



فصل نامه داروهای گیاهی

journal homepage: www.journal.iaushk.ac.ir



بررسی اثر کودهای زیستی روی عملکرد و اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

میثم پورهادی*

کارشناس ارشد مهندسی کشاورزی (گیاهان دارویی)، عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران؛

*مسئول مکاتبات (E-mail: Medicinalplant2010@yahoo.com)

چکیده

مقدمه و هدف: در حال حاضر گرایش به محصولات زیستی حاصل از کشاورزی پایدار به عنوان یک جایگزین مناسب برای کودهای شیمیایی در بازار جهانی افزایش یافته است و بسیاری از شرکت‌های دارویی، مواد خام حاصل از نظام های پایدار و ارگانیک را ترجیح می دهند، گذشته از مزایای بوم شناختی و زیست محیطی، تولید ارگانیک گیاهان دارویی مهم نظیر نعناع فلفلی از نظر اقتصادی نیز با اهمیت جلوه می کند. هدف از این تحقیق، تعیین اثر سه نوع کود بیولوژیک (نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس و بیوسولفور) و اوره بر برخی صفات کمی و کیفی گیاه دارویی نعناع فلفلی بود.

روش تحقیق: این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی در سال های زراعی ۱۳۸۷ تا ۱۳۸۸ در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در ۹ تیمار کودی و ۳ تکرار اجرا شد. تیمارهای کودی شامل نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس و بیوسولفور، هر کدام به مقدار ۴ و ۸ کیلوگرم در هکتار، کود اوره به مقدار ۷۵ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار و تیمار شاهد (بدون مصرف کود) بودند.

نتایج و بحث: نتایج نشان داد که تمامی تیمار های کودی (بیولوژیک و اوره) نسبت به تیمار شاهد در اکثر صفات دارای افزایش معنی داری بودند و از میان کودهای بیولوژیک، دو کود نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس (۸ کیلوگرم در هکتار) بیشترین اثر افزایشده را هم سطح با مصرف کود اوره بر اکثر صفات داشتند. **توصیه کاربردی/ صنعتی:** بر اساس نتایج این آزمایش کودهای بیولوژیکی منجر به افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی نعناع فلفلی گردیدند. هم چنین با کاربرد کودهای زیستی نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس می توان مصرف کود شیمیایی نیتروژن از منبع اوره را کاهش داد که گامی موثر در راستای نیل به کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی های زیست محیطی خواهد بود.

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۴/۱۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۰۷/۳۰

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: به زراعی - به نژادی

کلید واژگان:

- ✓ نعناع فلفلی
- ✓ ارگانیک
- ✓ نیتروکسین
- ✓ سوپرنیتروپلاس
- ✓ بیوسولفور

Mentha viridis حاصل شده است (قهرمان، ۱۳۷۳). اسانس

نعناع فلفلی خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد میکروبی، ضد عفونی کنندگی، ضد التهاب، مخاط گلو و دهان، ضدخارش و سوزش، سوختگی های سطحی، گزیدگی ها و به عنوان یک داروی معطر ضد نفخ کاربرد وسیع دارد و در صنایع غذایی، بهداشتی و آرایشی، شیرینی سازی، نوشابه سازی و صنایع ادویه ای مورد استفاده قرار می گیرد (امیدبیگی، ۱۳۸۸؛ میرحیدر، ۱۳۷۳) به

۱. مقدمه

نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. گیاهی است علفی، چند ساله و ریزوم دار با ساقه های چهارگوش به طول ۴۰ تا ۸۰ سانتی متر و برگ هایی متقابل به رنگ سبز بسیار معطر بیضی شکل، کمی پوشیده از کرک، که حاشیه ی آن ها دندانه داراست. گونه ای هیبرید است که از تلاقی دو گونه *M. aquatica*

میکروبی همیار با گیاهان دارویی در بهبود عملکرد و کیفیت آن‌ها تأثیرگذار خواهد بود (Abdul *et al.*, 2007). از آن‌جا که رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کمیت و کیفیت ماده مؤثره می‌باشد، بنابراین به نظر می‌رسد که تغذیه‌ی سالم این گیاهان از طریق کاربرد کودهای بیولوژیک دارای بیشترین تطابق با هدف تولید گیاهان دارویی می‌باشد (Kapoor *et al.*, 2004; Ratti *et al.*, 2001).

وو و هم‌کاران (Wu *et al.*, 2005) در تحقیقی نشان دادند که استفاده از کودهای بیولوژیک باعث بهبود ساختار فیزیکی خاک و همچنین محتوای ماده آلی و نیتروژن قابل دسترس برای گیاه هم‌زیست می‌شود. مدیریت کود یک عامل اصلی در کشت موفقیت آمیز گیاهان دارویی است (Chatterjee, 2002). نظام‌های کشاورزی اکولوژیک و کم‌نهاد می‌توانند به عنوان جایگزینی برای نظام‌های رایج در نظر گرفته شده و باعث توسعه کشاورزی پایدار و حفظ سلامت محیط زیست گردند (Poudel *et al.*, 2002; Arun, 2002; Wallace, 2001). تمایل به تولید گیاهان دارویی و معطر و تقاضا برای محصولات طبیعی به خصوص در شرایط کشت اکولوژیک، در جهان رو به افزایش می‌باشد (Carrubba *et al.*, 2002). کشت اکولوژیک گیاهان دارویی، کیفیت آن‌ها را تضمین کرده و احتمال اثرات منفی روی کیفیت دارویی و عملکرد آن‌ها را نیز کاهش می‌دهد (Griffe, 2003). یک سیستم ریشه ای فعال، ترکیبات آلی را به‌طور منظم به محیط ریشه‌ی گیاه آزاد می‌کند. این ترکیبات سبب رشد و افزایش جامعه میکروبی خاک شده که به دنبال آن تنوع کارکردی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Mandal *et al.*, 2007). کودهای بیولوژیک توانایی تبدیل عناصر غذایی اصلی را از حالت غیر قابل دسترس به قابل دسترس طی فرآیندهای بیولوژیکی داشته است (Vessey, 2003; Rajendran & Devaraj, 2004) و منجر به توسعه سیستم ریشه ای و جوانه زنی بهتر بذور می‌گردند (Chen, 2006). در نظام‌های کشاورزی پایدار کاربرد کودهای زیستی از اهمیت ویژه ای در افزایش تولید و حفظ حاصل‌خیزی پایدار خاک برخوردار است و باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه یا اصطلاحاً (PGPR) از مهمترین کودهای زیستی می‌باشند (Violent & Portugal, 2007; Sharma, 2002). این باکتری‌ها از

