نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵، ص. ۳۰۲-۲۹۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 30, No. 2, Summer 2016, P. 293-302
ISSN: 2008 - 4730

بررسی تأثیر کودهای آلی و شیمیایی بر عملکرد برگ، درصد و اجزای اسانس به لیمو (*Lippia citriodora* Kunth)

محمّدتقی عبادی[۱]- مجید عزیزی[۲]- فاطمه سفیدکن[۳]- نوراله احمدی[۴*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۹/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۰۶

چکیده

با توجه به افزایش تقاضا در بازار در حال رشد فرآورده‌های دارویی با منشا گیاهی، تولید ارگانیک و ارتقاء کیفیت ماده‌ی خام اولیه بایستی اولین هدف جهت توسعه‌ی این محصولات باشد. در این راستا آزمایشی گلدانی بر پایه طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و سه تکرار بر روی گیاه دارویی به لیمو در سال ۱۳۹۱ و در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس صورت پذیرفت. تیمارها شامل استفاده از ورمی‌کمپوست به میزان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجم گلدان، ورمی‌واش، کودکامل و شاهد (بدون کود) بودند. پس از برداشت برگ‌ها در مرحله شروع گلدهی، اسانس آن‌ها استخراج شد و سپس به‌وسیله دستگاه GC و GC/MS مورد تجزیه قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین عملکرد برگ (۷/۷۳ گرم) و میزان اسانس (۱/۱ درصد) مربوط به تیمار استفاده از ۳۰ درصد ورمی‌کمپوست در گلدان بود و کمترین عملکرد برگ (۴/۷۵ گرم) و محتوای اسانس (۰/۸ درصد) به تیمار شاهد تعلق داشت. در بررسی اجزای اسانس، بیشترین میزان سیترال (۵۴/۹ درصد) متعلق به تیمار کود کامل بود ولی بیشترین میزان لیمونن و ۱/۸ سینئول (به ترتیب ۷/۴ و ۸/۸ درصد) در تیمار استفاده از ۳۰ درصد ورمی‌کمپوست در گلدان مشاهده شد. همچنین در بررسی گروه‌های اجزای اسانس، تیمار ۳۰ درصد ورمی‌کمپوست بیشترین مقادیر مونوترپن های هیدروکربنی و اکسیژن‌دار (به ترتیب ۱۲/۴ و ۶۳/۳ درصد) را به خود اختصاص داد. با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که کود ورمی‌کمپوست می‌تواند به عنوان جایگزین مطلوب کودهای شیمیایی در راستای تولید ارگانیک به لیمو با کمیت و کیفیت مواد موثره بالا استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: سیترال، گیاه دارویی، ورمی‌کمپوست، ورمی‌واش

مقدمه

یکی از اصول مهم در برنامه ریزی تولید گیاهان دارویی به منظور حصول عملکرد بالا و با کیفیت مواد موثره مطلوب، ارزیابی سیستم‌های مختلف تغذیه گیاه است (۲). تغذیه صحیح گیاهان دارویی همراه با رعایت اصول تولید ارگانیک، ضمن حفظ محیط زیست و استانداردهای بهداشتی مواد خام گیاهان دارویی سبب افزایش عملکرد کمی و کیفی مواد موثره در این گیاهان می‌شود (۲۹).

به لیمو (وِرون) با نام علمی *Lippia citriodora* Kunth، درختچه‌ای است بومی مکزیک، خزان پذیر و از خانواده شاه‌پسند[5] که دارای برگ‌هایی باریک، کشیده و به رنگ سبز روشن می‌باشد. جنس *Lippia* در حدود ۲۰۰ گونه در سرتاسر جهان دارد (۱۸) و تنها گونه‌ی به لیمو در ایران، *L. citriodora* می‌باشد (۲۲). این گیاه به طور گسترده به عنوان دمنوش و ادویه پیتزای مکزیکی استفاده می‌شود (۱۸). این گیاه دارای قدمت زیادی در درمان آسم، سرماخوردگی، نفخ شکم، اسهال، سوء هاضمه، بی خوابی و اضطراب است (۱۰). مهم‌ترین اثرات درمانی این گیاه عبارتند از: ضد تشنج، مسکن، ضد اسپاسم، تب بر و تسهیل کننده هضم غذا (۳۰). مقالات متعددی اثرات ضد میکروبی اسانس این گیاه را گزارش نموده‌اند (۱۲، ۱۳، ۱۹ و ۲۶). تأثیر آنتی اکسیدانی اسانس این گیاه نیز به اثبات رسیده است (۳، ۲۸ و ۳۱).

۱ و ۴- دانش آموخته دکتری علوم باغبانی گرایش گیاهان دارویی و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
(*-نویسنده مسئول: Email: ahmadin@modares.ac.ir)
۲- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استاد بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

5- Verbenaceae

مصرف کودهای آلی به خصوص ورمی‌کمپوست یکی از راه های تامین بخشی از نیازهای غذایی گیاهان محسوب می شود. ورمی‌کمپوست کود آلی است که شامل یک مخلوط زیستی بسیار فعال از باکتری‌ها، آنزیم‌ها، بقایای گیاهی و پیله‌های کرم خاکی می‌باشد (۹). ورمی‌کمپوست به علت داشتن میزان خلل و فرج زیاد، از ظرفیت بالای نگهداری آب، تهویه و همچنین از توانایی زه‌کشی مناسب برخوردار است (۵). وجود عناصر غذایی ازت، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در مقایسه با سایر کودهای آلی و همچنین وجود عناصر میکرو مانند آهن، روی، مس و منگنز از دیگر مزایای کود ورمی‌کمپوست می باشد (۶). ورمی‌واش عصاره ی آبی ورمی‌کمپوست محسوب می شود که حاوی عناصر غذایی پرمصرف و کم مصرف، هورمون های رشد، آنزیم ها و ویتامین ها است و اثرات شگرفی بر رشد، عملکرد و مقاومت گیاهان به بیماری‌ها دارد (۲۴ و ۲۵).

