



Evaluation of Biochar Application with Organic and Biological Fertilizers on the Quantity and Quality of Peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential Oil in Ecological Agriculture

F. Zaefarian^{1*}, V. Akbarpour², M. Kaveh³ and M. Habibi³

Received: 27-08-2020
Revised: 01-05-2021
Accepted: 06-11-2021
Available Online: 13-12-2022

How to cite this article:

Zaefarian, F., Akbarpour, V., Kaveh, M., and Habibi, M., 2022. Evaluation of biochar application with organic and biological fertilizers on the quantity and quality of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil in ecological agriculture. Journal of Agroecology 14(3): 561-578.
DOI: [10.22067/agry.2021.20307.0](https://doi.org/10.22067/agry.2021.20307.0)

Introduction

Cultivation of medicinal and aromatic plants has had long a special rank in the traditional agricultural systems of Iran and these systems have played an important role in creating diversity and sustainability. Management of soil nutrients using organic fertilizers is among the major pillars of sustainable agriculture. Peppermint (*Mentha piperita* L.) is a medicinal plant, in which proper nutrition and absorption of mineral elements play an important role in increasing its quantitative and qualitative performance. The high cost of fertilizers in farming systems, soil pollution, and degradation of soil are factors that caused to full use of available renewable nutrient sources of the plant (organic and biological) with the optimal application of fertilizers in order to maintain fertility, structure, biological activity, exchange capacity and water-holding capacity of the water in the soil. The global approach to balance nutrition and the production of medicinal plants, towards the use of sustainable agricultural systems and the use of management methods, such as the application of biofertilizers, is improving the quantitative and qualitative performance of these plants. So, the use of natural inputs such as organic and biological fertilizers seems to be a good way to move towards a sustainable production system. Accordingly, due to the possible effect of organic fertilizers such as biochar and vermicompost and biological fertilizers like mycorrhizal fungi and plant growth-promoting bacteria on the quantity and quality of peppermint essential oil, this research was carried out under organic conditions.

Materials and Methods

The present research was conducted as a factorial layout based on a randomized complete block design in three replications at Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University in 2017. The experimental site is located at 36° 39'42" N latitude and 53°03'54" E longitude with -11 m above sea level. Soil samples were taken from depths of 0-30 cm before land preparation. Treatment consisted of biochar on two levels (0 and 10 ton ha⁻¹) and organic and biological fertilizers on five levels (no fertilizer, vermicompost (10 ton ha⁻¹), *Pseudomonas fluorescens*, *Azotobacter* and *Arbuscular mycorrhizal* (*Glomus mosseae*, *G. intradices* and *G. etunicatum*). Weeds and pests were controlled mechanically or by hand and no herbicides or pesticides were used. The measured properties also included the peppermint yield, essential oil, and essential oil compounds.

1- Associate Professor, Department of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Horticulture, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran.

3- Ph.D. Student, Department of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran.

* Corresponding author; fa.zaefarian@sanru.ac.ir

Results and Discussion

The results of the analysis of variance showed that the simple effects of biochar and organic and biological fertilizers had a significant effect on the shoot fresh weight at 1% of probability level, while the interaction effect of experimental treatments on this trait did not have a significant effect. According to the results, the application of 10 tons ha⁻¹ of biochar, caused a 42.96% increase in shoot fresh weight compared to no application. In the study of the simple effect of organic and biological fertilizers on shoot fresh weight, the results showed that the highest and lowest ones were obtained with mycorrhiza application and control (no application of organic and biological fertilizers) with an average of 667.95 and 418.08 g m⁻², respectively. The highest shoot dry weight with an average of 89.08 g m⁻² was associated with the combined use of biochar and mycorrhiza and the lowest one belonged to the control (no application of biochar and organic and biological fertilizers) with an average of 61.76 g m⁻². The results also showed that the interaction of biochar and organic and biological fertilizers on essential oil compounds such as Menthone, Menthol, α -Pinene, Cineol-1,8, iso Menthone, Pulegone, Piperitone oxide, Menthyl acetate, and Menthofuran was significant.

Conclusion

In general, the results showed that the use of biochar and biological and organic fertilizers can be effective in both the quality and quantity of peppermint essential oil when the highest percentage of essential oil and the most peppermint essential oil compounds were obtained in treatments with an application of biochar and biological and organic fertilizers. Where, the use of the bacterium *Azobacter* and *Pseudomonas* with biochar had the greatest effect on the quality of peppermint essential oil, especially in Menthol and Menton compounds. Finally, it can be concluded that the combined use of biochar with biological fertilizers has a significant impact on the quantitative and qualitative increase of peppermint essential oil in ecological or low-input agriculture.

Keywords: *Azotobacter*, Menthol, Menthone, *Mycorrhizal*, *Pseudomonas*, vermicompost.



مقاله پژوهشی

ارزیابی کاربرد بیوچار به همراه کودهای آلی و زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) در کشاورزی اکولوژیک

فائزه زعفریان^{۱*}، وحید اکبرپور^۲، محمد کاوه^۳ و مریم حبیبی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۰۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۲/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۱۵

زعفریان، ف.، اکبرپور، و.، کاوه، م.، و حبیبی، م.، ۱۴۰۱. ارزیابی کاربرد بیوچار به همراه کودهای آلی و زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) در کشاورزی اکولوژیک. بوم‌شناسی کشاورزی ۱۴(۳): ۵۶۱-۵۷۸.

چکیده

کشت گیاهان دارویی و معطر از دیرباز دارای جایگاه ویژه‌ای در نظام‌های سنتی کشاورزی ایران بوده و این نظام‌ها از نظر ایجاد تنوع و پایداری نقش مهمی ایفا کرده‌اند. از بین گیاهان دارویی می‌توان به نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) اشاره کرد که تغذیه و جذب مناسب عناصر معدنی نقش به‌سزایی در افزایش عملکرد کمی و کیفی آن دارد. پژوهش حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹۶ به اجرا درآمد. عوامل مورد مطالعه شامل بیوچار در دو سطح (صفر و ۱۰ تن در هکتار) و کودهای آلی و زیستی در پنج سطح (عدم مصرف کود، *ازتوباکتر*، *سودوموناس*، میکوریزا و ورمی کمپوست) و صفت‌های اندازه‌گیری شده نیز شامل عملکرد، درصد و ترکیبات اسانس نعنا فلفلی بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی بیوچار و کودهای آلی و زیستی تأثیر معنی‌داری بر وزن تر اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد داشت، درحالی‌که برهم‌کنش تیمارهای آزمایش بر این صفت معنی‌دار نشد. بر اساس نتایج، مصرف ۱۰ تن در هکتار بیوچار سبب افزایش ۴۲/۹۶ درصدی وزن تر اندام هوایی در مقایسه با عدم مصرف آن شد. در بررسی اثر اصلی کودهای آلی و زیستی نتایج گویای این مطلب بود که بیشترین و کمترین وزن تر اندام هوایی در مترمربع به‌ترتیب در تیمارهای آزمایشی میکوریزا و شاهد (عدم مصرف کود آلی و زیستی) با میانگین ۶۶۷/۹۵ و ۴۱۸/۰۸ گرم در مترمربع حاصل شد. بیشترین وزن خشک اندام هوایی گیاه با میانگین ۸۹/۰۸ گرم در مترمربع مربوط به مصرف توأم بیوچار و میکوریزا و کمترین متعلق به شاهد (عدم مصرف بیوچار و کود آلی و زیستی) با میانگین ۶۱/۷۶ گرم در مترمربع بود. همچنین نتایج حاکی از آن بود که اثر متقابل بیوچار و کودهای آلی و زیستی روی ترکیبات اسانس مانند α -Pinene، Menthol، Menthone، Cineol-1,8، Pulegone iso Menthone، Piperitone oxide، Menthyl acetate و Menthofuran معنی‌دار گردید. به‌طور کلی، نتایج نشان داد که کاربرد بیوچار می‌تواند هم در کیفیت و هم در کمیت اسانس نعنا فلفلی مؤثر باشد، به‌طوری‌که بیشترین درصد اسانس و اکثر ترکیبات اسانس نعنا فلفلی در تیمارهای همراه با مصرف بیوچار به‌دست آمد. از طرفی دیگر، کاربرد کودهای زیستی و آلی توانست منجر به به‌افزایش درصد اسانس و ترکیبات کیفی اسانس نعنا فلفلی شود. در این بین، کاربرد باکتری *ازتوباکتر* و *سودوموناس* به‌همراه بیوچار بیشترین تأثیر را بر کیفیت اسانس نعنا فلفلی به‌خصوص در ترکیبات منتول و منتون داشتند. در نهایت، می‌توان اذعان داشت که کاربرد توأم بیوچار به همراه کودهای زیستی می‌تواند تأثیر زیادی در افزایش کمی و کیفی اسانس نعنا فلفلی در کشاورزی اکولوژیک داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: *ازتوباکتر*، *سودوموناس*، منتول، منتون، میکوریزا، ورمی کمپوست

۱- دانشیار، گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران.

