/۰۰۲**
کود	۵	۴۶/۶**	۱۵۵/۳**	۰/۲۱**	۰/۰۱۹**	۰/۳۵**	۰/۰۰۲ns	۸/۴۶**	۲۹/۶*	۰/۲۳**	۰/۰۱۷**
خشکی × کود	۱۰	۱/۰۱ns	۹/۶۳**	۰/۰۱ns	۰/۰۰۰۵ns	۰/۰۰۲ns	۰/۰۰۰۰۹ns	۰/۵۷ns	۴/۵ns	۰/۰۴ns	۰/۰۰۱*
خطا	۳۶	۰/۶۳	۳/۶۴	۰/۰۷۸	۰/۰۰۲	۰/۰۴۸	۰/۰۰۰۴	۳/۰۴	۱۰/۱۸	۰/۰۴۶	۰/۰۰۰۳

**، * و ns، به‌ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی نعناع فلفلی تحت رژیم‌های مختلف آبیاری و ترکیب‌های مختلف کود

عامل اصلی		وزن خشک (g)	ارتفاع (cm)	نیتروژن (٪)	فسفر (٪)	پتاسیم (٪)	سدیم (٪)	پروتئین (٪)	اسپد	درصد اسانس (٪)	عملکرد اسانس (g)
خشکی	۱۰۰	۱۴/۵۶a	۳۷/۶a	۱/۹a	۰/۴۳a	۱/۳۷a	۰/۱۲c	۱۲/۴۳a	۴۵/۰۶a	۱/۱۲c	۰/۱۶a
	۷۵	۱۱/۴۳b	۳۱/۹b	۱/۸ab	۰/۳۶b	۱/۳۵a	۰/۱۵b	۱۱/۳۱ab	۴۲/۵۸b	۱/۳۴b	۰/۱۵ab
	۵۰	۸/۵c	۲۸/۰۵c	۱/۶۴b	۰/۳۱c	۱/۳۴a	۰/۱۹a	۱۰/۳۲b	۴۰/۹۸b	۱/۶۴a	۰/۱۴b
کود	C	۸/۶f	۲۶/۵d	۱/۵۷b	۰/۳۰۳d	۱/۱۶c	۰/۱۵a	۹/۸۷b	۴۰/۲۸c	۱/۱۱c	۰۹۰d
	NPK	۱۲/۳۷c	۳۵b	۱/۹۲a	۰/۴۰۴ab	۱/۴۷ab	۰/۱۵a	۱۲/۰۴a	۴۴/۱ab	۱/۴۸ab	۰/۱۷b
	NPK+NPP	۱۴/۵a	۳۷/۶a	۲/۰۰۱a	۰/۴۲a	۱/۶۶a	۰/۱۵a	۱۲/۵۱a	۴۵/۳a	۱/۵۷a	۰/۲۱a
	NPP	۱۳/۳b	۳۵/۴b	۱/۸۹a	۰/۳۹ab	۱/۴۴b	۰/۱۴a	۱۱a	۴۳/۴abc	۱/۲۸bc	۰/۱۷b
	MIC	۹/۶e	۲۹/۸c	۱/۷۲ab	۰/۳۳cd	۱/۱۹c	۰/۱۶a	۱۰/۸۱ab	۴۱/۹bc	۱/۳۵ab	۰/۱۲c
	MIC+AP	۱۰/۶d	۳۰/۸c	۱/۷۵ab	۰/۳۵bc	۱/۲۲c	۰/۱۶a	۱۱/۰۱ab	۴۲/۰۸abc	۱/۴۱ab	۰/۱۴d

میانگین‌های مربوط به سطوح هر عامل اصلی که دارای حداقل یک حرف مشترک باشند اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

جدول ۴- نتایج همبستگی صفات نعناع فلفلی در تیمارهای مختلف

	وزن خشک (A)	ارتفاع بوته (B)	نیتروژن (C)	فسفر (D)	پتاسیم (E)	سدیم (F)	پروتئین (G)	اسپد (H)	درصد اسانس (I)	عملکرد اسانس (j)
(B)	۰/۷۵**	۱								
(C)	۰/۰۱ns	-۰/۶۴**	۱							
(D)	۰/۱۶ns	-۰/۵*	۰/۹۸**	۱						
(E)	۰/۴۴ns	۰/۸۴**	-۰/۷۷**	-۰/۶۸**	۱					
(F)	-۰/۱۳ns	-۰/۷۳**	۰/۹۸**	۰/۹۵**	-۰/۷۹**	۱				
(G)	۰/۴۵ns	۰/۸۹**	-۰/۸۸**	-۰/۷۸**	۰/۸۹**	-۰/۹۲**	۱			
(H)	۰/۳۲ns	۰/۸۴**	-۰/۹۳**	-۰/۸۶**	۰/۸۸**	۰/۹۶**	۰/۹۸**	۱		
(I)	-۰/۰۵ns	-۰/۶۷**	۰/۹۹**	۰/۹۷**	-۰/۷۸**	۰/۹۹**	-۰/۹**	-۰/۹۵**	۱	
(j)	۰/۱۴ns	-۰/۵*	۰/۹۷**	۰/۹۸**	-۰/۶۳**	۰/۹۵**	-۰/۷۹**	-۰/۸۶**	۰/۹۷**	۱