دلیل آشکار شدن اثرات سوء مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی و قیمت رو به افزایش آن‌ها و نیز وارد شدن نیترات به آب‌های زیرزمینی و محیط زیست و بروز بیماری‌هایی نظیر سرطان و یا انباشت سموم در خاک‌ها و کادمیوم همراه کود که وارد چرخه غذایی شده و مسمومیت‌هایی را باعث می‌شود، مجدداً استفاده از کودهای بیولوژیک در کشاورزی مطرح شده است. مسأله تأمین غذای کافی با کیفیت مناسب تجدید نظر در روش‌های افزایش تولید محصولات زراعی را ضروری ساخته است. از این رو کاربرد فرآورده‌های زیستی برای تغذیه گیاهان زراعی به عنوان راه‌کاری بنیادین مد نظر قرار گرفته است (قلاوند و هم‌کاران، ۱۳۸۵). عرضه مواد آلی به خاک، به دلیل پاسخ‌گویی به مبرم‌ترین نیاز آن، بزرگترین مزیت کودهای زیستی می‌باشد، از آن‌جا که امروزه گرایش به محصولات زیستی در بازار جهانی افزایش یافته است و بسیاری از شرکت‌های دارویی، مواد خام حاصل از نظام‌های پایدار و ارگانیک را ترجیح می‌دهند، گذشته از مزایای بوم‌شناختی و زیست‌محیطی، تولید ارگانیک گیاهان دارویی از نظر اقتصادی نیز با اهمیت جلوه می‌کند. کودهای بیولوژیک شامل میکروارگانیسم‌ها و متابولیت آن‌ها می‌باشند که قادر به بالا بردن حاصل‌خیزی خاک، افزایش رشد گیاه و عملکرد محصول هستند. همچنین این میکروارگانیسم‌ها قادر به آماده‌سازی عناصر مغذی از حالت غیرقابل جذب به قابل جذب در طی فرآیند بیولوژیکی می‌باشند (Sharma, 2002).

عرضه‌ی مواد آلی به خاک به‌ویژه در خاک‌های ایران که اکثراً با کمبود مواد آلی مواجه هستند، به دلیل مبرم‌ترین نیاز این خاک‌ها، بزرگترین مزیت این قبیل کودها است (ملکوتی و نفیسی، ۱۳۷۸). در بحث تولید گیاهان دارویی ارزش واقعی به کیفیت محصول و پایداری تولید داده می‌شود و کمیت محصول در درجه دوم اهمیت قرار می‌گیرد (درزی و هم‌کاران، ۱۳۸۸).

حضور باکتری‌های *Azotobacter Azospirillum* و *Pseudomonas* در محیط ریشه‌ی برخی گیاهان دارویی از جمله پروانش (*Catharanthus roseus*)، *Caleus forskohlii*، ریحان (*Ocimum sanctum*) و صبر زرد (*Aloe vera*) گزارش شده است (Karthikeyan, 2008). مدیریت صحیح استفاده از گونه‌های

2002) و اکلیل کوهی (*Rosmarinus officinalis*) اشاره شده است (Leithy et al., 2006).

نتایج تحقیق رائی و هم‌کاران (Ratti et al., 2001) حاکی از آن است که ترکیب قارچ میکوریزا با باکتری‌های محرک رشد گیاه از جمله *باسیلوس* و *آزوسپیریلوم* منجر به افزایش بیوماس و میزان فسفر در گیاه دارویی علف لیمو (*Cymbopogon martini*) گردید. نتایج حاصل از مطالعه عبدل جلیل و هم‌کاران (Abdul-Jaleel et al., 2007) حاکی از آن است که تیمار گیاهچه‌های گیاه دارویی پروانش با باکتری محرک رشد گیاه (*Pseudomonas fluorescens*) سبب افزایش عملکرد زیست توده و میزان آلکالوئید در گیاه در شرایط تنش آبی گردید. در آزمایشی که ساجد و هم‌کاران (۱۳۸۰) به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف کودهای شیمیایی نیتروژن و فسفر و مرحله برداشت بر عملکرد ماده‌ی خشک و روغن در نعنای فلفلی انجام دادند، گزارش کردند که عنصر نیتروژن به میزان ۳۰ کیلوگرم در هکتار و عنصر فسفر به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار و هم‌چنین برداشت گیاه نعنای فلفلی در مرحله اول بالاترین عملکرد ماده خشک و اسانس را در برداشت.

از اهداف این تحقیق می‌توان به ارزیابی مدیریت پایدار عناصر غذایی در کشت پایدار نعنای فلفلی به منظور بهینه سازی تولید آن با استفاده از کودهای بیولوژیک، بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر عملکرد کمی و کیفی گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperita L.*) و امکان سنجی جایگزینی کودهای بیولوژیک با کودهای شیمیایی در تولید گیاه دارویی نعنای فلفلی در راستای کشاورزی پایدار اشاره نمود. با توجه به این‌که نعنای فلفلی از گیاهان دارویی معطر و اسانس دار با مصارف متعدد دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی به شمر می‌رود، ضرورت شناخت و بررسی عوامل موثر در تولید این گونه در شرایط پایدار آشکار می‌گردد. بنابراین نتایج این پژوهش می‌تواند برخی نکات مهم مربوط به واکنش گیاه دارویی نعنای فلفلی را به کودهای بیولوژیک از بعد کمی و کیفی و نیز قابلیت تولید این گیاه را در نظام های پایدار روشن نماید.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. خصوصیات محل آزمایش

طریق تولید مواد شبه هورمونی، کاهش سطوح اتیلن، فراهم کردن مواد غذایی، کنترل زیستی و ایجاد مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی مختلف از جمله کمبود آب و عناصر غذایی و کاهش سمیت عناصر سنگین گیاه را یاری می‌کنند (Violent & Portugal, 2007).