۲- استادیار، گروه باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران.

۳- دانشجوی دکتری زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران.

(*- نویسنده مسئول: Email: fa.zaefarian@sanru.ac.ir)

مقدمه

کشت گیاهان دارویی و معطر از دیرباز دارای جایگاه ویژه‌ای در نظام‌های سنتی کشاورزی ایران بوده و این نظام‌ها از نظر ایجاد تنوع و پایداری نقش مهمی ایفا کرده‌اند. از بین گیاهان دارویی می‌توان به نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) اشاره کرد که تغذیه و جذب مناسب عناصر معدنی پرمصرف و بهبود غلظت آن‌ها در گیاه، نقش به‌سزایی در افزایش عملکرد کمی و کیفی آن دارد (Omid Beigi, 2000). نعنا فلفلی گیاهی از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) می‌باشد و به‌عنوان سبزی، ادویه و گیاه دارویی کشت و استفاده می‌شود. این گیاه یک هیبرید طبیعی از تلاقی میان پونه آبی یا سوسنبر (*M. aquatica*) و نعناع یا پونه سنبله‌ای (*M. spicata*) می‌باشد (Sun et al., 2014). منتول و منتون اصلی‌ترین جزء اسانس نعنا فلفلی بوده و خواص ضد میکروبی دارند (Dai et al., 2010). اسانس این گیاه مایعی شفاف، قابل حل در اتانول ۷۰ درصد و به‌رنگ زرد روشن یا سبز متمایل به زرد است. چگالی نسبی اسانس نعنا فلفلی بین ۰/۸۹۶ تا ۰/۹۰۸ گرم بر میلی‌لیتر و ضریب شکست آن ۱/۴۵۷ تا ۱/۴۶۷ است. همچنین میزان اسیدیت اسانس رقیق شده (۱۰:۱) حداکثر ۱/۴ است (USP37 - NF32. U.S., 2014). اسانس نعنا فلفلی می‌تواند دردهای آرتزیتی، روماتیسمی و دردهای مزمن را به‌دلیل اثرات ضد دردی که دارد، کاهش دهد (Adel et al., 2015). همچنین اسانس این گیاه به‌دلیل خصوصیات ضد عفونی‌کنندگی می‌تواند به بهبود سردرد سینوزیتی و جلوگیری از پوسیدگی دندان کمک کند (Seif Sahandi et al., 2018).

یکی از فاکتورهای زراعی مؤثر در رشد و عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی، تغذیه کودی می‌باشد. اسانس‌ها، متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که اگر چه تحت تأثیر فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، اما ساخت آن‌ها به‌طور آشکاری تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد (Heywood, 2002). از مهم‌ترین عوامل محیطی که تأثیر بسیار عمده‌ای بر رشد گیاهان دارویی و کمیت و کیفیت مواد مؤثره آن‌ها می‌گذارد، می‌توان به شرایط رشدی، اقلیم و عناصر غذایی اشاره نمود (Street, 2012). همچنین طبق استاندارد سازمان گیاه درمانی اروپا، مقدار منتول معیار اصلی در تعیین کیفیت اسانس نعنا

فلفلی است (Kumar et al., 2004) که می‌توان با به‌کارگیری فاکتورهای زراعی مناسب در راستای افزایش عملکرد کمی و کیفی آن گام برداشت. کاربرد وسیع نهاده‌های دخیل در امر تولید جهت دستیابی به عملکرد بالا، از یک طرف، و لزوم عاری بودن گیاهان دارویی از بقایای شیمیایی در طی مراحل تولید، فرآوری و عرضه آن‌ها، از طرف دیگر، ضرورت کاربرد نهاده‌های بوم‌سازگار در تولید این گیاهان را بیش از پیش نمایان می‌سازد (Jahan et al., 2012). کاربرد ناصحیح کودهای شیمیایی باعث مشکلات زیست‌محیطی زیادی نظیر تخریب ساختمان فیزیکی خاک، عدم تعادل غذایی خاک، اوتریفیکاسیون آب‌ها و در نهایت، کاهش عملکرد می‌شود (Mafakheri, 2017)؛ لذا به‌منظور حفظ حاصلخیزی خاک، بهبود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن و حفظ تعادل در عوامل زیست محیطی، مصرف کودهای آلی و زیستی در خاک‌های کشاورزی امری اجتناب‌ناپذیر بوده که در جهت نیل به‌سوی کشاورزی پایدار مورد توجه قرار گرفته‌اند (Wu et al., 2005).

ورمی‌کمپوست شامل مخلوط زیستی بسیار فعالی از باکتری‌ها، آنزیم‌ها، بقایای گیاهی و پیله‌های کرم خاکی می‌باشد که استفاده از آن علاوه بر افزایش جمعیت و فعالیت ریزجانداران مفید خاک سبب فراهم شدن عناصر غذایی محلول مورد نیاز گیاه شده که بهبود رشد و عملکرد گیاه را به‌دنبال دارد (Fayazi et al., 2014). همچنین به‌دلیل داشتن ویژگی هوموسی باعث نرمی بافت خاک، افزایش تهویه و ظرفیت نگهداری آب خاک می‌شود (Habibi & Majidian, 2014). در بررسی اثر محلول‌پاشی چای ورمی‌کمپوست بر خصوصیات مورفولوژیک و اجزای عملکرد گیاه دارویی نعنا فلفلی پژوهشگران اظهار داشتند که کاربرد عصاره آبی ورمی‌کمپوست در مقادیر مختلف باعث ایجاد تفاوت معنی‌داری در صفات اجزای عملکرد شامل وزن تر برگ و ساقه، وزن خشک برگ و ساقه، وزن تر و خشک تک بوته و وزن خشک گل‌آذین گردید (Pooyanfar et al., 2017). در تحقیقی دیگر، پژوهشگران اظهار داشتند که مصرف همزمان ورمی‌کمپوست و کمپوست موجب بهبود صفات کمی و کیفی گیاه به‌لیمو (*Lippia citriodora*) گردید (Asghari et al., 2016).

در دهه اخیر، استفاده از ماده‌ای به‌نام بیوجار به‌عنوان اصلاح‌کننده خاک مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Behnam et al.,

گیاهان دارویی، در پژوهشی محققین نشان دادند که تلقیح گیاه دارویی نعنای (*Mentha arvensis* L.) با چهار گونه قارچ میکوریزی (*Glomus mosseae*; *G. intraradices*; *G. aggregatum*) کیفیت اسانس نعنا (درصد و عملکرد اسانس و درصد منتول) در شرایط غیرشور، در مقایسه با شاهد شد، به نحوی که بیشترین افزایش به ترتیب در *G. fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* و *G. aggregatum* مشاهده گردید (Bharti et al., 2013).

با توجه به تأثیر احتمالی کودهای آلی مانند بیوجار، ورمی کمپوست و کودهای زیستی مانند قارچ‌های میکوریزا و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی نعنا فلفلی و همچنین با در نظر گرفتن اهمیت گسترش کشت گیاهان دارویی، به‌ویژه به‌روش اکولوژیک، این تحقیق به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر کودهای آلی و زیستی بر خصوصیات کمی و کیفی و عملکرد گیاه نعنا فلفلی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۲ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۳ درجه و ۱۳ دقیقه شرقی و میانگین ارتفاع از سطح دریا ۱۴ متر در سال ۱۳۹۶ به اجرا درآمد. عوامل مورد مطالعه شامل بیوجار در دو سطح (صفر و ۱۰ تن در هکتار) و کاربرد کودهای آلی و زیستی در پنج سطح (شاهد (عدم مصرف کود)، ورمی کمپوست (۱۰ تن در هکتار)، سودوموناس (*Pseudomonas fluorescens*)، ازتوباکتر (*Azotobacter chroococcum*)، میکوریزا (سویه‌های *Glomus mosseae*، *G. intradices* و *G. etunicatum*) بودند.

جهت تهیه بستر کاشت، شخم عمیقی در اوایل بهار زده و برای نرم نمودن خاک عملیات دیسک‌زنی اجرا گردید. سپس واحدهای آزمایشی در ابعاد ۲ × ۲/۴ متر با شش خط کاشت با فاصله ۵۰ سانتی متر از واحد آزمایشی مجاور ایجاد گردید و فاصله تکرارها از یکدیگر یک متر قرار داده شد. کاشت در نیمه اول خرداد و به‌صورت نشاء با تراکم ۱۶ بوته در مترمربع انجام شد و مبارزه با علف‌های هرز در طول مدت آزمایش به‌صورت دستی انجام گردید. تیمارهای بیوجار و ورمی کمپوست قبل از کاشت به خاک اضافه شدند.