**، * و ns: به‌ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشند.

همبستگی بین صفات

با توجه به جدول ۴ همبستگی بین وزن خشک با ارتفاع بوته در سطح ۱٪ معنی‌دار بود و با این صفت همبستگی مثبتی داشت. ارتفاع بوته با نیتروژن، سدیم و درصد اسانس در سطح ۱٪ و با فسفر و عملکرد اسانس در سطح ۵٪ همبستگی منفی داشت. همچنین ارتفاع بوته با پتاسیم و اسپد در سطح ۱٪ همبستگی مثبتی داشت. نیتروژن با فسفر، سدیم، پروتئین و درصد اسانس در سطح ۱٪ معنی‌دار و همبستگی آنها مثبت بود ولی پتاسیم، پروتئین و اسپد در سطح ۱٪ معنی‌دار و همبستگی منفی با نیتروژن داشت. فسفر هم با پتاسیم، پروتئین و اسپد در سطح ۱٪ معنی‌دار و همبستگی آنها هم منفی بود ولی فسفر با سدیم و درصد اسانس در سطح ۱٪ معنی‌دار و همبستگی آنها مثبت بود. عنصر پتاسیم با پروتئین و اسپد در سطح ۱٪ معنی‌دار و همبستگی مثبتی داشت ولی با سدیم، درصد اسانس و عملکرد اسانس در سطح ۱٪ همبستگی منفی داشت. سدیم با اسپد، درصد اسانس و عملکرد اسانس در سطح ۱٪ معنی‌دار و همبستگی مثبت داشت اما با پروتئین در سطح ۱٪ معنی‌دار و همبستگی آنها منفی بود. پروتئین هم با اسپد در سطح ۱٪ معنی‌دار و همبستگی مثبتی داشت ولی با درصد اسانس و عملکرد اسانس در سطح ۱٪ همبستگی منفی داشت. اسپد با درصد اسانس و عملکرد اسانس هم در سطح ۱٪ رابطه معنی‌داری داشت و همبستگی آنها از نوع مثبت بود. همچنین درصد اسانس هم با عملکرد اسانس در سطح ۱٪ رابطه مثبت و معنی‌داری داشتند.

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد اثر ساده رژیم آبیاری و تیمار ترکیب کودی NPK+NPP اثرهای معنی‌داری بر روی وزن خشک نعناع فلفلی داشتند، به‌طوری که بیشترین میزان وزن خشک در تیمار رژیم آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی و تیمار ترکیبی NPK+NPP بدست آمد (جدول ۳). در شرایط تنش، کاهش ماده خشک می‌تواند به‌دلیل فشار آماس سلول ناشی از کاهش سطح برگ گیاه باشد (Sodaeizadeh *et al*., 2016). همچنین Sodaeizadeh و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی اثر تنش خشکی بر عملکرد بوته و اسانس مرزه به این نتیجه رسیدند که وزن تر و خشک کل تحت تنش کاهش یافت. همچنین تنش خشکی با محدودیت‌هایی که در جذب آب توسط گیاه و همچنین جذب عناصر غذایی برای گیاه ایجاد می‌کند باعث کاهش بیوماس تولیدی می‌شود (Ashraf & Foolad, 2007). از سویی این افزایش در وزن خشک می‌تواند ناشی از اثر کاربرد باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن باشد که با تولید مقادیر مناسب مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه مانند اکسین، جیبرلین، سیتوکینین و ویتامین‌های گروه B، ظرفیت ریشه‌زایی گیاه و جذب مواد غذایی از خاک را بهبود بخشیده و در نتیجه میزان نیتروژن و فسفر را در برگ‌ها افزایش داده است (Eid *et al*., 2006).