Azotobacter و *Azospirillum* در محیط ریشه گیاه توانایی ساخت و ترشح مقداری مواد بیولوژیکی فعال مانند ویتامین‌های B، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتنیک، بیوتین، اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و غیره را دارند که در افزایش رشد ریشه نقش مفید و مؤثری دارند (Kader, 2002). از طرف دیگر، *Azotobacter* قادر به تولید ترکیبات ضد قارچی بر علیه بیماری‌های گیاهی بوده و هم‌چنین سبب تقویت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه شده که در نهایت بهبود رشد پایهی گیاهی را به دنبال دارد (Chen, 2006).

Azospirillum، علاوه بر قابلیت تثبیت نیتروژن، با تولید مواد محرک رشد، سبب بهبود رشد ریشه و متعاقب آن افزایش سرعت جذب آب و عناصر غذایی گردیده و از این طریق در افزایش عملکرد تأثیرگذار می‌باشد (Tilak et al., 2005). در پژوهشی که بر روی بادرنجبویه با استفاده از (۱۱۲ kg/h) نیتروژن و کود بیولوژیک، بالاترین ارتفاع گیاه در تیمار کود بیولوژیک دیده شده است (Anuradha, 2005). در یک بررسی (Griffiee, 2006) در خصوص اثر ورمی کومپوست، ادرار گاو و مخلوطی از *Azotobacter* بر روی نعنای فلفلی مشخص شد که استفاده از مخلوط کود مذکور سبب افزایش کیفیت اسانس و ماده خشک می‌شود. خرم دل و هم‌کاران (۱۳۸۷)، در بررسی اثر کاربرد کودهای بیولوژیک بر شاخص‌های رشدی در گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa L.*) به این نتیجه دست یافتند که تلفیح بذر سیاه‌دانه با کودهای بیولوژیک باعث افزایش معنی دار ارتفاع شاخص‌های رشدی گیاه در مقایسه با شاهد شد. کوچکی و هم‌کاران (۱۳۸۷) در آزمایشی روی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*)، در مجموع نشان دادند که کاربرد کودهای بیولوژیک نقش مفید و مؤثری در بهبود ویژگی‌های رشد، عملکرد اندام‌های هوایی و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا دارد. در برخی منابع به تأثیر مثبت کودهای بیولوژیکی در رشد گیاه دارویی آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) (Vital et al.,

شده در هر مرحله در سایه خشک و سپس برگ‌های آن‌ها از ساقه جدا شدند. صفات مورد ارزیابی عبارت از طول برگ، عرض برگ، وزن تر برگ در هکتار، وزن خشک برگ در هکتار، وزن تر برگ در ساقه، وزن خشک برگ در ساقه، تعداد برگ در ساقه، درصد اسانس، وزن تر ساقه در هکتار، وزن خشک ساقه در هکتار، طول ساقه، میزان منتون (درصد)، میزان منتول (درصد) بودند.

۲-۳. تجزیه فیتوشیمیایی

با استفاده از روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر انجام شد، بدین نحو که ۳۰ گرم از پودر را در داخل بالن یک لیتری منتقل و ۵۰۰ میلی لیتر آب به آن اضافه کرده، برای مدت ۴ ساعت با سرعت ۳ تا ۴ میلی لیتر در دقیقه اسانس گیری نموده و برای تعیین حجم اسانس از گزیلور به عنوان حلال تعیین کننده حجم اسانس استفاده گردید. به منظور تجزیه فیتوشیمیایی اسانس از روش گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) با مشخصات مندرج در جدول ۲ استفاده شد.

۲-۳. تجزیه و تحلیل اطلاعات

داده های این تحقیق با کمک برنامه آماری SPSS ver 16 مورد تجزیه قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها نیز به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪ انجام شد.

۳. نتایج و بحث

۳-۱. صفات مورفولوژیکی

نتایج نشان داد که تیمارهای کودی بر روی طول برگ تأثیر معنی داری ($p < 0.01$) داشتند (جدول ۳) و بیشترین طول برگ در تیمارهای کودی نیتروکسین ۸ kg/ha و اوره ۱۰۰ kg/ha مشاهده گردید، اگرچه میزان طول برگ در این دو تیمار با تیمارهای اوره ۷۵ kg/ha، بیوسولفور ۸ kg/ha، سوپر نیتروپلاس ۸ kg/ha، نیتروکسین ۴ kg/ha و بیوسولفور ۴ kg/ha از نظر آماری تفاوت معنی داری نداشت. کمترین طول برگ در تیمار شاهد مشاهده شد (نمودار ۱).

این تحقیق با هدف بررسی تاثیر کاربرد کودهای بیولوژیک بر تغییرات عملکرد کمی و کیفی گیاه نعنای فلفلی در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در ۳ تکرار و ۹ تیمار در سال زراعی ۱۳۸۸-۸۷ در مزرعه تحقیقاتی گروه پژوهشی کشت و توسعه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی واقع در هلجرد کرج اجرا شد (جدول ۱).