(2016). بیوجار کربن غنی شده می‌باشد که مواد مغذی را جذب کرده و از خارج شدن آن جلوگیری کرده و گیاه به تدریج مواد مغذی را جذب می‌کند، در نتیجه نیاز به کود و هزینه کوددهی کاهش یافته و عناصر برای مدت طولانی در خاک باقی می‌مانند. از طرفی، هم باعث حفظ و دسترسی به رطوبت در طول دوره گرم و کم‌بارش می‌شود (Yaghoby et al., 2014). طی پژوهشی محققین گزارش کردند که افزودن بیوجار باگاس نیشکر (*Saccharum officinarum*) طی هشت ماه دوره آزمایش، باعث افزایش معنی‌دار کربن آلی، نیتروژن کل، فسفر قابل جذب و ظرفیت تبادل کاتیونی و آنیونی خاک شد (Divband Hafshejani et al., 2017). در پژوهشی دیگر، محققین گزارش کردند که بیوجار با بهبود ویژگی‌های خاک و افزایش نگهداری آب در افزایش رشد گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa* L.) مؤثر بوده است (Abbaspour et al., 2017).

کودهای زیستی شامل سلول‌هایی زنده از انواع مختلف میکروارگانیسم‌ها هستند که قابلیت جذب عناصر غذایی را با استفاده از فرآیندهای زیستی برای گیاهان فراهم کرده و به توسعه سیستم ریشه آن‌ها کمک می‌کنند (Vessey, 2003). برخی از این ریزجانداران شامل ریزوباکترهای محرک رشد گیاه نظیر *آزوسپیریلوم* (*Azospirillum*)، *ازتوباکتر* (*Azotobacter*)، *سودوموناس فلورسنس* (*Pseudomonas fluorescens*) و چندین گونه *باسیلیوس* (*Bacillus* spp.) هستند که اثرات مثبتی روی بهبود رشد گیاه دارند (Mehrafarin et al., 2011). در خصوص تأثیر کاربرد کودهای زیستی نیتروژنه بر رشد و عملکرد گیاهان دارویی، در پژوهشی روی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) مشاهده گردید که مصرف توأم باکتری‌های *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم*، موجب افزایش ارتفاع بوته، عملکرد پیکره رویشی، میزان اسانس و عملکرد اسانس در مقایسه با شاهد گردید (Makizadeh et al., 2012).

قارچ‌های میکوریزی با داشتن شبکه هیفی گسترده و افزایش سطح و سرعت جذب ریشه، کارایی گیاهان را در جذب آب و عناصر غذایی به‌ویژه عناصر کم‌تحرک فسفر، روی و مس افزایش و موجب بهبود رشد آن‌ها می‌شوند. طی پژوهشی محققین اظهار داشتند که استفاده از میکوریزا از طریق فراهمی جذب بیشتر فسفر و نیتروژن توسط ریش، که از اجزاء متشکله اسانس گیاه نعنا فلفلی می‌باشد، موجب افزایش میزان اسانس می‌گردد (Mohammadi et al., 2018). در رابطه با نقش کودهای زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس

روش تهیه بیوچار

برای تولید بیوچار از روش تجزیه حرارتی استوانه‌ای استفاده شد (Lehmann & Joseph, 2009). در ابتدا برای تولید بیوچار مواد اولیه سلولزی شامل بقایای چوب و گیاهان زراعی تهیه و دسته‌بندی شدند. سپس برای تبدیل مواد سلولزی به کربن در شرایط بی‌هوازی، مواد سلولزی جهت تبخیر آب موجود به‌مدت دو ساعت در درجه

حرارت ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند؛ سپس به‌مدت سه ساعت در درجه حرارت ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد برای بیرون رفتن مواد فرار قرار داده شدند. واکنش بعدی که مرحله کربونیزاسیون و تشکیل شبکه متخلخل بود، گرمازا بود که دو ساعت به‌طول انجامید و در گام پایانی کربن‌های تولید شده به دمای محیط رسیدند (Lehmann & Joseph, 2009) که مشخصات آن در جدول ۱ درج قابل مشاهده است.

جدول ۱- ویژگی‌های بیوچار استفاده شده

Table 1- Biochar properties used

ویژگی‌های بیوچار Biochar properties	عدد ید Iodine number (mg.g ⁻¹)	مساحت سطح بر اساس استاندارد ASTM surface area according to standard ASTM (m ² .g ⁻¹)	عدد متیلن بلو Methylene blue number (mg.g ⁻¹)	محتوای رطوبت Moisture content (%)	pH	درصد خاکستر Ash (%)	درصد کربن C (%)	نیتروژن N (g.kg ⁻¹)	دانه بندی Grading
	950-1100	950-1100	150-250	3-4	5.8	4-5	48-50	18-20	0.1≥

قارچ میکوریزا و باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس (مایه تلقیحی میکروبی با غلظت نهایی ۱۰^۹ CFU.ml⁻¹) از بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه و قبل از کاشت با ریشه شسته شده نشاهای نعنا تلقیح شدند. بدین ترتیب که نشاها به مدت ۴۵ دقیقه در ظروف حاوی قارچ و باکتری قرار داده و

سپس کشت شدند. لازم به ذکر است که جهت اجرای آزمایش از هیچ کود پایه‌ای استفاده نشد. به‌منظور بررسی وضعیت عناصر غذایی از خاک و کودهای آلی مورد استفاده نمونه‌گیری شد که نتایج حاصل از تجزیه در جدول ۲ قابل مشاهده است.

جدول ۲- خصوصیات خاک محل آزمایش و ورمی‌کمپوست

Table 2- Soil and vermicompost characteristics

	بافت Texture	لوم Loam (%)	شن Sand (%)	رس Clay (%)	K (mg.kg ⁻¹)	P (mg.kg ⁻¹)	N (%)	OC (%)	E.C (dS.m ⁻¹)	pH
خاک Soil	لومی-رسی Loam-clay	45	14	41	132	4.95	0.08	0.75	1.74	7.37
ورمی‌کمپوست Vermicompost	-	-	-	-	1.47	1.74	1.77	22.7	3.36	8.25

در پایان دوره رشد و زمانی که پنج درصد گل‌ها ظاهر شدند، برداشت به‌صورت دستی انجام شد. جهت برداشت پس از حذف حاشیه در دو طرف کرت آزمایشی و همچنین حذف نیم متر از دو طرف طولی هر کرت، بوته‌ها از قسمتی از کرت که به‌عنوان فضای عملکرد (یک مترمربع) در نظر گرفته شده بود، کف‌بر شدند. محصول هر کرت به‌طور جداگانه در پاکت‌های کاغذی قرار گرفت و پس از انتقال به آزمایشگاه، وزن تر و خشک در مترمربع اندازه‌گیری شد.

برای اسانس‌گیری، ۳۰ گرم پودر سرشاخه گیاه نعنا فلفلی به‌طور دقیق توزین و به‌روش تقطیر با آب (۵۰۰ میلی‌لیتر آب)، اسانس آن با استفاده از کلونجر به‌مدت چهار ساعت استخراج شد. اسانس توسط سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری شد و میزان آن برحسب حجمی-وزنی (V/W) گزارش شد (Pharmacopoeia, 1998). اسانس مورد نظر پس از آماده‌سازی به دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC/MS) تزریق شد. شناسایی نوع ترکیبات اسانس با کمک طیف‌نرمال

مطلب بود که بیشترین و کمترین وزن تر اندام هوایی در مترمربع به ترتیب در تیمارهای آزمایشی بیوچار به همراه میکوریزا و شاهد (عدم مصرف کود آلی و زیستی) با میانگین ۶۶۷/۹۵ و ۴۱۸/۰۸ گرم در مترمربع حاصل شد که نشان دهنده افزایش ۶۰ درصدی وزن تر اندام هوایی می باشد (جدول ۴). شایان ذکر است که تیمار میکوریزا با تیمار ورمی کمپوست با میانگین ۶۳۰/۵۹ گرم در مترمربع تفاوت معنی داری نداشت و همچنین بین تیمار ورمی کمپوست با تیمار /زتوباکتر تفاوت معنی داری مشاهده نشد (جدول ۴).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها گویای این مطلب بود که اثر متقابل بیوچار با کودهای آلی و زیستی سبب افزایش معنی دار وزن خشک اندام هوایی شد (جدول ۳). بیشترین وزن خشک اندام هوایی گیاه با میانگین ۸۹/۰۸ گرم در مترمربع مربوط به مصرف توأم بیوچار و میکوریزا و کمترین متعلق به شاهد (عدم مصرف بیوچار و کود آلی و زیستی) با میانگین ۶۱/۷۶ گرم در مترمربع بود (شکل ۱). بین دو تیمار میکوریزا و ورمی کمپوست در شرایط کاربرد بیوچار و همچنین دو شاهد (عدم مصرف بیوچار و کود آلی و زیستی) و سودوموناس در شرایط عدم مصرف بیوچار به لحاظ آماری تفاوتی مشاهده نشد (شکل ۱).