تاکنون مطالعات زیادی تاثیر مثبت استفاده از کودهای آلی بخصوص ورمی‌کمپوست و ورمی‌واش را بر روی عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی اثبات نموده اند. در بررسی تاثیر کود دامی و ورمی‌کمپوست های حاصل از کود دامی و خاک اره بر عملکرد کمی و میزان اسانس به لیمو، بیشترین عملکرد برگ خشک (۱/۹۱ گرم در بوته) و میزان اسانس (۰/۲۱ درصد) در تیمار ورمی‌کمپوست حاصل از کود دامی بدست آمد ولی اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نداشت (۱۷). عزیزی و همکاران (۸) گزارش نمودند که تیمار ۱۵ درصد وزنی ورمی‌کمپوست نسبت به استفاده از کود کامل شیمیایی و ورمی‌واش، دارای درصد اسانس و عملکرد خشک بالاتری در گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) رقم اصلاح شده کشکنی لولو[1] بود. انور و همکاران (۴) مشاهده نمودند که مصرف ۵ تن ورمی کمپوست در هکتار 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. درزی و همکاران (۱۱) در بررسی تأثیر کاربرد ورمی کمپوست و کود فسفات زیستی بر عملکرد و اجزاء عملکرد گیاه دارویی آنیسون (*Pimpinella anisum* L.) گزارش نمودند که بیشترین ارتفاع بوته، تعداد چتر در بوته، عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه با مصرف ۱۰ تن ورمی کمپوست در هکتار حاصل گردید. آن‌ها بیان داشتند که کاربرد ۱۰ تن ورمی کمپوست در هکتار و مصرف دو بار کود فسفات زیستی، بهترین نتیجه را داشته است. نعمتی و همکاران (۲۵) در بررسی تأثیر غلظت های مختلف کود آلی ورمی واش بر صفات مورفولوژیک، درصد و عملکرد اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) بیان نمودند که صفاتی همچون ارتفاع بوته، تعداد گره، فاصله میان‌گره ها، سطح برگ، وزن خشک بوته و عملکرد اسانس تحت تاثیر این کود قرار گرفتند به‌طوری که تیمار ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام ورمی‌واش سبب دستیابی به بیشترین وزن خشک بوته و تیمار ۱۲۰۰۰ پی‌پی‌ام ورمی‌واش باعث رسیدن به بیشترین عملکرد اسانس گردید. استفاده از ورمی‌واش در گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) سبب ارتفاع بوته، عملکرد بوته تر و خشک، عملکرد برگ و محتوای اسانس بالاتر نسبت به تیمارهای شاهد، کاربرد کود کامل شیمیایی و زه‌آب کمپوست گردید و از لحاظ معنی‌داری با کاربرد ورمی‌کمپوست به میزان ۷ تن در هکتار تفاوتی نداشت (۷). با بررسی‌های انجام شده، در خصوص تاثیر کود ورمی‌کمپوست و ورمی‌واش و یا مقایسه بین کودهای آلی و شیمیایی بر روی گیاه دارویی به لیمو یافته های تحقیقاتی معدود و غیرکاملی به دست آمد، لذا در راستای کاربرد کمتر کودهای شیمیایی به منظور پیشگیری از آلودگی محیط زیست و همچنین ترغیب تولیدکنندگان به کاربرد بیشتر کودهای آلی در راستای تولید ارگانیک و پایدار گیاه دارویی به لیمو، این تحقیق به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این بررسی در سال ۱۳۹۱ و در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار (هر تکرار شامل ۶ عدد گلدان) و شش تیمار شامل سه تیمار ورمی‌کمپوست به میزان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجم گلدان، ورمی‌واش (به‌صورت افزودن به آب آبیاری در سه مرحله شامل دو هفته پس از استقرار گیاهان در گلدان، مرحله ایجاد شاخه‌های فرعی و سه هفته قبل از برداشت)، کود کامل شیمیایی (طریقه مصرف همانند تیمار ورمی‌واش) و شاهد (بدون کود) بود که مجموعاً در ۱۰۸ عدد گلدان انجام شد. نشاهای ۱۵ سانتی‌متری تهیه شده از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهران که دارای سیستم ریشه مناسبی بودند، در اواخر اردیبهشت ماه به گلخانه منتقل شده و در هر گلدان (با ارتفاع ۴۵ و قطر دهانه ۲۸ سانتی‌متر که محتوی ۱۲ کیلوگرم خاک بود) یک عدد نشا کشت گردید. حداقل و حداکثر دمای گلخانه در طول این آزمایش ۲۰ و ۲۷ درجه سانتی‌گراد بود و درجه رطوبت نسبی گلخانه در حدود ۴۰ درصد اندازه‌گیری شد. مشخصات آنالیز خاک و کود ورمی‌کمپوست در جدول شماره ۱ مشاهده می گردد. کود ورمی‌واش با استفاده از ورمی‌کمپوست مورد استفاده در این آزمایش و به روش زیر تهیه گردید (۸): ۵ کیلوگرم ورمی‌کمپوست در ۵ لیتر آب مقطر به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد که در طول این زمان بوسیله دستگاه شیکر[2] هم‌زده می‌شد. پس از گذراندن مخلوط حاصل از صافی، به نسبت ۱

1- Keshkeni luvelou

2- Lab shaker

به ۱۰ با آب مقطر رقیق گردید و تا زمان استفاده، در ظروف شیشه‌ای و در مکانی تاریک و خنک نگهداری شد. کود کامل مورد استفاده در این آزمایش محصول شرکت مِل اسپرینگ[1] کشور هلند بود که بر طبق دستورالعمل آن به میزان یک گرم در یک لیتر آب حل گردید و مشخصات آن در جدول ۱ مشاهده می‌شود. سه ماه پس از استقرار بوته‌ها و در هنگام شروع گلدهی، سرشاخه‌های بوته‌ها از ارتفاع ۱۰ سانتی‌متری سطح گلدان برداشت شدند و به مکان سایه و دارای دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تهویه مناسب جهت خشک کردن منتقل گردیدند. پس از خشک شدن سرشاخه‌ها، وزن آن‌ها اندازه‌گیری گردید و سپس برگ‌ها آن‌ها جهت اندازه‌گیری عملکرد برگ خالص به‌دقت و بدون آسیب دیدن جدا شد و توزین گردید و جهت استحصال اسانس به آزمایشگاه گروه باغبانی منتقل شد. جهت تعیین میزان اسانس، مقدار ۲۰ گرم برگ خرد شده به کمک دستگاه کلونجر[2] و به روش تقطیر با آب به مدت ۲ ساعت مورد اسانس گیری قرار گرفت. برای تجزیه نمونه‌های اسانس و اندازه‌گیری دقیق ترکیب‌های موجود در آن از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد که مشخصات آن‌ها در زیر آورده شده است:

دستگاه GC

دستگاه GC مورد استفاده گاز کروماتوگراف فوق سریع مدل Thermo-UFMبا ستون ph-5 (طول ۱۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۴ میکرومتر) بود. دمای اولیه ۶۰ درجه سانتی‌گراد (با زمان نگهداری ۳ دقیقه) بود که با ۸۰ درجه سانتی‌گراد افزایش در هر دقیقه به دمای نهایی ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد رسید. درجه حرارت محفظه تزریق و آشکارساز (FID)، ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود. گاز حامل هلیوم (با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد) بود که با سرعت ۳۲ سانتی‌متر بر ثانیه (۰/۵ ml/min) در طول ستون حرکت می‌کرد.

دستگاه GC/MS

گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی مدل واریان[3] ۳۴۰۰ از نوع تله یونی مجهز به ستون BD-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون مشابه با برنامه‌ریزی ستون در دستگاه GC بود. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بیشتر از دمای نهایی ستون تنظیم شد. گاز حامل هلیوم بود که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود. شناسایی طیف‌ها به کمک بانک اطلاعات جرمی، زمان بازداری، محاسبه اندیس کواتس، مطالعه طیف‌های جرمی هر یک از اجزای اسانس و بررسی الگوهای شکست آن‌ها، با مقایسه با طیف‌های استاندارد و استفاده از منابع معتبر انجام شد. همچنین با توجه به سطح زیر منحنی هر یک از پیک‌های کروماتوگرام GC و مقایسه آن با سطح کل زیر منحنی، درصد نسبی هر یک از اجزای تشکیل شده اسانس تعیین شد (۱).

جهت تجزیه و تحلیل داده های به‌دست آمده از نرم افزار آماری SAS و برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد. قبل از تجزیه و تحلیل داده ها، تست نرمال بودن آن‌ها انجام شد و پس از اطمینان از حالت توزیع نرمال، نسبت به تجزیه و تحلیل آن‌ها اقدام گردید. مقایسه میانگین های به‌دست آمده توسط روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

عملکرد سرشاخه گلدار و برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان دهنده‌ی اثر معنی دار تیمارهای کودی بر عملکرد برگ گیاه دارویی به لیمو بود ولی عملکرد سرشاخه های گلدار تحت تاثیر این تیمار قرار نگرفت ($p<0.05$). بر اساس نتایج درج شده در شکل شماره ۱، بیشترین میزان عملکرد برگ (۷/۷۳ گرم) متعلق به تیمار استفاده از ورمی‌کمپوست به میزان ۳۰ درصد حجم گلدان بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها به‌جز استفاده از ۲۰ درصد ورمی‌کمپوست داشت و کمترین میزان عملکرد برگ (۴/۷۵ گرم) نیز در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین بین تیمارهای استفاده از کود کامل و ورمی‌واش اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. تیمار استفاده از ورمی‌کمپوست به میزان ۳۰ درصد حجم گلدان توانست میزان عملکرد برگ را نسبت به تیمارهای شاهد، ورمی‌واش و کود کامل به ترتیب ۶۲/۷، ۴۰/۸ و ۳۹/۵ درصد افزایش دهد. در تفسیر علت تاثیر مثبت ورمی کمپوست بر عملکرد برگ گیاه دارویی به لیمو می‌توان عنوان نمود که این کود احتمالاً از طریق بهبود فعالیت‌های میکروبی خاک (نظیر قارچ‌های میکوریزا و باکتری‌های موجود در ریزوسفر نظیر میکروارگانیزم‌های حل کننده فسفات) و تولید تنظیم کننده‌های رشد گیاهی توسط این موجودات و نیز فراهمی جذب بیشتر عناصر غذایی مورد نیاز گیاه مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم محلول سبب افزایش میزان فتوسنتز و ماده خشک گیاهی می‌گردد (۱۱ و ۲۰). همچنین ورمی کمپوست دارای قدرت بالای جذب و نگهداری آب و عناصر غذایی، و در نتیجه تخلخل زیاد، تهویه و زهکش مناسب می‌باشد و

1- Mel Spring
2- Clevenger
3- Varian

استفاده از آن سبب بهبود رشد و عملکرد گیاهان زراعی می‌شود (۱۶). در بیان دلیل تاثیرگذاری کمتر ورمی‌واش و کود کامل نسبت به ورمی‌کمپوست بر روی عملکرد برگ، می‌توان به ماهیت مایع بودن آن‌ها و خارج شدن از محیط ریشه گیاهان اشاره نمود در حالی‌که ورمی‌کمپوست علاوه بر تاثیر مثبت بر روی بافت خاک و جامعه میکروبی، مانند یک کود کندرهاشونده به‌تدریج مواد غذایی خود را آزاد نموده و تاثیر پایدارتری دارد (۵). نتایج مشابهی در رابطه با تاثیر مثبت ورمی‌کمپوست بر عملکرد کمی گیاهان دارویی مانند ریحان (۸)، همیشه بهار (۵)، کدوی تخمه کاغذی (۱۶) و آنیسون (۱۱) گزارش شده است.