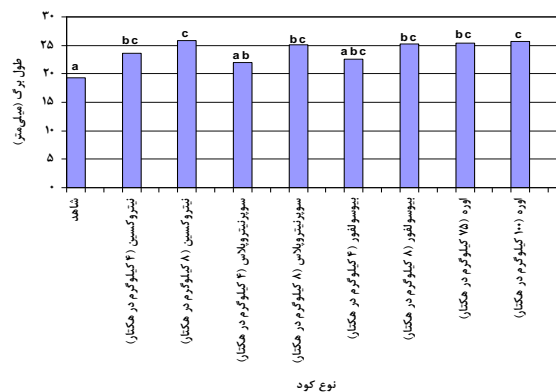
مزرعه مورد نظر در اواخر تابستان ۱۳۸۷ شخم عمیق زده شد و بعد از شخم، دو مرتبه عملیات دیسک به منظور خرد شدن کلوخه‌ها صورت گرفت و در نهایت با لولر، خاک تسطیح گردید. سپس توسط نهرکن، جوی‌ها زده شد، به طوری که در بالای هر پلات یک جوی به منظور آبیاری و یک جوی در پایین هر پلات به عنوان زه کش در نظر گرفته شد. نشاء مورد استفاده جهت کشت از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج تهیه شد. زمان کاشت در مزرعه در پاییز ۱۳۸۷ (۱۳۸۷/۷/۵) بود. طول و عرض واحدهای آزمایشی (کرت‌ها) ۲/۵×۲/۵ و فواصل بین کرت‌ها ۱ متر و فواصل بین بوته‌ها (تراکم) ۳۰×۳۰ سانتی متر در نظر گرفته شد. مبارزه با علف‌های هرز توسط وجین دستی در چند مرحله انجام گردید. عملیات آبیاری مزرعه طرح با توجه به شرایط آب و هوایی و نیاز محصول به طور یکسان انجام شد.

۲-۲. تیمارهای آزمایش

تیمارهای آزمایش شامل شاهد بدون کود، کود زیستی نیتروپلاس (۴ کیلوگرم در هکتار)، کود زیستی نیتروپلاس (۸ کیلوگرم در هکتار)، کود زیستی نیتروکسین (۴ کیلوگرم در هکتار)، کود زیستی نیتروکسین (۸ کیلوگرم در هکتار)، کود زیستی بیوسولفور (۴ کیلوگرم در هکتار)، کود زیستی بیوسولفور (۸ کیلوگرم در هکتار)، کود شیمیایی اوره (۷۵ کیلوگرم در هکتار)، کود شیمیایی اوره (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) بودند. تیمارهای کودی در دو نوبت به صورت سرک و به مقدار یکسان مصرف شدند. نوبت اول اواخر اسفند ۱۳۸۷ در ابتدای شروع رشد مجدد نعنای و نوبت دوم پس از برداشت اول با توجه به تیمارهای مربوطه اعمال گردید. واحدهای آزمایشی در دو نوبت (بار اول ۱۳۸۸/۴/۱۵ و بار دوم ۱۳۸۸/۷/۱) برداشت شدند. گیاهان برداشت

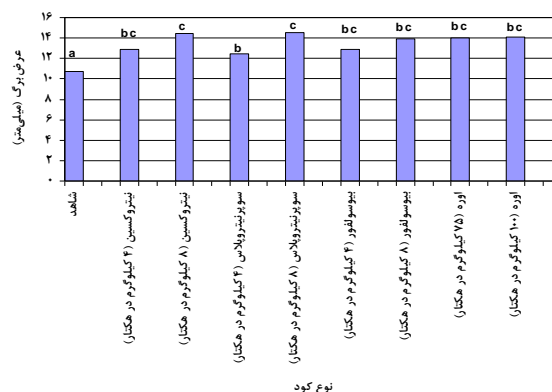
مثبت کودهای بیولوژیک بر ابعاد برگ را مورد تأیید قرار می دهد. با توجه به نتایجی که گرفته شد و تأثیر معنی داری که کاربرد کودهای بیولوژیک در افزایش طول و عرض برگ داشت در خصوص شاخص طول برگ مشاهده شد که با مصرف کمتر نهاده کود نیتروکسین ۸ Kg/ha به نسبت استفاده از مقدار بالای کاربردی کود اوره ۱۰۰ Kg/ha به همان اندازه شاخص طول برگ افزایش یافت و در خصوص شاخص عرض برگ نیز بیشترین عرض برگ با مصرف کم نهاده کود زیستی سوپر نیتروپلاس ۸ Kg/ha حاصل گردید که علت این نتایج را می توان به اثر باکتری ها از طریق تولید مواد شبه هورمونی، کاهش سطوح اتیلن و فراهم کردن مواد غذایی نسبت داد (Violent et al., 2007). باکتری های جنس *ازتوباکتر* و *آزوسپیریوم* از مهمترین باکتری های محرک رشد گیاه می باشند که علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن، با تولید مقادیر قابل ملاحظه ای از هورمون های تحریک کننده رشد به ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکنین رشد و نمو و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می دهند (Karimi & Siddique, 1991). مرادی نژاد و هم کاران (۱۳۸۲) در گیاه اسطوخودوس (*Lavandula officinalis*) نتایج مشابهی را گزارش نمودند. ضمناً نتایج این پژوهش با نتایج تحقیق کوچکی و هم کاران (۱۳۸۷) بر گیاه زوفا که در این میان کود سوپر نیتروپلاس و پس از آن تیمارهای تلفیقی از میکروارگانیسیم ها (مایکوریزا و سودوموناس فلورسنت) بیشترین تأثیر را در افزایش صفات مورد مطالعه داشتند مطابقت داشت.

یوسف و هم کاران (Youssef et al., 2004) در خصوص اثر کودهای زیستی بر گیاه دارویی مریم گلی نتیجه گرفتند که استفاده از کود بیولوژیک حاوی *آزوسپیریوم* و *ازتوباکتر*، سبب افزایش وزن تر اندام های هوایی گیاه در چین های اول و دوم در طی دو فصل می شود. کوچکی و هم کاران (۱۳۸۷) نیز گزارش کردند که در طی دو سال آزمایش کاربرد کودهای بیولوژیک منجر به افزایش ارتفاع و قطر بوته، وزن تر و خشک بوته گیاه زوفا نسبت به شاهد گردید و در این میان کود سوپر نیتروپلاس و پس از آن تیمارهای تلفیقی از میکروارگانیسیم ها بیشترین تأثیر را در افزایش صفات مورد مطالعه داشتند. پورنقی کیکله (۱۳۸۹) در بررسی اثر مصرف توأم کود دامی و کود نیتروژنه (اوره) بر برخی صفات مؤثر بر عملکرد گیاه عروسک



نمودار ۱. مقایسه میانگین آزمون چند دامنه ای دانکن برای طول برگ (حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار است).