آلکان ها و به دست آوردن شاخص بازداری آن ها و مقایسه آن با شاخص بازداری گزارش شده در کتاب Adams و مقایسه طیف جرمی هر یک از اجزای اسانس با طیف جرمی موجود در کتابخانه Willy نرم افزار GC/MS انجام پذیرفت. همچنین با استفاده از دستگاه GC، درصد ترکیبات اسانس تعیین شد (Adams, 2001). به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزارهای آماری SAS (ver-9.2) و مقایسه میانگین داده ها توسط آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

وزن تر و خشک اندام هوایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی بیوچار و کودهای آلی و زیستی تأثیر معنی داری بر وزن تر اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد داشت. در حالی که برهم کنش تیمارهای آزمایش بر این صفت معنی دار نشد (جدول ۳). مقایسه میانگین داده ها نشان داد که مصرف ۱۰ تن در هکتار بیوچار سبب افزایش ۴۲/۹۶ درصدی وزن تر اندام هوایی در مقایسه با عدم مصرف آن شد (جدول ۴). در بررسی اثر اصلی کودهای آلی و زیستی نتایج گویای این

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر وزن تر و خشک نعنا فلفلی

Table 3- Analysis of variance (mean of squares) of the effects of the experimental treatment on the fresh and dry weight of peppermint

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر	وزن خشک
S.O.V.	d.f	Fresh weight	Dry weight
بلوک	2	85468.80	516.40
Block			
بیوچار	1	296345.19**	1208.15**
Biochar			
کود	4	55976.30**	231.93**
Fertilizer			
بیوچار×کود	4	5412.88 ^{ns}	37.39**
Biochar ×fertilizer			
خطای آزمایش	18	3680.76	6.21
Error			
ضریب تغییرات	-	10.79	3.33
CV (%)			

ns, ** و * به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

ns, * and **: are non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایش بر وزن تر نعنا فلفلی

Table 4- Mean comparison of the experimental treatments effects effects of the experimental treatment on fresh weight of peppermint

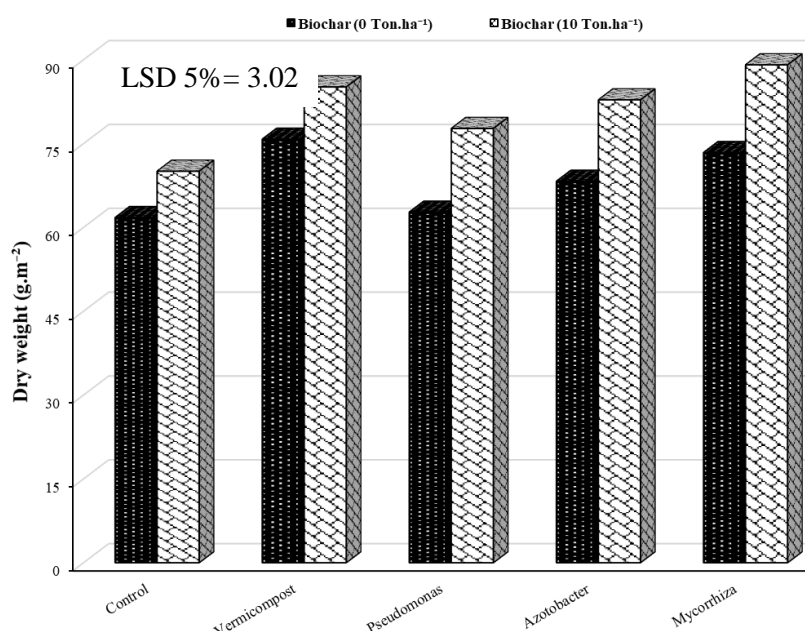
تیمار Treatment	وزن تر Fresh weight (g.m ⁻²)
بیوچار Biochar	شاهد Control 10 (ton.ha ⁻¹) 462.68
LSD 5%	661.46
	46.54
	418.08
	عدم مصرف کود No fertilizer 630.59
	ورمی کمپوست Vermicompost 528.68
کودهای آلی و زیستی Organic and biological fertilizers	سودوموناس <i>Pseudomonas</i> ازتوباکتر <i>Azotobacter</i> میکوریزا Mycorrhiza 565.98
LSD 5%	667.95
	73.59

زیست توده کل، بیشتر از زمان استفاده از تیمار فسفر شد. ایشان بیان کردند که قارچ میکوریزا از طریق افزایش مقاومت و جذب عناصر غذایی سبب بهبود عملکرد زیست توده گیاهان می‌شود (Liu et al., 2014).

درصد اسانس

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده بیوچار و کود زیستی روی درصد اسانس در سطح یک درصد معنی‌دار گردید، اما برهم‌کنش بیوچار و کود زیستی تأثیر معنی‌داری بر درصد اسانس نداشت (جدول ۵). بر اساس نتایج مقایسه میانگین مشخص شد که کاربرد بیوچار باعث افزایش درصد اسانس نسبت به عدم کاربرد آن شد (جدول ۶). در واقع، مصرف ۱۰ تن بیوچار در هکتار توانسته موجب افزایش ۵۲/۸۸ درصد اسانس نسبت به شاهد شود. در مقایسه میانگین اثر ساده کود آلی و زیستی معلوم گردید که بیشترین درصد اسانس مربوط به تیمار ورمی کمپوست، میکوریزا و سودوموناس بود (جدول ۶). همچنین کمترین درصد اسانس (۱/۴۷) نیز مربوط به شاهد بود.

در رابطه با اثر تحریکی باکتری‌های محرک رشد می‌توان بیان داشت که باکتری‌های محرک رشد از طریق سازوکارهای مختلف از جمله تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه، تولید سیدروفور، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن را در گیاه تنظیم می‌کنند، سبب تحریک رشد گیاه می‌شوند (Stajkovic et al., 2011). با افزایش سطح هورمون‌ها به‌ویژه سیتوکینین، نرخ فتوسنتز از طریق عواملی همچون باز شدن روزنه‌ها، تأثیر بر انتقال یون‌ها و تنظیم مقدار کلروفیل بیشتر می‌شود (Johnson, 1984). زیاد شدن نرخ فتوسنتز می‌تواند با تحریک رشد سبب افزایش تولید زیست توده در گیاهان میکوریزی شود. در یک پژوهش با بررسی بهبود فراهمی تری فسفات کلسیم در گیاه علف‌لیمو (*Cymbopogon citratus*) با کاربرد ریزوباکتری، قارچ میکوریزا و آزوسپیریوم، نتایج حاکی از آن بود که وزن خشک ساقه با مصرف قارچ میکوریزا *Glomus aggregatum* صرف‌نظر از مصرف فسفات افزایش یافت (Ratti et al., 2001). در مطالعه‌ای دیگر، محققین نشان دادند هم‌زیستی قارچ میکوریزا *Glomus mosseae* و *G. intraradices* با گیاه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) سبب افزایش وزن خشک ریشه، ساقه و در نتیجه،



شکل ۱- تأثیر تیمارهای آزمایش بر وزن خشک نعنا فلفلی (گرم در مترمربع)

Fig. 1- Influence of the effects of the experimental treatment on dry weight of peppermint (g.m⁻²)

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر درصد اسانس نعنا فلفلی

Table 5- Analysis of variance (mean of squares) of the effects of the experimental treatment on essential oil (%) of peppermint

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد اسانس
S.O.V.	d.f	Essential oil (%)
بلوک	2	0.014
Block		
بیوچار	1	7.60**
Biochar		
کود	4	2.11**
Fertilizer		
بیوچار×کود	4	0.38 ^{ns}
Biochar ×fertilizer		
خطا	18	0.17
Error		
ضریب تغییرات	-	17.21
CV (%)		

ns, ** و *: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

ns, * and **: are non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

و فسفر دارد. از این رو، ورمی کمپوست و کمپوست مصرف شده با تأثیر روی جذب نیتروژن و فسفر باعث افزایش درصد و عملکرد اسانس می گردند (Gupta et al., 2002). در پژوهشی، بهبود عملکرد اسانس در گیاه دارویی درمنه (*Artemisia pallens* L.) را ناشی از افزایش ماده خشک حاصل از مصرف ورمی کمپوست گزارش کردند (Pandey, 2005) که با نتایج سایر پژوهشگران همراستا می باشد (Anwar et al., 2005; Liuc & Pank, 2005).