نتایج نشان داد اثر متقابل رژیم آبیاری و مصرف کودها بر روی ارتفاع معنی‌دار بود (جدول ۲). اثر متقابل آبیاری با ظرفیت زراعی ۱۰۰ و کود ترکیبی NPP+NPK بالاترین میانگین را به خود اختصاص دادند که در مقایسه با شاهد ارتفاع بوته را بیش از ۱/۳۷ برابر افزایش داد. یکی از اولین نشانه‌های کمبود آب، کاهش آماس و در نتیجه کاهش تقسیم و توسعه سلول به‌ویژه در ساقه و برگ‌هاست، به‌همین دلیل است که اولین اثر محسوس کم‌آبی بر روی گیاهان را می‌توان از اندازه کوچکتر برگ‌ها یا ارتفاع گیاهان تشخیص داد (Sodaeizadeh *et al*., 2016). با کاهش رشد و نمو سلول، اندازه اندام محدود می‌شود. به همین دلیل اولین اثر محسوس کم‌آبی بر گیاهان را می‌توان از روی اندازه کوچکتر برگ‌ها و ارتفاع کمتر گیاهان تشخیص داد. از سویی ارتفاع بوته و تعداد شاخه اصلی مانند هر اندام رویشی یا زایشی به‌شدت تحت تأثیر عناصر غذایی و آب قرار می‌گیرند (Erkossa *et al*., 2002). Singh و Chauhan (۱۹۹۴) گزارش کردند که نیتروژن و فسفر عامل اصلی افزایش ارتفاع گیاه می‌باشند. از آنجایی‌که کمبود عناصر غذایی یکی از عوامل اصلی در تعیین اندازه ارتفاع گیاه است، به نظر

می‌رسد که تیمار شاهد به علت کمبود مواد غذایی از رشد کمتری برخوردار باشد، در حالی‌که میزان مواد غذایی در کلیه تیمارهای کودی مورد استفاده برای رشد رویشی گیاه مناسب بود. از سویی Wu و همکاران (۲۰۰۵) علت بهبود ارتفاع گیاه ذرت (*Zea mays* L.) تلقیح شده با کودهای زیستی را افزایش جذب عناصر و بهبود فتوسنتز عنوان کردند.

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌گردد اثرهای ساده رژیم مختلف آبیاری و تیمارهای کودی بر روی این پارامتر معنی‌دار بود، به‌طوری که در رژیم‌های مختلف آبیاری بیشترین میزان نیتروژن در تیمار رژیم آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی گزارش شد. همچنین در اثر ساده کودهای ترکیبی، تیمار ترکیبی NPK+NPP بهترین تیمار بود (جدول ۳). تنش رطوبتی اغلب جذب عناصر غذایی توسط گیاه را محدود می‌کند. جذب مواد غذایی به‌وسیله گیاهان در شرایط کمبود آب، به‌دلیل کاهش تعرق، اختلال در سیستم انتقال فعال و نفوذپذیری غشاء و در نتیجه کاهش نیروی جذب‌کنندگی ریشه کاهش می‌یابد (Pirzadeh *et al*., 2015). همچنین با کاهش رطوبت خاک، سرعت انتشار مواد غذایی از محیط خاک به سطح جذب‌کننده ریشه کاهش می‌یابد (Pirzadeh *et al*., 2015). Alizadeh و Alizadeh (۲۰۰۷) بیان کردند که جذب عناصر غذایی، تحت تأثیر مستقیم رطوبت خاک و همچنین اثر غیرمستقیم آب بر پارامترهایی مثل رشد ریشه و گسترش آن، موجب درصد حلالیت نمک در خاک و تغییر متابولیسم رشد و نمو گیاه خواهد شد. از سویی به‌طور کلی گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد دارای محتوای نیتروژن بالاتری نسبت به گیاهان غیرتلقیحی هستند (Puentes-ramirez *et al*., 2006). Kader و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که تلقیح با آزروسپیریلیوم جذب فسفات و آمونیوم را به‌وسیله گیاه گندم افزایش می‌دهد. اعتقاد بر این است که باکتری‌های محرک، رشد گیاه را به‌وسیله افزایش جذب مواد غذایی بالا می‌برند (Yasamin *et al*., 2004).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده آبیاری (رژیم آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) و مصرف کودهای مختلف (در تیمار ترکیبی NPK+NPP) بیشترین تأثیر را بر روی درصد فسفر داشتند (جدول ۲). در شرایط تنش خشکی، سرعت انتشار فسفر از خاک به سطح ریشه نسبت به سایر عناصر غذایی کاهش بیشتری یافته، زیرا یون فسفات به ذرات رس چسبیده و کمتر در دسترس ریشه گیاه قرار می‌گیرد (Setayeshmehr & Ganjali, 2013). بررسی واکنش گیاه لوبیا به خشکی نشان داد که در شرایط تنش توانایی جذب فسفر توسط ریشه‌های این گیاه ضعیف است. دلیل این موضوع کاهش قابلیت تحرک فسفر در خاک‌هایی با محتوای پایین آب است، زیرا محتوای آب بر واکنش‌های تجزیه‌ای و فعالیت‌های بیولوژیکی آن تأثیرگذار است (Setayeshmehr & Ganjali, 2013). همچنین Gupta و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که تلقیح با باکتری‌های حل‌کننده فسفات، فسفر قابل جذب خاک، جذب فسفر توسط گیاه و رشد گیاه را افزایش داد که نتایج این محققان یافته‌های این پژوهش را مورد تأیید قرار می‌دهد.