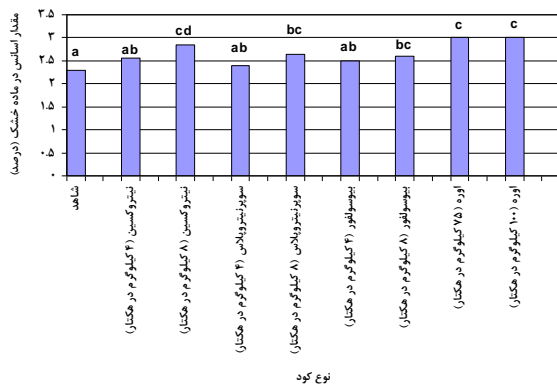
تیمارهای کودی بر عرض برگ در سطح آماری ۰.۱٪ تأثیر معنی داری داشتند (جدول ۳) و کمترین و بیشترین عرض برگ به ترتیب در تیمارهای شاهد (عدم مصرف کود) و سوپر نیتروپلاس ۸ Kg/ha مشاهده شد. که با شاهد تفاوت معنی داری داشت (نمودار ۲).



نمودار ۲. مقایسه میانگین آزمون چند دامنه ای دانکن برای عرض برگ (حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار است).

اگرچه کمترین عملکرد ماده تر در واحد سطح در تیمار شاهد (عدم مصرف کود) مشاهده شده است و بیشترین عملکرد وزن تر در تیمارهای مختلف کودی حاصل شده است ولی مقایسه میانگین آن ها نشان داد که تیمارهای کودی تأثیر معنی داری بر روی عملکرد وزن تر برگ در واحد سطح نداشتند. افزایش مشاهده شده در طول و عرض برگ با گزارش سایر محققین (کوچکی و هم کاران، ۱۳۸۷؛ خرم دل و هم کاران، ۱۳۸۷؛ درزی و هم کاران، ۱۳۸۵؛ امیددی و هم کاران، ۱۳۸۸؛ معنوی فرد، ۱۳۸۵) مطابقت دارد و تأثیر

همراه داشت. میزان منتون اسانس به طور معنی داری ($p < 0.05$) تحت تأثیر تیمارهای کودی قرار گرفت (جدول 4). بیشترین میزان منتون در اسانس در تیمارهای کود اوره 100 Kg/ha و کود اوره 75 Kg/ha و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد (نمودار ۵). در پژوهش حاضر کودهای بیولوژیک نیتروکسین و سوپر نیتروپلاس $8 \text{ کیلوگرم در هکتار}$ به افزایش معنی دار در میزان منتون اسانس در مقایسه با شاهد منتهی نگردید.



نمودار ۴. مقایسه میانگین آزمون چند دامنه ای دانکن برای مقدار اسانس (حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار است.)

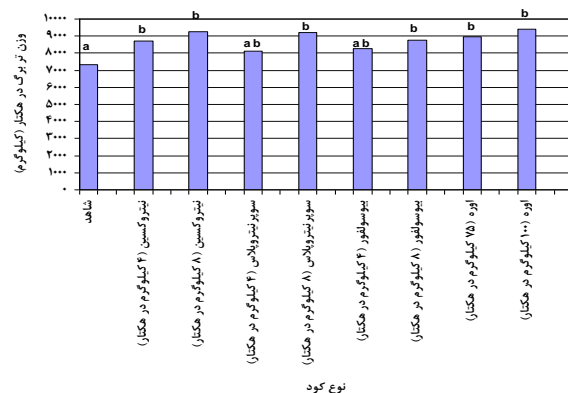
تیمارهای کودی بر روی میزان منتول اسانس تأثیر معنی داری ($p < 0.001$) داشتند (جدول 4). بیشترین میزان منتول اسانس در تیمار 100 Kg/ha و کمترین آن در تیمار شاهد حاصل شد (نمودار 5).

نتایج به دست آمده در این تحقیق با نتایج رومینیسیکا و هم-کاران (Ruminiska et al., 1984) که گزارش کرد مصرف کود نیتروژن (به شکل اوره) در نسبت‌های مختلف در نعنای فلفلی علاوه بر افزایش شاخه و برگ موجب ازدیاد مقدار مواد موثره موجود در اسانس آن می‌شود، هم‌خوانی دارد. در پژوهش حاضر تنها کود بیولوژیک نیتروکسین $8 \text{ کیلوگرم در هکتار}$ توانست میزان منتول اسانس را به میزان معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش دهد اگر چه حداکثر تولید منتول با مصرف اوره به میزان $100 \text{ کیلوگرم در هکتار}$ مشاهده گردید که از نظر آماری با تمام کودهای بیولوژیک تفاوت معنی داری را نشان می‌داد.

پشت پرده (*Physalis alkekengi*) نشان دادند که مصرف کود اوره به میزان 150 Kg/ha منجر به افزایش شاخص وزن تر برگ گردید.

۳-۲. صفات فیتوشیمیایی

میزان اسانس در ماده خشک (درصد) به طور بسیار معنی داری ($p < 0.01$) تحت تأثیر تیمارهای کودی قرار گرفت (جدول ۴). در مجموع بیشترین میزان اسانس در تیمارهای کودی 100 Kg/ha و 75 Kg/ha اوره و کمترین میزان اسانس در تیمار شاهد مشاهده شد (نمودار ۴).



نمودار ۳. مقایسه میانگین آزمون چند دامنه ای دانکن برای وزن تر برگ (حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار است.)