افزودن کمپوست و ورمی کمپوست به خاک با بهبود شرایط فیزیکی و فرآیندهای حیاتی خاک ضمن ایجاد یک بستر مناسب برای رشد ریشه سبب افزایش رشد، افزایش تولید ماده خشک، عملکرد گل، تسریع واکنش های سوخت و سازی، افزایش تولید و تجمع متابولیت ها و در نهایت، بهبود درصد و عملکرد اسانس می شود. نتایج تحقیقات پیشین حاکی از آن است که اسانس ها حاوی ترکیب های ترپنوئیدی بوده و واحدهای سازنده آن ها نیاز ضروری به عناصری نظیر نیتروژن

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایش بر درصد اسانس نعنا فلفلی

Table 6- Mean comparison of the effects of the experimental treatment on essential oil (%) of peppermint

تیمار Treatment	درصد اسانس Essential oil (%)
بیوچار Biochar	1.91
شاهد Control 10 (ton.ha ⁻¹)	2.92
LSD 5%	0.32
کودهای آلی و زیستی Organic and biological fertilizers	1.47
عدم مصرف کود No fertilizer	1.47
ورمی کمپوست Vermicompost	2.92
سودوموناس <i>Pseudomonas</i>	2.49
ازتوباکتر <i>Azotobacter</i>	2.3
میکوریزا Mycorrhiza	2.49
LSD 5%	0.5

منتول

با توجه به نتایج (جدول ۷) به دست آمده، مشخص شد که میزان منتول در اسانس نعنا فلفلی تحت تأثیر اثر ساده کودهای زیستی و بیوچار در سطح احتمال یک درصد و برهم‌کنش دو عامل فوق در سطح احتمال پنج درصد قرار گرفت و تأثیر معنی‌داری را از خود نشان داد.

اثر متقابل بین تیمارهای آزمایش نشان داد (جدول ۸) که بیشترین میزان منتول (۵۴/۷۳ درصد) در تیمار باکتری/ازتوباکتر به همراه ۱۰ تن بیوچار و کمترین میزان منتول (۳۶/۰۵ درصد) در شاهد اتفاق افتاد، که نشان‌دهنده افزایش ۵۱/۸۲ درصدی منتول در اسانس نسبت به شاهد می‌باشد (جدول ۸). لازم به ذکر است که در شرایط مصرف بیوچار بین دو تیمار قارچ میکوریزا و باکتری سودوموناس تفاوت چندانی از لحاظ آماری مشاهده نگردید.

منتول و منتون اصلی‌ترین جزء اسانس نعنا فلفلی بوده و خواص ضد میکروبی دارند. درصد منتول در نعنا فلفلی از ۳۵ تا ۵۵ درصد و منتون از ۱۰ تا ۴۰ درصد در سنبلین مختلف گیاه متغیر است (Abdolmaleki, 2011; Heidari, 2008; Mehrafarin, 2010; Izadi, 2011). بیوچار به خاطر سطح ویژه زیاد و تراکم بار سطحی بالا، توانایی خاک برای نگهداری عناصر غذایی و آب قابل

استفاده گیاه را افزایش و شستشوی عناصر غذایی و کودها را کاهش می‌دهد، همچنین موجب افزایش بازهای تبادل، ظرفیت تبادل کاتیونی، کاهش وزن مخصوص ظاهری خاک می‌گردد (Laird et al., 2010; Liang et al., 2006). از طرفی، بیوچار، همانند دیگر اصلاح‌کننده‌های آلی خاک، شرایط فیزیکی و فرایندهای شیمیایی خاک را تغییر می‌دهد (Eastman, 2011; Herath et al., 2013) و در نتیجه، بر خصوصیات و رفتارهای جانداران خاک مؤثر است (Lehmann et al., 2011; Masto et al., 2013).

ساختار متخلخل بیوچار، سطوح ویژه بالا و توانایی آن برای جذب مواد آلی محلول، گازها و مواد معدنی محل مناسبی را برای سکونت میکروب‌ها، رشد و تکثیر آن‌ها مخصوصاً باکتری‌ها، اکتینومیسیت‌ها و قارچ‌های میکوریزا آرباسکولار فراهم می‌آورد و موجب افزایش فعالیت باکتری‌های محرک رشد موجود در خاک می‌شود (Lehmann et al., 2011). باکتری‌های محرک رشد از طریق سازوکارهای مختلفی از جمله تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه، تولید سیدروفور، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و افزایش جذب عناصر کم‌مصرف باعث افزایش فعالیت فتوسنتزی و توسعه پوشش گیاهی می‌شوند (Abou El-Yazeid, 2007). افزایش فعالیت فتوسنتزی با افزایش جذب عناصر غذایی را می‌توان مرتبط با مهم‌ترین بخش

فتوستنتز کننده در گیاه، یعنی برگ‌ها دانست، به طوری که با افزایش فراهمی عناصر غذایی، سطح برگ افزایش و با افزایش سطح برگ، تعداد روزنه به عنوان محل ورودی دی‌اکسید کربن و گلوکز به عنوان

پیش ماده مناسب در سنتز اسانس‌ها، به عنوان نتیجه فرآیند فتوستنتز، زیاد شده و در نتیجه، پیش ماده لازم برای سنتز اسانس در گیاه فراهم می‌گردد (Sifola & Barbieri, 2006).

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر ترکیبات اسانس نعنا فلفلی

Table 7- Analysis of variance (mean of squares) of the effects of the experimental treatment on essential oil compounds of peppermint

منابع تغییرات S.O.V.	بلوک Block	بیوچار Biochar	کود Fertilizer	بیوچار×کود Biochar×fertilizer	خطا Error	ضریب تغییرات C.V. (%)	
ترکیبات اسانس Essential oil compounds	درجه آزادی d.f	2	1	4	4	18	-
منتول Menthol	-	5.72	237.44**	129.75**	23.22*	6.30	5.72
منتون Menthone	-	3.15	70.71**	95.92**	8.92*	2.39	6.55
آلفا- پینن α -pinene	-	0.0003	0.09**	0.42**	0.005**	0.0005	4.17
سابینن Sabinene	-	0.001	0.07 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.0009	5.63
بتا- پینن β -Pinene	-	0.0006	0.17**	0.13**	0.012 ^{ns}	0.005	6.55
مایرسن Myrcene	-	0.001	0.07**	0.04**	0.002 ^{ns}	0.001	9.35
لیمونن Limonene	-	0.0002	0.19 ^{ns}	0.48 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.005	5.77
سینول ۱-۸ Cineol-1,8	-	0.06	10.95**	0.057 ^{ns}	0.28*	0.76	7.41
ایزو منتون Iso menthone	-	2.16	29.44**	93.47**	3.06*	0.82	5.89
پلوزن Pulegone	-	0.082	9.47**	6.83**	0.32*	0.079	5.73
پپیرتون اکسید Piperitone oxide	-	0.0001	0.14**	0.001 ^{ns}	0.003*	0.001	4.97
منتیل اکتیت Menthyl acetate	-	0.00003	0.40**	0.102**	0.13**	0.008	10.92
منتوفوران Menthofuran	-	0.052	9.06**	0.079**	0.53**	0.044	2.61

ns, ** و * : به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

ns, * and **: are non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

گزارش‌های سایر محققین در این مورد که تیمار باکتری‌های ریزوسفری باعث افزایش میزان ترکیبات اصلی اسانس در گیاهان دارویی یکساله مثل ریحان و چندساله مثل مرزنجوش (*Origanum majorana*) می‌شود، مطابقت دارد (Maricel et al., 2011; Banchio et al., 2009).