نتایج به روشنی نشان داد که اثر ساده آبیاری بر روی درصد پتاسیم معنی‌دار نبود ولی مصرف کودهای مختلف بر روی درصد پتاسیم در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. بیشترین درصد پتاسیم نعناع فلفلی در تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۱/۶۶٪ مشاهده گردید (جدول ۲). مطالعات نشان داده‌اند که باکتری‌ها با تجزیه کانی‌های فسفر، آهن و پتاسیم‌دار مثل سنگ فسفات، میکا و فلدسپار می‌توانند باعث آزادسازی فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم و عناصر دیگر مثل آهن و سیلیسیم شوند. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که توانایی باکتری‌ها در تجزیه کانی‌ها می‌تواند به‌علت تولید و ترشح پروتون، اسید آلی، سیدروفورها و پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی باشد (Sheng & He, 2006؛ Girgis *et al*., 2008).

بررسی درصد سدیم نشان داد که تنها اثر ساده رژیم آبیاری بر روی این صفت معنی‌دار بود که بیشترین میانگین مربوط به رژیم آبیاری ۵۰٪ ظرفیت زراعی بود (جدول ۲).

یکی از روش‌های بررسی میزان تحمل بافت‌ها، میزان عناصر موجود در آنها به‌ویژه غلظت سدیم است (Ghaedi Jashni *et al*., 2016). همچنین میزان سدیم جذب شده به‌دلیل اینکه کمتر تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد یکی از بهترین عامل‌های بررسی میزان تحمل یادشده است (Munns & James, 2003). تجمع سدیم در بافت بیشتر به‌علت جذب بیشتر توسط ریشه و تخلیه بیشتر از آوند چوب به برگ است. در واقع گیاه با جذب سدیم بیشتر تعادل اسمزی را انجام می‌دهد که باعث می‌شود گیاه آب بیشتری را جذب نماید.

نتایج نشان داد که اثرهای ساده آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر روی درصد پروتئین معنی‌دار بود اما اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). بیشترین درصد پروتئین در رژیم آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی و تیمار کودی ترکیبی NPK+NPP گزارش شد (جدول ۳). نیتروژن به‌عنوان جزء اصلی پروتئین و اسید نوکلئیک می‌باشد که در رشد گیاه بسیار مؤثر است (Haque & Jakhro, 2001). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح کود زیستی باکتریایی و کود شیمیایی NPK، پروتئین برگ به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. پیشرفت افزایش پروتئین برگ در اثر کاربرد کودهای باکتریایی در لوبیا سبز گزارش شده است (Uyanoz, 2007). این نتایج نشان می‌دهد که کاربرد باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، با تثبیت زیستی بیشتر نیتروژن، سنتز آمینواسیدها را در برگ‌ها افزایش داده و به تجمع پروتئین در برگ کمک می‌کند. افزایش مقدار پروتئین کل در برگ‌ها با افزودن کودهای زیستی و ترکیب با کود شیمیایی ممکن است به‌علت جذب بیشتر و در دسترس قرار دادن نیتروژن و فسفر در اثر استفاده از کودهای زیستی باشد (Ram Rao *et al*., 2007). از سویی بررسی‌ها نشان می‌دهد که بروز تنش خشکی حتی با اضافه کردن کودهای شیمیایی و زیستی نیتروژنه و با وجود اینکه باعث جذب مقداری نیتروژن و فسفر گردیده است، به‌طورکلی باعث کاهش میزان درصد پروتئین می‌گردد.