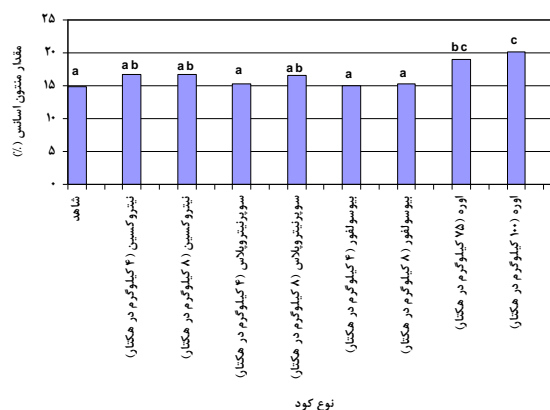
نتایج تحقیق حاضر با نتایج لیتی و هم‌کاران (Leithy et al., 2006) در بررسی کاربرد/تزیباتر در افزایش میزان اسانس در گیاه رزماری و فاتما و هم‌کاران (Fatma et al., 2006) در خصوص اثر مثبت /تزیباتر، /زوسپرلیوم و باکتری‌های حل کننده فسفات بر اسانس گیاه *Mazorana hortensis* مطابقت دارد. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که عنصر نیتروژن نقش کلیدی را در افزایش میزان اسانس برگ به خصوص گیاهان تیره نعنای 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. نیاکان و هم‌کاران (۱۳۸۲)، نیز در بررسی تأثیر کاربرد کودهای شیمیایی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی نعنای فلفلی به این نتیجه دست یافتند که افزایش کود نیتروژن به شکل اوره از سطح صفر به $100 \text{ کیلوگرم در هکتار}$ روند مثبتی را هم بر میزان اسانس برگ و هم اسانس سرشاخه گلدار به

صفات خاک داشته و لذا در ارزیابی نهایی باید به این نکته توجه کافی مبذول گردد. بنابراین می توان با حداقل مصرف نهاده کود بیولوژیک به جای کاربرد مصرف نهاده بالا از کودهای شیمیایی در راستای رسیدن به حداکثر عملکرد و حفظ منابع زیستی و محیطی و هدف نهایی که همان کشاورزی پایدار است، کودهای بیولوژیک را جایگزین کودهای شیمیایی نمود.

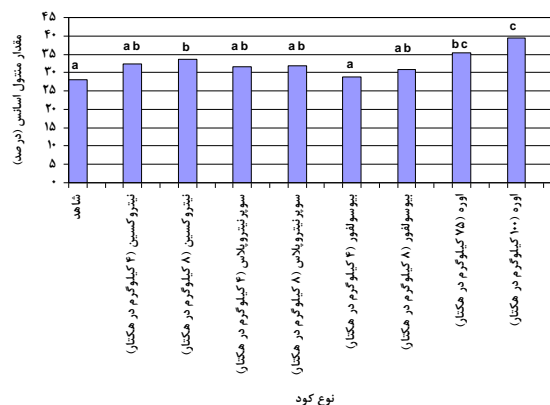
در نهایت پیشنهاد می شود این آزمایش در سطوح مختلفی از کودهای بیولوژیک، نیتروکسین و سوپر نیتروپلاس بررسی شود تا میزان اثر بخش بودن این کودها در افزایش عملکرد، خصوصاً درصد افزایش میزان اسانس و مادهی موثره در کاهش نیاز به کودهای شیمیایی مشخص گردد. هم چنین پیشنهاد می شود فرآیند تأثیر کاربرد کودهای بیولوژیک بر جنبه های مختلف رشد و نمو گیاه دارویی نعنای فلفلی از جمله جذب عناصر غذایی مختلف مورد بررسی قرار گیرد. در ضمن با توجه به نقش کودهای بیولوژیک در ممانعت از تأثیرات زیان آور عوامل بیماری زای گیاهی و افزایش طبیعی مقاومت گیاه، اثرات کاربرد این کودها در مبارزه بیماری های رایج گیاهان دارویی خانواده نعنائیان در مناطق مختلف مورد بررسی قرار گیرد.

۴. تشکر و قدردانی

از ریاست محترم پژوهشکده گیاهان دارویی جناب آقای دکتر نقدی بادی و استاد گرانقدرم جناب آقای دکتر علی مهرآفرین به پاس زحمات ارزشمندشان، در اتمام این پژوهش تقدیر و تشکر به عمل می آورم.



نمودار ۵. مقایسه میانگین آزمون چند دامنه ای دانکن برای منتول اسانس (حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار است).



نمودار ۶. مقایسه میانگین آزمون چند دامنه ای دانکن برای منتول اسانس (حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار است).

۴. نتیجه گیری

در مجموع نتایج آزمایش نشان داد که کاربرد کودهای بیولوژیک نقش مفید و مؤثری در بهبود ویژگی های رشد و عملکرد اندام های هوایی و خصوصیات کیفی گیاه دارویی نعنای فلفلی دارد. علاوه بر تأثیر غیر مستقیم باکتری ها بر جذب عناصر غذایی، میکروارگانیزم های کودهای زیستی، بر رشد گیاه تأثیر مثبتی دارند و غیر از آن به لحاظ تأثیر مثبت بر ساختمان و بافت و تنوع بیولوژیک خاک موجب بهبود سلامت خاک و در نتیجه کمک به پایداری تولید می نمایند. این در حالی است که استفاده از کودهای شیمیایی اثرات معکوس بر

جدول ۱. مشخصات خاک مزرعه مورد مطالعه

عمق خاک	شوری (dS/m)	اسیدیته (pH)	کربنات کلسیم معادل (%)	کربن آلی (%)	ازت کل (%)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	رس (%)	سیلت (%)	شن (%)	بافت	روی (ppm)	روی (ppm)	آهن (ppm)	منگنز (ppm)	مس (ppm)
۰-۳۰ سانتی متری	۰/۹۳	۷/۹	۸/۵	۰/۸۲	۰/۰۸	۳۶/۲	۴۹۸	۱۶	۲۲	۶۲	SL	۰/۶	۰/۶	۵/۷۴	۱۱/۲	۰/۷