درصد اسانس

بر طبق جدول ۲، نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان دهنده‌ی اثر معنی‌دار تیمارهای کودی بر درصد اسانس گیاه دارویی به لیمو بود ($p<0.05$). همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، بیشترین محتوای اسانس (۱/۱ درصد) مربوط به تیمار استفاده از ورمی‌کمپوست به میزان ۳۰ درصد حجم گلدان بود که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای ورمی‌کمپوست ۲۰ درصد و ورمی‌واش (۱ درصد) نداشت و کمترین محتوای اسانس (۰/۸ درصد) مربوط به تیمار استفاده از کود کامل و شاهد بود. با افزایش میزان استفاده از ورمی‌کمپوست از ۱۰ درصد به ۳۰ درصد حجم گلدان، افزایش معنی‌داری در محتوای اسانس گیاهان مشاهده شد به‌طوری که میزان اسانس در برگ‌های به لیمو ۲۲ درصد افزایش یافت. در تفسیر نتیجه حاصل از بهبود میزان اسانس به لیمو در اثر مصرف ورمی کمپوست می‌توان اظهار داشت.

جدول ۱- نتایج آنالیز شیمیایی نمونه خاک و ورمی‌کمپوست و مشخصات کود کامل

Table 1- The results of chemical analysis of soil, vermicompost and complete fertilizer

	خاک مزرعه Field soil	ورمی‌کمپوست Vermicompost	کود کامل Complete ferilizer
رس Clay (%)	54	-	-
سیلت Silt (%)	29	-	-
شن Sand (%)	17	-	-
EC (ds/m)	2.7	4.37	-
pH	7.9	7.7	-
ماده آلی Organic matter (%)	0.06	18	-
N	(٪) 0.05	(٪) 1.12	(٪) 20
P	(ppm) 8.4	(٪) 1.85	(٪) 20
K	(ppm) 200	(٪) 0.57	(٪) 20
Fe (ppm)	1.48	4800	1000
Zn (ppm)	1.60	88.5	230
Cu (ppm)	0.93	11.5	75
Mn (ppm)	5.56	420.1	320

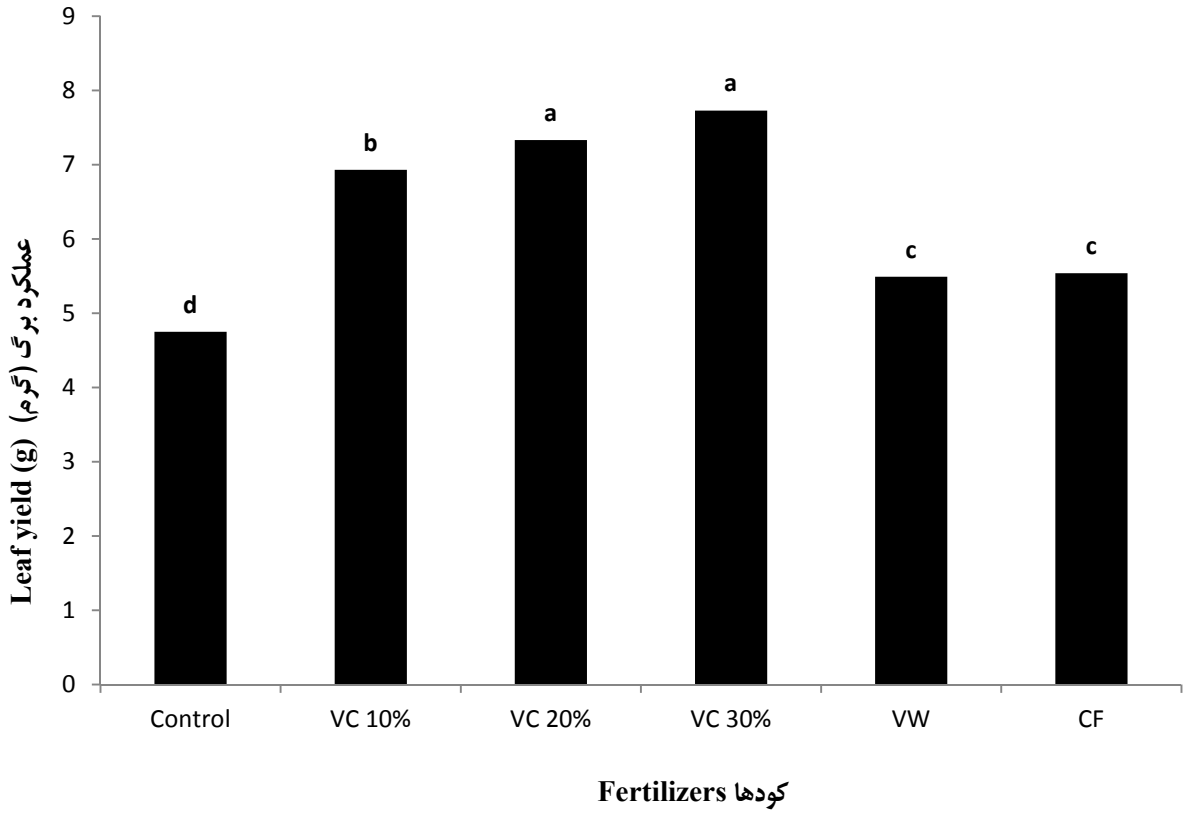
جدول ۲- آنالیز واریانس تأثیر کودهای آلی و شیمیایی بر عملکرد و درصد اسانس به لیمو

Table 2- Variance analysis of yield and essential oil percent of lemon verbena as affected by organic and chemical fertilizers

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	عملکرد پیکر رویشی Aerial parts yield	عملکرد برگ Leaf yield	درصد اسانس Essential oil (%)
کود Fertilizer	5	6.021 ^{ns}	5.419*	0.028*
خطا Error	12	16.665	3.372	0.026