اثر ساده آبیاری و اثر ساده مصرف کودهای مختلف بر روی عدد اسپد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج بدست‌آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان عدد اسپد کاهش یافت. به‌طوری که بیشترین میزان عدد اسپد در رژیم آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی و در تیمار ترکیبی NPK+NPP دیده شد (جدول ۳). تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل گیاه می‌گردد (Brevedan & Egli, 2003). شاخص کلروفیل بالا باعث سبزمانی بیشتر برگ و در نتیجه دوام سطح برگ می‌گردد. گزارش شد که شاخص کلروفیل با میزان کلروفیل ارتباط خطی مثبت دارد و برگ‌هایی که شاخص کلروفیل بالاتری دارند دوام بیشتری داشته و مدت زمان استفاده از تشعشع و فتوسنتز در آنها افزایش می‌یابد (Lindquist *et al*., 2005). از سویی میزان کلروفیل برگ می‌تواند برای تعیین وضعیت نیتروژن گیاه و تنظیم میزان کود نیتروژن مورد نیاز به‌منظور افزایش کارایی مصرف نیتروژن با رسیدن به حداکثر عملکرد در گیاهان، استفاده شود (Zgallai *et al*., 2006). با توجه به اینکه نیتروژن یکی از مهمترین عناصر تشکیل‌دهنده کلروفیل، پروتوپلاسم، اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و بسیاری از آنزیم‌های گیاهی است، رشد بیشتر گیاه نیز حکایت از جذب بیشتر عنصر مذکور دارد. در این مطالعه نیز مشاهده شد که با کاربرد ترکیبی کود شیمیایی و کود باکتریایی در شرایط بدون تنش عدد اسپد گیاه نعناع فلفلی در مقایسه با سایر تیمارها افزایش یافت.

درصد اسانس تنها در اثرهای ساده رژیم آبیاری و مصرف کودها معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج بدست‌آمده نشان داد که بیشترین درصد اسانس در رژیم آبیاری ۵۰٪ ظرفیت زراعی و کود ترکیبی NPK+NPP بدست آمد (جدول ۳). تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان تحت شرایط محیطی خشک تمایل به افزایش نشان می‌دهد. امروزه فرضیه‌ای با عنوان فرضیه موازنه رشد–تمایز مطرح شده که بیان می‌کند هر کمبودی که رشد را بیش از فتوسنتز محدود کند، تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه را در گیاهان افزایش می‌دهد (Andalibi & Nouri, 2014). Andalibi و Nouri

(۲۰۱۴) گزارش کردند که تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان تحت شرایط محیطی خشک روند افزایشی دارد. به‌علاوه اعتقاد بر این است که سنتز بیشتر متابولیت‌های ثانویه در تحمل گیاهان تحت تنش می‌تواند نقش داشته باشد (Safikhani *et al*., 2007). همچنین Kalra (۲۰۰۳) گزارش کرد که درصد اسانس در گیاه دارویی نعناع فلفلی در تیمار ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم با تیمار کاربرد کودهای شیمیایی برابری می‌کند. از سویی نتایج این تحقیق با نتایج Leithy و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی کاربرد ازتوباکتر در افزایش میزان اسانس در گیاه رزماری و Fatma و همکاران (۲۰۰۶) در مورد اثر مثبت ازتوباکتر، آزوسپیریلیوم و باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر اسانس گیاه *Mazorana hortensis* مطابقت دارد.

نتایج نشان داد که اثر متقابل رژیم آبیاری و مصرف کودها بر روی عملکرد اسانس معنی‌دار بود (جدول ۲). اثر متقابل آبیاری با ظرفیت زراعی ۵۰ و کود ترکیبی NPP+NPK بالاترین میانگین را به خود اختصاص دادند که در مقایسه با شاهد عملکرد اسانس را بیش از ۲/۵ برابر افزایش داد. با توجه به نتایج این آزمایش می‌توان گفت که با وجود کاهش وزن خشک نعناع فلفلی، عدم تأثیرپذیری عملکرد اسانس نعناع فلفلی در سطح تنش خشکی شدید در تیمار کودی ترکیبی NPP+NPK مورد مطالعه ناشی از افزایش درصد اسانس در این سطح تنش خشکی است. Petropoulos و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که تنش خشکی سبب کاهش بیوماس گیاه جعفری شد اما کیفیت و عملکرد اسانس این گیاه را افزایش داد. همچنین نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که عنصر نیتروژن نقش کلیدی را در افزایش میزان اسانس برگ به‌ویژه گیاهان تیره نعناع دارد. در این راستا می‌توان به نتایج اثر مثبت نیتروژن بر اسانس گونه *Mentha arvensis* (Saxena & singh, 1996) و اسانس گونه *M. piperita* (Singh *et al*., 1989) اشاره نمود. همچنین Shokrani و همکاران (۲۰۱۲) دریافتند که کود زیستی نیتروکسین (تلفیق ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم) سبب افزایش معنی‌دار عملکرد اسانس در گل همیشه‌بهار شد.