گزارش محققین حاکی از آن است که استفاده از کودهای زیستی (حاوی ریزجاندارانی مثل *ازتوباکتر* و *آزوسپریلوم*) و جایگزینی آن‌ها با تنظیم‌کننده‌های رشد مصنوعی در بهبود ویژگی‌های رشد و ترکیب‌های اسانس گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) کارآیی بالایی دارد (Youssef et al., 2004). همچنین گزارش شده است که افزایش تولید اسانس در تلقیح باکتری‌ها می‌تواند به دلیل فعال شدن مکانیسم دفاعی گیاهان باشد (Banchio et al., 2010) که با

منتون

نتایج تجزیه واریانس مبین این مطلب بود که میزان منتون نعنا فلفلی تحت تأثیر اثر ساده کود آلی و زیستی و اثر ساده بیوچار در سطح احتمال یک درصد و برهم‌کنش بین تیمارهای آزمایش در سطح احتمال پنج درصد قرار گرفته است (جدول ۷). بیشینه و کمینه میزان منتون به ترتیب مربوط به تیمار باکتری سودوموناس با مصرف

بیوچار (۲۹/۹۸ درصد) و شاهد (بدون کود آلی و زیستی و بیوچار) (۱۸/۱۴ درصد) بود (جدول ۸). مشاهده می‌شود که اعمال تیمار کودی سودوموناس به همراه بیوچار توانسته موجب افزایش ۶۵/۲۷ درصدی منتون در اسانس نعنا فلفلی شود. شایان ذکر است که بین تیمار سودوموناس به همراه مصرف بیوچار و ازتوباکتر با مصرف بیوچار تفاوت معنی‌داری به لحاظ آماری مشاهده نشد (جدول ۸).

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایش بر ترکیبات اسانس نعنا فلفلی

Table 8- Mean comparison of the effects of the experimental treatment on essential oil compounds of peppermint

نام ترکیب Compound name	بیوچار Biochar 10 (ton.ha ⁻¹)					بیوچار Biochar 0 (ton.ha ⁻¹)					LSD 5%
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	
منتول Menthol	38.53	42.53	47.13	54.73	50.21	36.05	40.69	40.49	43.05	44.72	3.04
منتون Menthone	19.28	20.50	29.98	28.70	27.26	18.14	19.78	26.30	21.86	24.26	1.88
آلفا-پینین α-Pinene	0.49	0.51	0.65	0.76	0.65	0.42	0.46	0.53	0.56	0.54	0.03
سینول ۱-۸ Cineol-1,8	4.04	4.26	4.45	4.66	4.28	3.18	3.473	3.13	2.79	3.09	1.06
ایزو منتون Iso Menthone	11.58	12.30	17.25	22.93	18.01	10.74	11.70	14.91	18.75	16.07	1.10
پلوژن Pulegone	4.03	4.29	6.82	6.09	6.09	3.30	3.61	5.53	4.27	5.00	0.34
پپیرتون اکسید Piperitone oxide	0.75	0.75	0.73	0.82	0.76	0.60	0.65	0.64	0.60	0.62	0.04
منتیل اکتیت Menthyl acetate	0.96	1.24	1.09	0.62	0.82	0.62	0.80	0.52	0.70	0.91	0.11
منتوفوران Menthofuran	8.09	9.19	8.92	8.20	8.51	6.79	7.49	7.36	7.69	8.08	0.25

T₁: شاهد، T₂: ورمی کمپوست، T₃: سودوموناس، T₄: ازتوباکتر، T₅: میکوریزا

T₁: No fertilizer, T₂: Vermicompost, T₃: Pseudomonas, T₄: Azotobacter, T₅: Mycorrhiza

افزایش رشد و توسعه ریشه و در نتیجه، جذب آب و مواد غذایی باعث تغییر شرایط محیطی و در نتیجه، تغییر در ترکیبات شیمیایی اسانس می‌گردند (Santoro et al., 2011; Prasad, 2011).

پژوهشگران تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه را بر ترکیبات عمده اسانس گیاه نعنا فلفلی بررسی و گزارش کردند که تیمار سودوموناس فلورسنس باعث افزایش زیست‌ساختی ترکیب غالب اسانس (پولگون و منتون) گردید (Santoro et al., 2011). در پژوهشی دیگر، محققین تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد (آزوسپیریوم برازیلینس، سودوموناس فلورنس و آزوسپیریوم برازیلینس + سودوموناس فلورنس) را بر ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه جعفری

محتوای زیاد کربن و پایداری بیوچار سطح مواد آلی خاک را افزایش می‌دهد که خود نقش اساسی در چرخه عناصر غذایی و بهبود منابع آب قابل دسترس برای گیاه، ظرفیت بافری و ساختمان خاک دارد (Steinbeiss et al., 2009). بیوچار فعالیت انواع مختلف میکروبی‌های خاک را که از نظر کشاورزی مهم هستند، تحریک می‌نماید (Warnock et al., 2010; Anderson et al., 2011). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد و قارچ‌های میکوریزا آرباسکولار از طریق مکانیسم‌های مختلفی مانند افزایش تثبیت نیتروژن، تولید اکسین، جبریلین، سیتوکینین و اتیلن، انحلال فسفات‌ها، اکسیداسیون سولفور، افزایش قابلیت دسترسی نترات، ترشح آنتی‌بیوتیک‌ها،

بیوجار و کود زیستی بر ترکیبات α -Pinene، Menthyl acetate و Menthofuran در سطح احتمال یک درصد و بر سایر ترکیبات (به جز Sabinene، β -Pinene، Myrcene و Limonene) در سطح احتمال پنج درصد معنی دار گردید (جدول ۷). درحالی که کلیه اثرات ساده بیوجار و کود زیستی و اثر متقابل بیوجار با کود زیستی نیز در ترکیبات Sabinene و Limonene هیچ تأثیر معنی داری از خود نشان نداد (جدول ۷). در بررسی اثرات ساده بیوجار و کود زیستی بر ترکیبات β -Pinene و Myrcene مشخص گردید که در اثر ساده بیوجار بیشترین میزان هر دو ترکیب در تیمار ۱۰ تن بیوجار در هکتار به دست آمد، و مصرف بیوجار توانست در ترکیب β -Pinene موجب افزایش ۱۴/۴۲ درصدی و در ترکیب Myrcene موجب افزایش ۲۳/۸۱ درصدی نسبت عدم مصرف بیوجار شود (جدول ۹). همچنین در اثر ساده کود زیستی نیز بیشترین میزان هر دو ترکیب β -Pinene و Myrcene در تیمار مصرف میکوریزا به دست آمد (جدول ۹).

معطر (*Tagetes minuta*) بررسی و گزارش کردند که هر چند که لینالول و هومولن تحت تأثیر هیچ کدام از تیمارها قرار نگرفتند؛ اما آروسپریلیوم بر/زینس باعث افزایش ای-اوسیمنون (غالبترین ترکیب اسانس) و ای-تاقتون به ترتیب به میزان ۷۱ و ۶۶ درصد گردید. سودوموناس فلورسنس هم باعث افزایش ترکیبات ای-اوسیمن، زد-اوسیمن، ای-تاقتون و لیمونن شد و تیمار ترکیبی آن‌ها نیز باعث بیشترین افزایش ترکیبات مذکور گردید (Cappellari et al., 2013).

کیفیت اسانس (سایر ترکیبات)

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده بیوجار روی ترکیبات α -Pinene، β -Pinene، Myrcene، Cineol-1,8 Menthyl Piperitone oxide، Pulegone iso Menthone و acetate در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۷). همچنین نتایج گویای این مطلب بود که اثرات متقابل

جدول ۹- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایش بر ترکیبات اسانس نعنا فلفلی

Table 9- Mean comparison of the experimental treatments effects on essential oil compounds of peppermint

تیمار Treatment	شاهد Control 10 (ton.ha-1)	بتا-پینن β -pinene (%)	مایرسن Myrcene (%)
بیوجار Biochar		1.04	0.42
		1.19	0.52
	LSD 5%	0.05	0.02
	عدم مصرف کود No fertilizer	0.87	0.34
	ورمی کمپوست Vermicompost	1.21	0.43
	سودوموناس Pseudomonas	1.16	0.51
کودهای آلی و زیستی Organic and biological fertilizers	ازتوباکتر Azotobacter	1.09	0.49
	میکوریزا Mycorrhiza	1.25	0.57
	LSD 5%	0.09	0.04

سیستم ریشه، سطح جذب آب بیشتری برای گیاه فراهم و به دنبال جذب آب بیشتر، مواد غذایی بیشتری نیز جذب می‌شود (Auge, 2001). در رابطه با نقش کودهای زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی، محققین نشان دادند که تلقیح گیاه دارویی نعنای با چهار گونه قارچ میکوریزا سبب افزایش بارز کمیت و کیفیت اسانس نعنای (درصد و عملکرد اسانس و درصد منتول) در شرایط غیرشور در

در تفسیر نتایج حاصل از بهبود درصد و عملکرد اسانس در اثر تلقیح تیمارهای باکتریایی و قارچی می‌توان اظهار داشت که تولید اسانس حاصل مجموعه فرآیندهای فیزیولوژیک و مورفولوژیک می‌باشد. در این رابطه، عوامل محیطی تأثیر به سزایی در تولید اسانس دارند. از جمله عوامل محیطی می‌توان به عناصر غذایی اشاره نمود، به طوری که تیمارهای قارچ میکوریزا از طریق گسترش هیف و توسعه

شایان ذکر است که مصرف ورمی‌کمپوست به همراه مصرف ۱۰ تن بیوجار میزان ترکیبات Menthyl acetate و Menthofuran را افزایش دهد (جدول ۸). در همین راستا، مشاهده شد که در هر دو ترکیب Menthyl acetate و Menthofuran تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای بیوجار + ورمی‌کمپوست و بیوجار + سودوموناس وجود ندارد. افزایش مقادیر ورمی‌کمپوست از طریق فراهم نمودن جذب بیشتر فسفر و نیتروژن که در اجزای تشکیل‌دهنده اسانس حضور دارند موجب افزایش میزان اسانس پیکر روشی می‌گردد. در همین راستا، در پژوهشی که با استفاده از مقادیر مختلف ورمی‌کمپوست بر گیاه ریحان صورت گرفت، مشخص شد که مصرف پنج تن ورمی‌کمپوست برتری محسوسی از نظر میزان اسانس نسبت به شاهد داشت (Anwar et al., 2005).