^{ns} عدم معنی‌داری، * معنی‌دار در سطح ۵ درصد

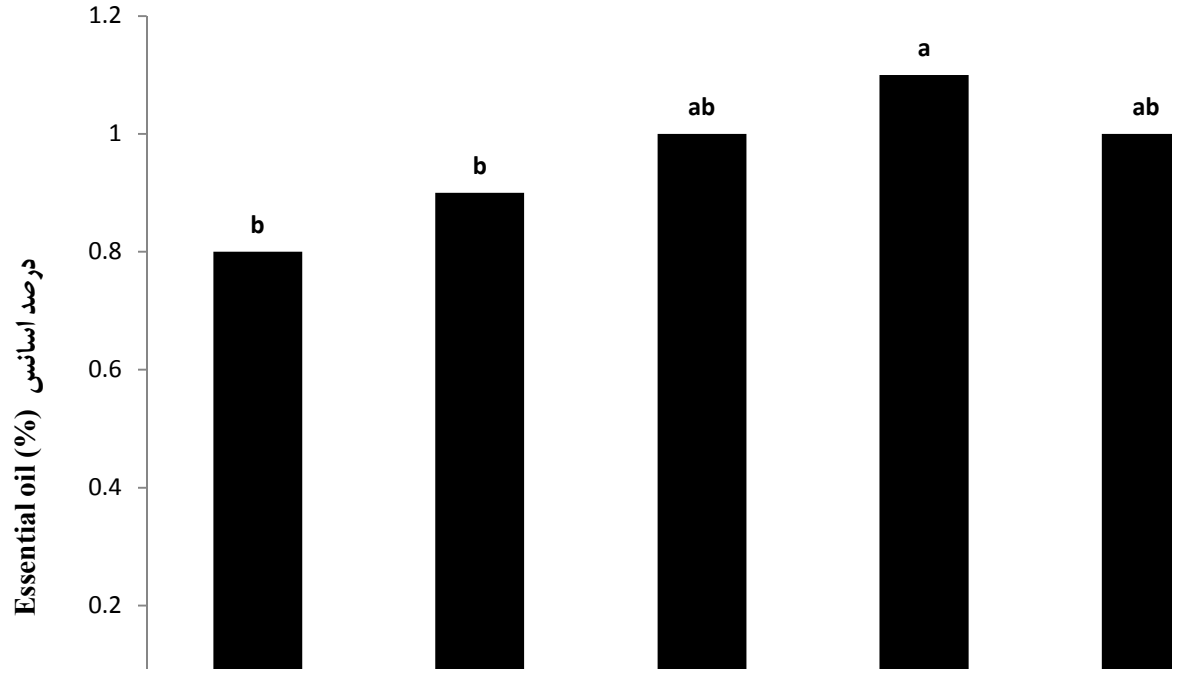
^{ns} and *: are non-significant and significant at 5 % probability level, respectively



شکل ۱- تاثیر کودهای آلی و شیمیایی بر عملکرد برگ به لیمو (حروف مشابه در ستون‌ها بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد است). VC: ورمی کمپوست، VW: ورمی واش و CF: کود کامل

Figure 1- Effect of organic and chemical fertilizers on leaf yield of lemon verbena (means in each column followed by similar letter (s) are not significantly different at 5% probability level based on Duncan's Multiple Range Test). VC: vermicompost, VW: vermiwash and CF: complete fertilizer

افزودن کودهای حاوی نیتروژن، فسفر و پتاسیم، درصد و عملکرد اسانس را در گیاهان دارویی افزایش می‌دهند زیرا این عناصر در توسعه و تقسیم سلول‌های جدید حاوی اسانس و بیوسنتز اسانس و مواد مؤثره گیاهان دارویی نقش مهمی ایفا می‌کند (۲۷)، افزایش مقادیر ورمی کمپوست از طریق فراهم نمودن جذب بیشتر فسفر و نیتروژن موجب افزایش میزان اسانس در پیکر رویشی گردید که با نتایج سایر محققین مطابقت داشت (۴، ۸ و ۲۰). ورمی‌واش نیز تاثیر مثبتی بر درصد اسانس داشت و از این لحاظ با تیمارهای ورمی کمپوست تفاوت معنی‌داری نداشت که احتمالاً به دلیل وجود عناصر غذایی و اسید هیومیک بوده است (۲۵). البته کود کامل با وجود این که از لحاظ عناصر غذایی ذکر شده غنی بود ولی ورمی‌کمپوست به دلیل اثرات مثبت بر باکتری‌های همزیست خاک و همچنین دارا بودن هورمون‌های رشد و برخی آنزیم‌ها، توانست تاثیر بیشتری بر محتوای مواد موثره به لیمو بگذارد. فعالیت میکروبی ورمی‌کمپوست سبب تولید مقادیر بالایی از هورمون‌های رشد مانند اکسین، جیبرلین و سیتوکینین توسط میکروارگانیزم‌ها می‌شود. همچنین تولید میزان بالایی هیومیک اسید در طی فرآیند ساخت ورمی‌کمپوست سبب می‌شود که این کود آلی اثرات مثبتی بر عملکرد کمی و کیفی گیاهان داشته باشد (۲۳). نتایج این تحقیق با نتایج سایر محققین مبنی بر افزایش مواد موثره گیاهان دارویی در اثر کاربرد کود ورمی‌کمپوست و ورمی‌واش مطابقت داشت (۸، ۱۱، ۲۰ و ۲۵).



شکل ۲- تاثیر کودهای آلی و شیمیایی بر میزان اسانس به لیمو (حروف مشابه در ستون‌ها بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد است). VC: ورمی کمپوست، VW: ورمی واش و CF: کود کامل

Figure 2– Effect of organic and chemical fertilizers on essential oil content of lemon verbena

(means in each column followed by similar letter (s) are not significantly different at 5% probability level based on Duncan's Multiple Range Test). VC: vermicompost, VW: vermiwash and CF: complete fertilizer

اجزای اسانس

بر طبق نتایج آنالیز اسانس‌ها با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی، ۲۲ ترکیب در اسانس نمونه های گیاهی شناسایی گردید که مهم‌ترین اجزای آن عبارت بودند از: نرال[1]، ژرانیال[2]، لیمونن[3] و ۱،۸ سینئول[4]. البته ترکیباتی مانند گاما اِلِمِن[5]، اسپاچولنول[6] و گلوبولول[7] نیز در مقادیر متوسطی در اسانس مشاهده شد (جدول ۳). نتایج آنالیز اسانس نمونه‌ها با مشخصات اسانس به لیمو در فارماکوپه گیاهی ایران (۱۴) مطابقت داشت.