جدول ۲. تیمار کودهای بیولوژیک و کود شیمیایی اعمال شده

کود	میزان تقریبی توصیه شده در هکتار	میزان قابل اعمال در هر هکتار	میزان کود در هر کرت $6/25 \text{ m}^2$
سوپر نیتروپلاس	۲-۴ Lit/ha	۴ کیلوگرم سطح ۱	۲/۵ گرم سطح ۱
نیتروکسین	۵-۱۰ Lit/ha	۸ کیلوگرم سطح ۲	۵ گرم سطح ۲
بیو سولفور	۲۵۰ kg/ha + ۵ kg/ha گوگرد	۴ کیلوگرم سطح ۱	۱۵۶/۲۵ گرم + ۲/۵ گرم سطح ۱
اوره	۷۵ kg/ha	۷۵ کیلوگرم سطح ۱	۴۶/۸۷ گرم سطح ۱
شاهد	-	۱۰۰ کیلوگرم سطح ۲	۶۲/۵ گرم سطح ۲

جدول ۳. مشخصات دستگاه GC/Mass

Agilent 6890	مدل دستگاه GC
Agilent 5973	مدل دستگاه Mass
HP_5MS	نوع ستون
30 m	طول ستون
0.25 μ	قطر داخلی ستون
50	دمای اولیه ستون
300	دمای نهایی ستون
He	نوع گاز حامل
Mass	دتکتور

جدول ۴. تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی

میانگین مربعات (MS)				عرض برگ	طول برگ	df	منابع تغییر
مقدار متوتول	مقدار متون	مقدار اسانس	وزن تر برگ در هکتار				
۳۶/۳۶۳***	۱۰/۰۱۵*	۰/۱۸۹***	۱۳۲۱۰۹۱/۶۴۲ ^{n.s}	۴/۰**	۱۴/۴۰۸**	۸	تیمار
۱۵/۰۰۴	۸/۲۹۴	۰/۰۰۸	۳۷۴۷۵۹/۸۹۳	۶/۵۶۹	۷/۷۴۷	۲	تکرار
۵/۹۰۱	۳/۰۲۲	۰/۰۲۰	۵۱۳۸۰۴/۷۰۷	۰/۸۹۴	۳/۵۶۳	۱۶	خطا
-	-	-	-	-	-	۲۷	کل

^{n.s}: نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهای آزمایش است.

** و * به ترتیب بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ آزمون F می باشد.

*** در سطح احتمال ۰/۰۰۱ معنی دار می باشد.

۵. منابع

پورنقی کیکله، م. ۱۳۸۹. بررسی اثر مصرف توأم کود دامی و کود نیتروژنه (اوره) بر برخی صفات مؤثر بر عملکرد گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*)، همایش منطقه ای دستاوردهای نوین در زراعت و نانو تکنولوژی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس.

جایمند، ک.، م.، ب. رضایی، غ. نبی. ۱۳۷۹. بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس دو رقم (کولتیوار) از نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.). فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۶: ۱۳ تا ۲۷.

امیدبگی، ر. ۱۳۸۸. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد دوم. چاپ پنجم، انتشارات آستان قدس رضوی. صفحات ۱۷۰ تا ۲۳۴.

امیدی، ح. ح. نقدی بادی، ع. گلزاد، ح. ترابی و فتوکیان، ج. ۱۳۸۸. تأثیر کودشیمیایی نیتروژن و زیستی نیتروکسین بر عملکرد کمی و کیفی زعفران (*Crocus sativus* L.). فصلنامه گیاهان دارویی. سال هشتم. شماره سی ام. صفحات ۹۸ تا ۱۱۰.

باقر زاده، ک. ۱۳۷۷. بررسی اثر N.P.K. بر روی میزان اسانس و ترکیب فنلی آویشن در مرحله گلدهی. پایان نامه کارشناسی ارشد. رشته علوم گیاهی، دانشگاه اصفهان.

مختلف نیترات آمونیوم. فصلنامه پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۱۹(۱): ۱۵ تا ۳۷.

معنوی، م. ۱۳۸۵. بررسی اثر منابع (کود اوره و نیترات آمونیوم) و سطوح مختلف کود نیتروژنه بر صفات کمی و کیفی و تجمع نیترات در تره ایرانی. پایان نامه کارشناسی ارشد گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا ۱۰۲۰ صفحه.

ملکوتی، ج. م. نفیسی. ۱۳۷۸. کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد با بهینه سازی مصرف کود در ایران. نشر آموزش کشاورزی. ۴۶۰ صفحه.

میرحیدر، ج. ۱۳۷۳. معارف گیاهی، جلد اول. انتشارات دفتر نشر فرهنگ اسلامی، صفحات ۲۸۸ تا ۲۹۴.

نیاکان، م. ر. خاوری نژاد، و م. رضایی. ۱۳۸۲. بررسی تأثیر کاربرد کودهای شیمیایی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه نعناع فلفلی *Mentha piperita L.* فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۱۹(۱): ۱ تا ۱۵.

Abdul-Jaleel, C.P., Manivannan, B., Sankar, A., Kishorekumar, R., Gopi, R., Somasundaram, G. and Panneerselvam, R. 2007. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.*, 60: 7–11.

Anuradha, M. 2005. Effect of Bio-Fertilization on growth, yield and Essential oil in Rosmary (*Rosmarinus officinalis*). Belgrad University.

Arun, K.S. 2002. A Handbook of Organic Farming Pub. Agrobios, India.

Carrubba, A.R., Torre, L. 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)*.

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: 191-202.

خرم دل، س. ع. کوچکی، م. نصیری محلاتی و ر. قربانی. ۱۳۸۷. اثر کاربرد کودهای بیولوژیکی بر شاخص های رشدی سیاهدانه (*Nigella sativa L.*). خلاصه مقالات همایش سراسری کشاورزی پاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۵ و ۶ خرداد ۱۳۸۷. صفحه ۲۷.

درزی، م. ت. قلاوند، ا. رجالی، ف. ۱۳۸۸. بررسی اثر کودهای بیولوژیک بر روی جذب عناصر نیتروژن (N)، فسفر (P)، پتاسیم (K) و عملکرد دانه در گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare Mill*) دارویی و معطر ایران. ۲۵(۱): ۱-۱۹.

زارع زاده، ع. ۱۳۷۶. تغییرات مقدار آکالوئیدهای گیاه دارویی عروسک پشت پرده در واکنش به مقادیر مختلف کود ازت. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده علوم، دانشگاه شیراز.