نتیجه‌گیری

در پایان، نتایج کلی حاکی از آن بود که کاربرد بیوجار می‌تواند هم در کیفیت و هم در کمیت اسانس نعنا فلفلی مؤثر باشد، بیشترین درصد اسانس و اکثر ترکیبات اسانس نعنا فلفلی در تیمارهای همراه با مصرف بیوجار به دست آمد. به نظر می‌رسد کاربرد بیوجار در خاک‌های فقیر می‌تواند موجب حفظ و در دسترس قرار دادن عناصر غذایی موجود در خاک برای گیاه شود. از طرفی دیگر، کاربرد کودهای زیستی و آلی توانست منجر به به افزایش درصد اسانس و ترکیبات کیفی اسانس نعنا فلفلی شود. در این بین، کاربرد باکتری *ازتوباکتر* و *سودوموناس* به همراه بیوجار بیشترین تأثیر را بر کیفیت اسانس نعنا فلفلی به‌خصوص در ترکیبات منتول و منتون داشت. در نهایت، می‌توان اذعان داشت که کاربرد توأمان بیوجار به‌همراه کودهای زیستی (به‌ویژه باکتری‌های محرک رشد *ازتوباکتر* و *سودوموناس*) می‌تواند تأثیر زیادی در افزایش کمی و کیفی اسانس نعنا فلفلی در شرایط کشاورزی اکولوژیک داشته باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به‌دلیل پشتیبانی مالی از این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی مصوب با شماره طرح ۰۳-۱۳۹۹-۰۱ و همچنین از تمام افرادی که ما را در انجام این طرح پژوهشی یاری

مقایسه با شاهد شد (Bharti et al., 2013). در پژوهش دیگری، مشخص شد که هم‌زیستی گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) با دو گونه از قارچ میکوریزی به‌طور معنی‌داری موجب بهبود میزان اسانس و کیفیت آن می‌شود، به نحوی که مقدار اجزای مهمی مانند ژرانیول و لینالول در ترکیب اسانس به‌طور چشمگیری افزایش، ولی میزان آنتول و بتا-المن در مقایسه با شاهد کاهش داشت (Kapoor et al., 2002).

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل گویای این مطلب بود که به‌کارگیری باکتری *ازتوباکتر* به همراه مصرف ۱۰ تن بیوجار توانست موجب به‌دست آوردن بیشترین میزان ترکیبات Cineol- α -Pinene، iso Menthone، 1,8 Piperitone oxide شود (جدول ۷). این در حالی است که در ترکیب Cineol-1,8 بین تیمارهای بیوجار به همراه *ازتوباکتر*، بیوجار + *سودوموناس*، بیوجار + مایکوریزا و بیوجار + ورمی‌کمپوست تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده نگردید (جدول ۷). در تحقیقی دیگر که روی گیاه دارویی اسفرزه (*Plantago ovata*) انجام شد، نتایج نشان داد که کاربرد کودهای زیستی از جمله *ازتوباکتر* سبب افزایش معنی‌داری در عملکرد کمی و کیفی این گیاه شد (Khalil, 2006). نتایج دیگر محققان نیز حاکی از این امر می‌باشد، به‌طوری که که تلقیح گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) با گونه‌های مختلف *ازتوباکتر* سبب افزایش زیست‌توده، سرعت رشد و میزان اسانس در این گیاهان می‌شود (Fatma et al., 2006). کاربرد کودهای زیستی *ازتوباکتر* و *آزوسپیریوم* باعث افزایش رشد رویشی، وزن تر، وزن خشک و میزان اسانس در گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) گردید (Sharaf-Eldin & Mahfuz, 2007).

همچنین مصرف باکتری *سودوموناس* به همراه ۱۰ تن بیوجار توانست موجب به‌دست آوردن بیشترین میزان ترکیب Pulegone گردد (جدول ۸). در تحقیقی تحت عنوان اثر باکتری‌های محرک رشد (*Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Sinorhizobium meliloti*, *Bradyrhizobium*) بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی مرزنجوش گزارش شد که فقط *Pseudomonas fluorescens* و *Bradyrhizobium* موجب افزایش معنی‌دار عملکرد اسانس و ترکیب غالب اسانس (ترانس ساینین هیدرات و ترینین-۴-اول) نسبت به شاهد و دیگر تیمارهای باکتریایی گردید (Banchio et al., 2008).