۳-۱- سیترال: به مجموع دو ترکیب نرال و ژرانیال، سیترال گفته می شود که مهم‌ترین جزء اسانس به لیمو محسوب می‌گردد. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، بیشترین میزان سیترال (۵۴/۹ درصد) مربوط به تیمار کود کامل بود و کمترین میزان (۴۵/۵ درصد) در تیمار ۲۰ درصد ورمی‌کمپوست مشاهده گردید. لازم به ذکر است که تیمار شاهد، ورمی‌واش و ۳۰ درصد ورمی‌کمپوست به ترتیب دارای ۵۳/۹، ۵۳/۷ و ۵۱/۲ درصد سیترال بودند (شکل ۳).

۳-۲- لیمونن: بر طبق شکل ۴، بیشترین و کمترین میزان ترکیب لیمونن (۷/۴ و ۴/۹ درصد) به ترتیب در تیمارهای ۳۰ درصد ورمی‌کمپوست و ۲۰ درصد ورمی‌کمپوست مشاهده شد و تیمارهای شاهد و ورمی‌واش به ترتیب با ۶/۳ و ۶ درصد لیمونن در وضعیت متوسطی قرار داشتند (جدول ۳).

۳-۳. ۱، ۸ سینئول: بیشترین میزان این ترکیب (۸/۸ درصد) در تیمار ۳۰ درصد ورمی‌کمپوست وجود داشت که تفاوت زیادی با سایر تیمارها نشان می داد و کمترین میزان (۴/۳ درصد) متعلق به تیمار ۲۰ درصد ورمی‌کمپوست بود (جدول ۳).

۳-٤. بررسی گروه‌های اجزای اسانس: همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، مونوترپن‌های اکسیژن‌دار بیشترین بخش ترکیبات اسانس به لیمو تحت تیمارهای مختلف کودی را تشکیل می‌دادند. تیمار ۳۰ درصد ورمی‌کمپوست بیشترین مقادیر مونوترپن‌های هیدروکربنی و اکسیژن‌دار (به ترتیب ۱۲/۴ و ۶۳/۳

1- Neral
2- Geranial
3- Limonene
4- 1,8-cineole
5- γ-elemene
6- Spathulenol
7- Globulol

درصد) را به خود اختصاص داده بود ولی بیشترین میزان سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنی و اکسیژن‌دار (به ترتیب ۱۳/۱ و ۱۸/۹ درصد) در تیمار ۲۰ درصد ورمی‌کمپوست مشاهده شد (جدول ۳).

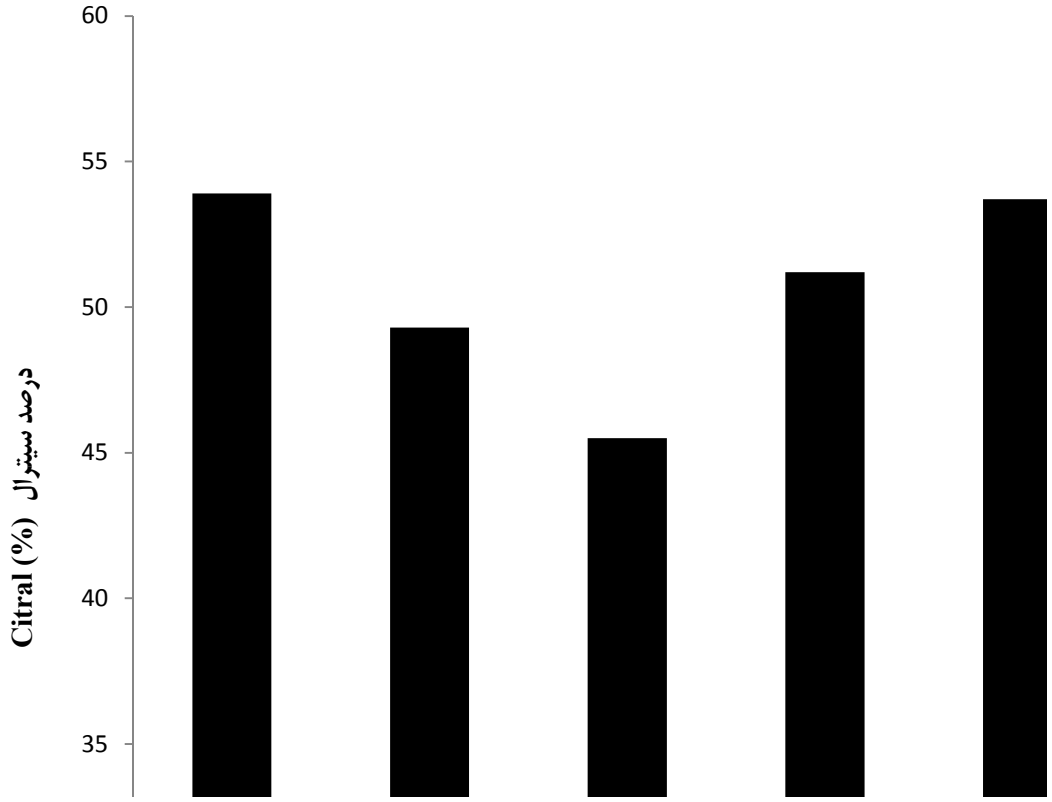
همان‌طور که مشاهده شد، تنها در رابطه با ترکیب سیترال کود کامل توانست با اختلاف ناچیزی (۱ تا ۴ درصد) نسبت به ورمی‌واش و ورمی‌کمپوست بر اجزای اسانس به لیمو برتری داشته باشد که البته با در نظر گرفتن کاهش درصد اسانس در اثر کاربرد این نوع کود، در واقع عملکرد سیترال مطلوبی نداشته است. ورمی‌واش نیز بر تمامی ترکیبات اسانس مانند کود کامل تاثیرگذار بود که نشان دهنده امکان جایگزینی آن در تغذیه کودی به لیمو از طریق آب آبیاری با اثرات مشابه بر روی اجزای اسانس این گیاه در راستای کشاورزی ارگانیک و پایدار می باشد. در تفسیر نتیجه حاصل از بهبود میزان اجزای اسانس به لیمو در اثر مصرف ورمی کمپوست می‌توان اظهار داشت از آنجایی که اسانس‌ها ترکیباتی ترپنوئیدی بوده که واحدهای سازنده آن‌ها 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 می‌باشند (۲۰)، امکان دارد افزایش ترکیبات اصلی اسانس به لیمو همچون سیترال، لیمونن و ۱و۸ سینئول در اثر فراهم بودن موارد ذکر شده باشد. ورمی کمپوست می تواند سبب بهبود فعالیت باکتری‌ها و میکروارگانیزم‌ها شود و شرایط لازم برای حلالیت فسفر را فراهم آورد و متعاقب آن دسترسی گیاه به فسفر را افزایش دهد و از آن‌جا که فسفر نقش مهمی در بیوسنتز اجزاء اصلی تشکیل دهنده اسانس می‌باشد، بنابراین ورمی کمپوست می‌تواند منجر بهبود کمیت و کیفیت اسانس شود (۱۵). نتایج این تحقیق با نتایج سایر محققین در رابطه با تاثیر مثبت ورمی‌کمپوست بر اجزای اصلی اسانس گیاهان دارویی هم‌چون رازیانه (۲۱)، بابونه (۱۵)، بادرشبی (۲۰) و ریحان (۴) مطابقت داشت.