ساجد، م. ع. ۱۳۸۰. تأثیر سطوح مختلف کودهای شیمیایی ازت و فسفر و مرحله برداشت بر عملکرد ماده خشک روغن در نعناع فلفلی. مؤسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع. همایش ملی گیاهان دارویی ایران.

قلاوند، ا.، آ. حمیدی، م. دهقان شعار، م. ج. ملکوتی، ا. اصغرزاده و ر. چوگان. ۱۳۸۵. کاربرد کودهای زیستی (بیولوژیک). راهبردی بوم شناختی برای مدیریت پایدار بوم نظام های زراعی. مقالات کلیدی نهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات. پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران.

قهرمان، ا. ۱۳۷۳. کورموفیت های ایران (سیستماتیک گیاهی)، جلد اول، مرکز نشر دانشگاهی، چاپ دوم، صفحه ۳۴.

کوچکی، ع.، فخر فروش، ع.، ظریف کتابی ج. ۱۳۷۶. کشاورزی ارگانیک. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

کوچکی، ع. تبریزی، ل. قربانی، ر. ۱۳۸۷. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیکی بر ویژگیهای رشد، عملکرد و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفال (*Hyssopus officinalis*) مجله پژوهش های زراعی ایران. ۶(۸): ۱۲۷ تا ۱۳۷.

مرادی نژاد، ش. ب. خلدبرین، ی. سعادت، ع. مرادشاهی و م. وزیرپور. ۱۳۸۲. تغییر رفتارهای رویشی و مقدار اسانس اسطوخودوس *Lavandula officinalis* در واکنش به مقادیر

- Karimi, M. and Siddique, K. 1991. Crop growth and relative growth rates of old and modern wheat cultivars. *Australian Journal of Agriculture Research.*, 42:13-20.
- 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.
- Mandal, A., Patra, K., 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: 3585-3592.
- Migahed, H., Ahmed, E. and El-Ghany, A. 2004. Effect of different bacterial strains as biofertilizer agents on growth, production and oil of *Apium graveolense* under calcareous Soil. *Journal of Agricultural Sciences.*, 12: 511-525.
- Poudel, D., Hoawath, W.T., Lanini, S.R., Temple, A. and Bruggen, A. 2002. Comparison of soil N availability and conventional farming systems in northern California. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 90:125-137.
- 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: 235-249.
- Rai, U.N., Pandey, K., Sinha, S., Singh, A., Saxena, R. and Gupta, D.K. 2004. Revegetating fly ash landfills with *Prosopis juliflora* L.: impact of different amendments and *Rhizobium* inoculation. *Environ. Int.*, 30: 293 – 300
- Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N. and Gautam, S.P. 2001. Improve in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. motia by rhizobacteria, AMF and *Azospirillum* inoculation. *Microbiological Research.*, 156: 145-149.
- 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.* October, 16 – 20. Thailand. 11 pp.
- Fatma, E.M., El-Zamik, I., Tomader, T., El-Hadidy, H.I. El-Fattah, L. and Seham, H. 2006. Efficiency of biofertilizers, organic and inorganic amendments application on growth and essential oil of marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous. *Agric. Microbiology Dept. , Faculty of Agric. , Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Dept. , Desert Research Center, Cairo, Egypt.*
- Ghosh, M.L., Chatterjee, S.K., Palevitch, D., Simon, Y.E. and Mathe, A. 1993. Physiological and biochemical indexing of synthesis of Essential oil in *Mentha* spp growth in India. *Acta Horticulture*, 331: 351-356.
- Griffe, P., Metha, S. and Shankar, D. 2003. Organic production of medicinal, aromatic and dye-yielding plants (MADPs): Forward, Preface and Introduction, FAO.
- Kader, M.A. 2002. Effects of *Azotobacter* inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. *Journal of Biological Sciences.*, 2: 259-261.
- 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: 307-311.
- Karhikeyan, B., Abdul Jaleel, C., Lakshmanan, G. and Deiveekasundaram, M. 2008. Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.*, 62: 142-145.

- Wu, S., Caob, Z., Lib, K., Cheunga, 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.
- Youssef, A., Edris, A. 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: 299-311.
- Zaied, K.A., Abd-El-Hady, A.H., Afify, A.H. and Nassef, M.A. 2003. Yield and nitrogen assimilation of winter wheat inoculated with new recombinant inoculants of rhizobacteria. *Pakistan Journal of Biological Science*. 6: 344-358.
- Ruminska, A., Suchorska, K. and Weglarz, Z. 1984. Growth and development of peppermint (*Mentha Piperita* L.) in the first and second year of cultivation. *Annals of War saw Agricultural University, SGGW. AR, Horticulture*, 12: 33-39.
- Saxena, A. and Singh, N. 1996. Yiel and nitrogen uptake of japans mint (*Mentha arvensis*) under various moisture regimes, much application and nitrogen fertilization. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*., 18: 472-480.
- Shalan, M.N. 2005. Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds qualityof (*Nigella sativa* L.) plants. *Egyptian Journal of Agricultural Research*., 83: 811-828.
- Sharma, A.K. 2002. A handbook of organic farming. Agrobios, India.
- Singh, V. P., Chatterjee, B.N. and Singh, P.V. 1989. Response of mint species to nitrogen fertilization. *Journal of Agricultural Science*., 113: 267-272.
- Tilak, K., Ranganayaki, K.K., Pal, R., De, A., Saxena, C., Shekhar, N., Shilpi, A., Tripathi, J.K. and Johri, B. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current Science*., 89: 136-150.
- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*., 255: 571-586.
- Violent, H. and Portugal, O. 2007. Alternation of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. *Scientia Horticulture*., 113: 103-106.
- Vital, W., Teixeira, R., Shigihara, A. and Dias, F.M. 2002. Organic manuring with pig biosolids withapplications of foliar biofertilizers in the cultivation of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) . *Ecossistema*., 27: 69-70.
- Wallace, J. 2001. Organic Field Crop Handbook. Pub. Canadian Organic Growers. Ottawa, Ontario.