به‌طور کلی براساس نتایج بدست‌آمده در این آزمایش می توان بیان کرد که هر چند با کاهش میزان آب مصرفی و به‌تبع آن بروز تنش خشکی از میزان عملکرد و عناصر ماکرو گیاه نعناع فلفلی کاسته می‌شود اما با مصرف کود، به‌ویژه کود زیستی باکتریایی همراه با کود شیمیایی، می‌توان تا حدی از بروز اثرهای سوء تنش خشکی بر شاخص‌های این گیاه کاست. از سویی با کاهش میزان آب مصرفی، بر درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی افزوده می شود. همچنین نتایج نشان داد که رژیم‌های آبیاری و کودهای مختلف به‌ترتیب تأثیری در میزان عناصر پتاسیم و سدیم نداشت.

سپاسگزاری

بودجه این تحقیق از محل اعتبارات طرح پژوهشی (شماره ۴۸۰۶۵ مورخ ۹۷/۰۸/۳۰) معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد تأمین شده است که بدین‌وسیله از مسئولان محترم این دانشگاه سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

- Aghaalikhani, M., Iranpoor, A. and Naghdibadi, H., 2013. Changes in crop and phytochemical yield of *Echinacea purpurea* (L.) Moench Medicinal plant influenced by urea and bio fertilizer. Journal of Medicinal Plants, 12(2): 121-136.
- Alizadeh, O. and Alizadeh, A., 2007. Effects of mycorrhiza on different soil moisture conditions on elemental adsorption in corn. Journal of Research in Agricultural Sciences, 3(1): 101-108.
- Andalibi, B. and Nouri, F., 2014. Effect of cycocel on photosynthetic activity and essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) under drought stress. Iranian Journal of Plant Biology, 6(22): 91-104.
- Araya, T., Noguchi, K. and Terashima, I., 2010. Effect of nitrogen nutrition on the carbohydrate repression of photosynthesis in leaves of *Phaseolus vulgaris* L. Journal of Plant Research, 123: 371-379.
- Arve, L.E., Torre, S., Olsen, J.E. and Tanino, K., 2011. Stomatal responses to drought stress and air humidity in abiotic stress in plants mechanisms and adaptations. Journal of Plant Research, 119: 267-280.

- Ashraf, M. and Foolad, M.R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206-216.
- Brevedan, R.E. and Egli, D.B., 2003. Short periods of water stress during seed filling, leaf senescence, and yield of soybean. Crop Science. 43: 2083-2088.
- Chapman, H.D. and Pratt, P.F., 1961. Methods of analysis for soils, plants and waters. University of California, Division of Agricaltural Science, 61: 150-179.
- Eid, R.A., Abo-Sedera, S.A. and Attia, M., 2006. Influence of nitrogen fixing bacteria incorporation with organic and/or inorganic nitrogen fertilizers on growth, flower yield and chemical composition of Celosia argentea. World Journal of Agricultural Sciences, 2(4): 450-458.
- Erkossa, T., Stahr, K. and Tabor, G., 2002. Integration of organic and inorganic fertilizers: Effect on vegetable productivity. Ethiopian Agricultural Research Organization, Debre Zeit Agricultural Research Centre, Ethiopia, 82: 247-256.
- Fatma, E.M., El-Zamik, I., Tomader, T., El-Hadidy, H.I., El-Fattah, L. and Seham, H., 2006. Efficiency of biofertilizers, organic and in organic amendments app. lication on growth and essential oil pf marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous. Agricultural Microbiology Department, Faculty of Agricultural, Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Department, Desert Research Center, Cairo, Egypt.
- Ghaedi Jashni, M., Mosavinik, S.M. and Aminifar, J., 2016. The role of drought stress and phosphorus and zinc fertilizers on the elements and yield of essential oil of German Chamomile. Journal of Horticultural Science, 29(4): 642-651.
- Girgis, M., Khalil, H. and Sharaf, M., 2008. In vitro evaluation of rock phosphate and potassium solubilizing potential of some Bacillus strains. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2: 68-81.
- Gupta, M., Kiran, S.H., Gulati, A., Singh, B. and Tewari, R., 2012. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin-A biosynthesis of *Aloe barbadensis* Miller. Microbiological Research, 167: 358-363.
- Haj Sayed Hadi, M.R., 2011. Principles of Sustainable Agriculture. Islamic Azad University Press, 125p.
- Haque, I. and Jakhro, A.A., 2001. Soil and fertilizer potassium: 261-263. In: Rashid, A., Memon, K.S., Bashir, E.L. and Bantel, R., Soil Science. National Book Foundation, Islamabad, Pakistan, 598p.
- Inanlofar, M., Omidi, H. and Pazeki, A., 2014. Morphological, agronomic and oil content changes of oil of *Portulaca oleracea* L. under dry and biological / chemical fertilizers of nitrogen. Journal of Medicinal Plants, 12(4): 170-184.
- Jafari, F., 2014. Overview of biological baby foods in organic farming. Third National Congress of Organic and Conventional Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, 20-21 August: 4.
- Kader, M.A., Main, M.H. and Hogue, M.S., 2002. Effects of Azotobacter inoculants on the yield and nitrogen uptake by wheat. Journal of Biological Science, 2: 259-261.
- Kalra, A., 2003. Organic cultivation of Medicinal and aromatic plants. A hope for sustainability and quality enhancement. Journal Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye-Yielding Plants (MADPs), FAO: 198.
- Kamrava, S., Babaeian Jolodar, N. and Bagheri, N., 2017. Evaluation of drought stress on chlorophyll and proline traits in soybean genotypes. Journal of Crop Breeding, 9(23): 95-104.
- Leithy, S., El-Meseiry, T. and Abdallah, E.F., 2006. Effect of biofertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on Rosemary herbage oil yield and quality. Journal of Applied Research, 2: 773-779.
- Lindquist J.L., Arkebauer, J.T., Walters, T.D., Cassman, G.K. and Dobermann, A., 2005. Maize radiation use efficiency under optimal growth conditions. Agronomy Journal, 97: 72-78.
- Mikovacki, N., Marinkovic, J., Cacic, N. and Bgelic, D., 2010. Microbial abundance in rhizosphere of sugarbeet in dependence of fertilization and inoculation with Azotobacter Chroococcum. Research Journal of Agricultural Science, 42(3): 260-264.
- Munns, R. and James, R., 2003. Screening methods for salinity tolerance: A case study with tetraploid wheat. Plant & Soil, 253: 201-218.
- Pal, K.K., Tilak, K.V., Saxena, A.K., Dey, R. and Singh, C.S., 2001. Suppression of maize root diseases caused by *Macrophomia phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminaerum* by plant growth promoting rhizobacteria. Microbiological Research, 156: 209-223.
- Petropoulos, S.A., Dimitra, D., Polissiou, M.G. and Passam, H.C., 2008. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. Scientia Horticulturae, 115: 393-397.
- Pirzadeh, A.R., Shakiba, M.R., Zehtab Salmasi, S. and Mohammadi, S.A., 2015. Effects of water stress on some nutrients uptake in *Matricaria chamomilla* L. Applied Field Crops Research (Pajouhesh & Sazandegi), 28(106): 1-7.
- Puentes-Ramirez, L.E., Bustillos-Cristales, R., Tapia-Hernandez, A., JimenezSalgado, T., Wang, E.T., MartinezRomero, E. and Caballero-Mellado, J., 2006. Novel nitrogen fixing acetic acid bacteria,