جدول ۳- بررسی اجزای اسانس برگ به لیمو در تیمارهای مختلف کودی

Table 3- Study of essential oil composition of lemon verbena in different fertilizer treatments

***: VC: vermicompost, VW: vermiwash and CF: complete fertilizer**

ردیف No.	نام ترکیب Compound	شاخص بازداری RI	CF	VW	VC 30%	VC 20%	VC 10%*	Control
1	α-pinene	938	–	–	0.3	–	–	–
2	camphene	953	–	–	0.4	–	–	–
3	sabinene	981	2	1.7	3.6	2.6	2.4	1.8
4	limonene	1028	5.7	6	7.4	4.9	5.8	6.3
5	1,8-cineole	1031	5	5.3	8.8	4.3	4.9	5.7
6	γ-terpinene	1062	–	0.4	0.5	0.5	0.4	0.4
7	terpinolene	1090	0.3	0.2	0.2	0.3	0.3	0.3
8	citronellal	1152	1.4	1.5	1	1.3	1.4	1.3
9	α-terpineol	1190	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.8
10	nerol	1228	–	–	0.2	–	–	–
11	neral	1238	22.4	22	19.9	18.2	20.8	23
12	geranial	1267	32.5	31.7	31.3	27.3	28.5	30.9
13	neryl acetate	1360	1.3	1.2	1.3	1.3	1.3	1.3
14	α-copaene	1379	–	–	0.2	–	–	–
15	α-gurjunene	1410	–	–	0.1	–	–	–
16	E-caryophyllene	1421	1	1.1	0.8	1.1	0.9	0.9
17	γ-elemene	1439	7.2	7.9	7.2	11.7	8.5	7.8
18	α-humulene	1456	0.4	0.3	1.5	0.3	0.4	0.5
19	cubenol	1514	–	–	1.3	–	0.3	–
20	spathulenol	1580	8.3	8.5	6.1	12.2	9.8	7.4
21	globulol	1587	5.6	5.9	4.4	6.2	6.2	6.2
22	epi-α-cadinol	1642	0.4	0.4	0.4	0.5	0.5	0.6
	Monoterpene hydrocarbons		8	8.3	12.4	8.3	8.9	8.8
	Oxygenated monoterpenes		63.4	62.5	63.3	53.2	57.8	63
	Sesquiterpene hydrocarbons		8.6	9.3	9.8	13.1	9.8	9.2
	Oxygenated sesquiterpenes		14.3	14.8	12.2	18.9	16.8	14.2
	کل ترکیبات شناسایی شده total identified compounds		94.3	94.9	97.7	93.5	93.3	95.2



شکل ۳- تاثیر کودهای آلی و شیمیایی بر میزان ترکیب سیترال در اسانس به لیمو (VC: ورمی کمپوست، VW: ورمی واش و CF: کود کامل)

Figure 3– Effect of organic and chemical fertilizers on citral in essential oil of lemon verbena. VC: vermicompost, VW: vermiwash and CF: complete fertilizer

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که ورمی‌کمپوست در مقایسه با کود کامل و ورمی‌واش تاثیر بیشتری بر میزان عملکرد برگ و درصد اسانس به لیمو داشت به‌طوری که با افزایش میزان استفاده از آن در ترکیب خاک از ۱۰ درصد به ۳۰ درصد حجمی، عملکرد برگ و محتوای اسانس برگ‌های به لیمو افزایش معنی‌داری پیدا کرد. همچنین ورمی‌کمپوست با تاثیر مثبت بر اجزای اصلی اسانس این گیاه توانست سبب دست‌یابی به بیشترین مقادیر مونوترپن‌های هیدروکربنی و اکسیژن‌دار گردد. با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می رسد که کود ورمی‌کمپوست می‌تواند به عنوان جایگزین مطلوب کودهای شیمیایی در راستای تولید ارگانیک به لیمو با کمیت و کیفیت مواد موثره بالا باشد و یا با استفاده تلفیقی آن‌ها در تولید زراعی گیاه دارویی به لیمو، زمینه‌ی مصرف کمتر کودهای شیمیایی را فراهم آورد.

سپاسگزاری

نگارندگان این مقاله بر خود وظیفه می‌دانند از مساعدت‌های آقایان دکتر احمد معینی، مهندس علی توکلی حسینی، مهندس محمود نادری و معرفت اسماعیلی جهت انجام این پژوهش تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

1- Adams R.P. 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured Publishing Crop, NewYork. 456 p.
2- Akbarinia A., Ghalavand A., Sefidkon F., Rezaei M.B., and Sharifi A. 2004. Study on the effect of different rates of chemical fertilizer, manure and mixture of them on seed yield and main, compositions of essential oil of ajowan (*Trachyspermum copticum*). Pajouhesh-Va-Sazandegi, 61: 32-41. (in Persian with English abstract)