dry land conditions. Bhartiya Krishi Anusandhan Patrika, 6: 43-48.
- Singh, V.P., Chatterjee, B.N. and Singh, P.V., 1989. Response of mint species to nitrogen fertilization. Journal of Agricaltural Science, 113: 267-272.
- Singleton, U.L. and Rossi, J., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-posphotungstic acid reagent. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158.
- Sodaeizadeh, H., Shamsayi, M., Tajamoleyan, M., Mir Mohammadi Maibodi, S.A.M. and Hakimzadeh, M.A., 2016. Investigation of the effect of drought stress on some morphological and physiological characteristics of savory (*Satoreja hortensis*). Journal of Process and Plant Function, 5(15): 1-12.
- Stajkovic, O., Delic, D., Josic, D., Kuzmanovic, D., Rasulic, N. and Knezevic-Vukcevic, J., 2011. Improvement of common bean growth-promoting bacteria. Romanian Biotechnological Letters, 16(1): 5919-5926.
- Uyanoz, R., 2007. The effects of different bioorganic, chemical fertilizers and combination on yield macro and micronutrition content on dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). International Journal of Agricultural Research, 2(2): 115-125.
- Waling, I., Van Vark, W., Houba, V.J.G. and Van der Lee, J.J., 1989. Soil and plant analysis, a series of syllabi, part 7. Plant Analysis Procedures, Wageningen Agriculture University, 250p.
- Wensing, A., Braun, S.D., Buttner, P., Expert, D., Volksch, B., Ullrich, M.S. and Weingart, H., 2010. Impact of siderophore production by *Pseudomonas syringae* pv. Syringae 22d/93 on epiphytic fitness and biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* 1a/96. Applied and Environmental Microbiology, 76(9): 2704-2711.
- Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, 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: 155-166.
- Yasamin, S., Bakar, M.A.R., Malik, K.A. and Hafeez, F., 2004. Isolation, characterization and benefical effects of rice associated plant growth promoting bacteria from Zanibar soils. Journal of Basic Microbiology, 44: 241-252.
- Zgallai, H., Steppe, K, and Lemeur, R., 2006. Effects of different levels of water stress on leaf water potential, stomatal resistance, protein and chloropyll content and certain antioxidative Enzymes in tomato plants. Journal of Integrative Plant Biology, 48: 679-85.

Gluconacetobacter johannae sp. nov. and *Gluconacetobacter azotocaptans* sp. nov., associated with coffee plants. International Journal of Systematic and Evolution Microbiology, 51: 1305-1314.
- Ram Rao, D.M., Kodandaramaiah, J., Reddy, R.S. and Rahmathulla, V.K., 2007. Effect of VAM fungi and bacterial biofertilizers on mulberry leaf quality and silkworm cocoon characteristics under semiarid conditions. Journal of Environmental Sciences, 5(2): 111-117.
- Ranjkar, P.N., Tambekar, D.H. and Wate, S.R., 2007. Study of phosphate solubilization efficiencies of fungi and bacteria isolated from saline belt of Purna River basin. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 3: 701-703.
- Razavizadeh, R., Shafaghat, M. and Najafi, S.H., 2014. Effect of water deficit on morphological and physiological parameters of *Carum copticum*. Iranian Journal of Plant Biology, 6(22): 25-38.
- Safikhani, F., Heydari sharifabad, H., Syadat, A., Sharifi ashorabadi, A., Syednedjad, M. and Abbaszadeh, B., 2007. The effect of drought stress on percentage and yield of essential oil and physiological characteristics of *Deracocephalum moldavica* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 23(1): 86-99.
- Saxena, A. and Singh, N., 1996. Yield and nitrogen uptake of Japanese mint (*Mentha arvensis*) under various moisture regimes, much application and nitrogen fertilization. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences, 18: 472-480.
- Setayeshmehr, Z. and Ganjali, A., 2013. Investigate the effects of drought stress on plant growth and physiological properties (*Anethum graveolens* L.). Journal of Horticultural Science, 27(1): 27-35.
- Sharma, A.K., 2002. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios, 300p.
- Sheng, X.F. and He, L., 2006. Solubilization of potassium bearing minerals by a wild type strain of *Bacillus edaphicus* and its mutants and increased potassium uptake by wheat. Canadian Journal of Microbiology, 52: 66-72.
- Shokrani, F., Pirzad, A., Zardoshti, M.R. and Darvishzadeh, R., 2012. Effect of biological nitrogen on the yield of dried flower and essential oil of *Calendula officinalis* L. under end season water deficit condition. International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 3(1): 24-34.
- Singh, R.V. and Chauhan, S.P.S., 1994. Response of barley to the levels and sources of nitrogen with and without zinc in relation to yield and water use under

Effects of different biofertilizers on elements, essential oil and yield of Peppermint (*Mentha piperita* L.) under drought stress conditions

M. Parsa[1*], R. Kamaei[2] and B. Yousefi[2]

1*- Corresponding author, Department of Agronomy and Plant Breeding, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
E-mail: parsa@ferdowsi.um.ac.ir
2- Ph.D. student of Agronomy, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: April 2019 Revised: September 2019 Accepted: September 2019

Abstract

In order to investigate the effects of different irrigation regimes and different fertilizer compositions on the yield indices and elements in peppermint (*Mentha piperita* L.), a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications at the research greenhouse of Ferdowsi University of Mashhad, during the growing season 2017-2018. Factors were consisted of irrigation regime at three levels including 100% FC, 75% FC and 50% FC, and fertilizer at five levels including 1-chemical fertilizer (NPK)+bacterial biofertilizer (NPP), 2- NPP, 3-NPK, 4-micronutrient fertilizer (MIC), 5-MIC + amino acid fertilizer (AP). In this experiment, dry weight, plant height, nitrogen, phosphorus, potassium, sodium, protein, SPAD number, essential oil content and yield were measured. The results of analysis of variance showed that irrigation regimes and different fertilizers had significant effects on dry weight, nitrogen, phosphorus, protein and essential oil content at 1% level and on SPAD number at 5% level. The highest dry weight (14.56 g) and phosphorus (0.43%) were observed in 100% FC treatment and the highest nitrogen (2.001%), protein (12.51%), SPAD number (45.3) and potassium (1.66%) were obtained in NPK+NPP fertilizer. Also, the highest essential oil content (1.64%) was measured in 50% FC treatment. The results of this study showed that under severe drought conditions, utilization of bacterial and chemical fertilizers combinations make growth and physiological characteristics of peppermint less affected by drought stress.

Keywords: Essential oil yield, spade index, nitrogen, phosphorus, peppermint (*Mentha piperita* L.).