3- Alavi L., Barzegar M., Jabbari A., and Naghdibadi H. 2011. The effect of heat treatment on chemical composition and antioxidant property of *Lippia citriodora* essential oil. Journal of Medicinal Plants, 10: 65-75.
4- Anwar M., Patra D.D., Chand S., Alpesh K., Naqvi A.A., 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): 1737-1746.
5- Atiyeh R.M., Arancon N.Q., Edwards C.A., and Metzger J.D. 2001. The influence of earthworm processed pig manure on the growth and productivity of marigolds. Bioresource Technology, 81 (2): 103-108.
6- Atiyeh R.M., Subler S., Edwards C.A., Bachman G., Metzger J.D., and Shuster W. 2000. Effects of vermicomposts and composts on plant growth in horticultural container media and soil. Pedobiologia, 44 (5): 579-590.
7- Ayyobi H., Peyvast G.A., and Olfati J.A. 2013. Effect of vermicompost and vermicompost extract on oil yield and quality of peppermint (*Mentha piperita* L.). Journal of Agricultural Sciences, 58 (1): 51-60.
8- Azizi M., Baghani M., Lackzian A., and Aroiee H. 2007. Effect of different level of vermicompost and vermiwash spraying on morphological traits and essential oils content of *Ocimum basilicum*. Agricultural Sciences and Technology, 21: 41-52. (in Persian with English abstract)
9- Bremness L. 1999. Herbs. Eyewitness Handbook, London, 176 p.
10- Carnat A., Carnat A.P., Fraisse D., and Lamaison J.L. 1999. The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. Fitoterapia, 70: 44-49.
11- Darzi M.T., Hadjseyed Hadi M.R., and Rejali F. 2011. Effects of vermicompost and phosphate biofertilizer application on yield and yield components in Anise (*Pimpinella anisum* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26: 452-465. (in Persian with English abstract)
12- Duarte M.C., Figueira G.M., Sartoratto A., Rehder V.L., and Delarmelina C. 2005. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 97 (2): 305-311.
13- Duschatzky C.B., Martinez A.N., Almeida N.V., and Bonivardo S.L. 2004. Nematicidal activity of the essential oils of several Argentina plants against the root-knot nematode. Journal of Essential Oil Research, 16 (6): 626-628.
14- Ghasemi Dehkordi N. 2000. Iranian Herbal Pharmacopeia. Ministry of Health and Medical Education publication, Tehran. 795p. (in Persian)
15- Ghazi Manas M., Banj Shafiee Sh., Hajseyed Hadi M.R., and Darzi M.T. 2013. Effects of vermicompost and nitrogen on qualitative and quantitative yield of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29: 269-280. (in Persian with English abstract)
16- Jahan M., Amiri M.B., Shabahang J., and Tahami M.K. 2013. The effects of simultaneous application of different organic and biological fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of medicinal pumpkin (*Cucurbita pepo* L.). Iranian Journal of Field Crops Research, 11: 73-87. (in Persian with English abstract)
17- Kiafar R., Akbarzadeh M., and Mahboub Khommami A. 2013. Investigation of the effect of some organic fertilizers on the oil of lemon verbena (*Lippia citriodora* L.) and its antibacterial effects. International Journal of Farming and Allied Sciences, 2 (20): 866-871.
18- Kintzios S.E. 2002. Oregano: The Genera *Origanum* and *Lippia*. CRC press, NewYork. 296 p.
19- López A.G., Theumer M.G., Zygadlo J.A. and Rubinstein H.R. 2004. Aromatic plants essential oils activity on *Fusarium verticillioides* Fumonisin B (1) production in corn grain. Mycopathologia, 158 (3): 343-349.
20- Mafakheri S., Omidbaigi R., Sefidkon F. and Rejali F. 2012. Effect of vermicompost, biophosphate and azotobacter on quantity and quality of essential oil of *Dracocephalum moldavica* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 27: 596-605. (in Persian with English abstract)
21- Moradi R., Nasiri Mahallati M., Rezvani Moghaddam P., Lakzian A., and Nejad Ali A. 2011. The effect of application of organic and biological fertilizers on quantity and quality essential oil of *Foeniculum vulgare* Mill. Journal of Horticulture Science, 25: 25-33. (in Persian with English abstract)
22- Mozaffarian V. 2009. Dictionary of Iranian Plant Names: Latin-English-Persian. Farhang Moaser Publication, Tehran. 671p. (in Persian)
23- Nath G., and Singh K. 2011. Effect of foliar spray of biopesticides and vermiwash of animal, agro and kitchen wastes on soybean (*Glycine max* L.) crop. Botany Research International, 4 (3): 52-57.
24- Nath G., and Singh K. 2012. Effect of vermiwash of different vermicomposts on the kharif crops. Journal of Central European Agriculture, 13(2): 379-402.
25- Nemati H., Azizi M., Mohammadi S., and Karimpour S. 2013. The study on the effect of spraying with different concentrations of vermicompost extract (vermiwash) on the morphological traits, yield and percentage of essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Journal of Horticulture Science (Agricultural Sciences and Technology), 27: 411-417. (in Persian with English abstract)
26- Ohno T., Kita M., Yamaoka Y., Imamura S., Yamamoto T., Mitsufuji S., Kodama T., Kashima K., and Imanishi J.O. 2003. Antimicrobial activity of essential oils against Helicobacter pylori. Helicobacter, 8 (3): 207-215.

27- Omidbaigi R. 2006. Production and Processing of Medicinal Plants. Vol 1. Behnashr Publication, Mashhad. 397p. (in Persian)
28- Ono M., Oda E., Tanaka T., Iida Y., Yamasaki T., Masuoka C., Ikeda T., and Nohara T. 2008. DPPH radical-scavenging effect on some constituents from the aerial parts of *Lippia triphylla*. Journal of Natural Medicines, 62 (1): 101-106.
29- Sahoo S. 2001. Conservation and Utilization of Medicinal and Aromatic Plants. Allied publishers, New Delhi, 423 p.
30- Santos-Gomes P.C., Fernandes-Ferreira M., and Vicente A.M.S. 2005. Composition of the essential oils from flowers and leaves of Vervain (*Aloysia triphylla* Britton) Grown in Portugal. Journal of Essential Oil Research, 17 (1): 73-78.
31- Valentão P., Fernandes E., Carvalho F., Andrade P.B., Seabra R.M., and Bastos M.L. 2002. Studies on the antioxidant activity of *Lippia citriodora* infusion: scavenging effect on superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 25 (10): 1324-1327.