References

- Abbaspour, F., Asghari, H.R., Rezvani Moghaddam, P., and Abbasdokht, H., 2018. The effect of biochar application in improving some soil characteristics and growth of *Nigella sativa* L. in water stress conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 17(1): 39-52. (In Persian with English Summary). [10.22067/gsc.v17i1.63344](https://doi.org/10.22067/gsc.v17i1.63344)
- Abdolmaleki, M., Bahraminejad, S., Salari, M., Abbasi, S., and Panjeke, N., 2011. Antifungal activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) on phytopathogenic fungi. Journal of Medicinal Plants 2(38): 26-34. (In Persian with English Summary)
- Abou El-Yazeid, A., Abou-Aly, H.A., Mady, M.A., and Moussa, S.A.M., 2007. Enhancing growth, productivity and quality of squash plants using phosphate-dissolving microorganisms (bio-phosphor) combined with boron foliar spray. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 3(4): 274-286.
- Adams, R.P., 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing. Carol Stream, IL, USA; pp: 469.
- Adel, M., Abedian Amiri, A., Zorriehzahra, J., Nematolahi, A., and Esteban, M.A., 2015. Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*). Fish Shellfish Immunol 45(2): 841-847. [10.1016/j.fsi.2015.06.010](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.06.010)
- Anderson, C.R., Condon, L.M., Clough, T.J., Fiers, M., Stewart, A., Hill, R.A., and Sherlock, R.R., 2011. Biochar induced soil microbial community change: Implications for biogeochemical cycling of carbon, nitrogen and phosphorus. Pedobiologia 54: 309-320. [10.1016/j.pedobi.2011.07.005](https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2011.07.005)
- Anwar, M., Patra, D.D., Chand, S., and Khanuja, S.P.S., 2005. Effect of organic manures and inorganic fertilizer on growth, herb and oil yield, nutrient accumulation, and oil quality of French basil. Communications in Soil Science and Plant Analysis 36(13-14): 1737-1746. [10.1081/CSS-200062434](https://doi.org/10.1081/CSS-200062434)
- Asghari, M., Yousefi rad, M., Masoumi Zavarian, A., 2016. Effects of organic fertilizers of compost and vermicompost on qualitative and quantitative traits of lemon verbena. Journal of Medicinal Plants 58(2): 63-71. (In Persian with English Summary)
- Auge, R.M., 2001. Water relation, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Journal of Mycorrhiza 11: 3-42. [10.1007/s005720100097](https://doi.org/10.1007/s005720100097)
- Banchio, E., Bogino, P.C., Zygadlo, J., and Giordano, W., 2008. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L.. Biochemical Systematics and Ecology 30: 766-771. [10.1016/j.bse.2008.08.006](https://doi.org/10.1016/j.bse.2008.08.006)
- Banchio, E., Xie, X., Zhang, H., and Pare, P.W., 2009. Soil bacteria elevate essential oil accumulation and emissions in sweet basil. Journal of Agriculture and Food Chemistry 57(2): 653-657. [10.1021/jf8020305](https://doi.org/10.1021/jf8020305)
- Behnam, H., Farrokhan Firouzi, A., and Moezzi, A.A., 2016. Effect of biochar and compost sugarcane bagasse on some soil mechanical properties. Water and Soil Conservation 23(4): 235-250. (In Persian with English Summary). [10.22069/JWFST.2016.9777.2407](https://doi.org/10.22069/JWFST.2016.9777.2407)
- Bharti, N., Baghel, S., Barnawal, D., Yadav, A., and Karla, A., 2013. The greater effectiveness of *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* in improving productivity, oil content and tolerance of salt-stressed menthol mint (*Mentha arvensis* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture 93: 2154-2161. [10.1002/jsfa.6021](https://doi.org/10.1002/jsfa.6021)
- Cappellari, L.D.R., Santoro, M.V., Nievas, F., Giordano, W., and Banchio, E., 2013. Increase of secondary metabolite content in marigold by inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. Applied Soil Ecology 70: 16-22. [10.1016/j.apsoil.2013.04.001](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.04.001)
- Dai, J., Orsat, V., Raghavan, G.S.V., and Yaylayan, V., 2010. Investigation of various factors for the extraction of peppermint (*Mentha piperita* L.) leaves. Journal of Food Engineering 96: 540-543. [10.1016/j.jfoodeng.2009.08.037](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.08.037)
- Divband Hafshejani, L., Naseri, A., Hooshmand, A., Abbasi, F., and Soltani Mohammadi, A., 2017. Effect of sugarcane bagasse biochar application on chemical properties a sandy loam soil. Irrigation Sciences and Engineering 40(1): 63-72. (In Persian with English Summary). [10.22055/JISE.2017.12667](https://doi.org/10.22055/JISE.2017.12667)
- Eastman, C.M., 2011. Soil physical characteristics of an acric ochraqualf amended with biochar. M.Sc. Thesis. Ohio State University, USA.
- Fatma, E.M., El-Zamik, I., Tomader, T., El-Hadidy, H.I., El-Fattah Abd, L., and Seham Salem, 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. Agricultural Microbiology (Department Faculty of Agriculture) Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Department, Desert Research Center, Cairo, Egypt.
- Fayazi, H., Abdali Mashhadi, A.R., Koochakzadeh, A., Papzan, A.A., and Arzanesh, M.H., 2014. Evaluation of echinacea (*Echinacea purpurea* L.) medicinal plant response to the usage of organic and biological fertilizers. The Second National Conference of Medicinal Plants and Sustainable Agriculture, 21 August, Hamedan p. 1-7. (In Persian)
- Gupta, M.L., Prasad, A., Ram, M., and Kumar, S., 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. Bioresource Technology 81(1): 77-79. [10.1016/S0960-8524\(01\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00109-2)
- Habibi, S., and Majidian, M., 2014. Effect of different levels of nitrogen fertilizer and vermicompost on yield and quality of sweet corn (*Zea mays* Hybrid Chase). Journal of Crop Production and Processing 4(11): 15-25. (In Persian with English Summary). [10.29252/jcpp](https://doi.org/10.29252/jcpp)
- Heidari, F., Zehtab Salmasi, S., Javanshir, A., Aliari, H., and Dadpoor, M.R., 2008. The effects of application microelements and plant density on phenology, yield and essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 24(1): 1-9. (In Persian with English Summary)
- Herath, H.M., Arbestain, M.C., and Hedley, M., 2013. Effect of biochar on soil physical properties in two contrasting soils: An Alfisol and an Andisol. Geoderma 209-210: 188-197. [10.1016/j.geoderma.2013.06.016](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.06.016)
- Heywood, V.H., 2002. The conservation of genetic and chemical diversity in medicinal and aromatic plants. pp. 13-22. In: Sener, B. (Ed.), Biodiversity: Biomolecular Aspects of Biodiversity and Innovative Utilization, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Izadi, Z., Ahmadvand, G.H., Esna-Ashari, M., and Piri, M., 2010. The effect of nitrogen and plant density on some growth characteristics, yield and essential oil in peppermint (*Mentha piperita* L.). Iranian Journal of Field Crops Research 8(5): 824-836. (In Persian with English Summary). [10.22067/GSC.V8I5.8025](https://doi.org/10.22067/GSC.V8I5.8025)
- Jahan, M., Amiri, M.B., Shabahang, J., and Tahamy, M.K., 2012. The simultaneous use of organic fertilizers and biological medicinal plant on some qualitative and quantitative characteristics of summer squash (*Cucurbita pepo* L.). Iranian Journal of Agricultural Research 11(1): 87-73. (In Persian with English Summary). [10.22067/GSC.V11I1.24121](https://doi.org/10.22067/GSC.V11I1.24121)
- Johnson, C.R., 1984. Phosphorus nutrition on mycorrhizal colonization, photosynthesis, growth and nutrient composition of *Citrus aurantium*. Plant and Soil 80(1): 35-42. [10.1007/BF02232937](https://doi.org/10.1007/BF02232937)
- Kapoor, R., Giri, B., and Mukerji, K.G., 2002. Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to enhance the concentration and quality of essential oil. Journal of the Science of Food and Agriculture 82(4): 339-342. [10.1002/jsfa.1039](https://doi.org/10.1002/jsfa.1039)
- Khalil, M.Y., 2006. How far would *Plantago afra* L. respond to bio and organic manures amendments? Research Journal of Biological Science 2(1): 12-21.
- Kumar, A., Samarth, R.M., and Yasmeen, S., 2004. Anticancer and radioprotective potentials of *Mentha piperita* L.. BioFactors 22(1-4): 87-91. [10.1002/biof.5520220117](https://doi.org/10.1002/biof.5520220117)
- Laird, D.A., Rogovska, N.P., Garcia-Perez, M., Collins, H.P., Streubel, J.D., and Smith, M., 2010. Pyrolysis and biochar opportunities for distributed production and soil quality enhancement. In: Braun R. Karlen D. and Johnson D. Sustainable Alternative Fuel Feedstock Opportunities, Challenges and Roadmaps for Six U.S. Regions. Proceedings of the Sustainable Feedstocks for Advance Biofuels Workshop, pp. 257-281.
- Lehmann, J., and Joseph, S., 2009. Biochar for Environmental Management: Science and Technology. Earthscan. London.
- Lehmann, J., Rillig, M.C., Thies, J., Masiello, C.A., Hockaday, W.C., and Crowley, D., 2011. Biochar effects on soil biota- A review. Soil Biology and Biochemistry 43: 1812-1836. [10.1016/j.soilbio.2011.04.022](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.04.022)
- Liang, B., Lehmann, J., Solomon, D., Kinyangi, J., Grossman, J., O'Neill, B., Skjemstad, J.O., Theis, J., Luizao, F.J., Peterson, J., and Neves, E.G., 2006. Black carbon increases cation exchange capacity in soils. Soil Science Society of America Journal 70: 1719-1730. [10.2136/sssaj2005.0383](https://doi.org/10.2136/sssaj2005.0383)
- Liu, H., Tang, Y., Nell, M., Zitter-Eglseer, K., Wawsrah, C., Copp, B., Wang, S., and Novak, J., 2014. Arbuscular mycorrhizal fungal colonization *Glycyrrhiza glabra* roots enhance plant biomass, phosphorus uptake and concentration of root secondary metabolites. Journal of Arid Land 6(2): 186-194. [10.1007/s40333-013-0208-5](https://doi.org/10.1007/s40333-013-0208-5)

- Liuc, J., and Pank, B., 2005. Effect of vermicompost and fertility levels on growth and oil yield of Roman chamomile. *Scientia Pharmaceutica* 46: 63-69.
- Mafakheri, S., 2017. Effect of some organic and chemical fertilizers on morphological and biochemical factors of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Plant Productions* 40(3): 27-40. (In Persian). [10.22055/ppd.2017.19128.1378](https://doi.org/10.22055/ppd.2017.19128.1378)
- Makkizadeh, M., Nasrollahzadeh, S., Zehtab Salmasi, S., Chaichi, M., and Khavazi, K., 2012. The effect of organic, biologic and chemical fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agriculture Science and Sustainable Production* 22: 1-12
- Maricel, V.S., Zygadlo, J., Giordano, W., and Banchio, E., 2011. Volatile organic compounds from rhizobacteria increase biosynthesis of essential oils and growth parameters in peppermint (*Mentha piperita*). *Plant Physiology and Biochem* 49(10): 1177-1182. [10.1016/j.plaphy.2011.07.016](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.07.016)
- Masto, R.E., Ansari, M.A., George, J., Selvi, V.A., and Ram, L.C., 2013. Coapplication of biochar and lignite fly ash on soil nutrients and biological parameters at different crop growth stages of *Zea mays*. *Ecological Engineering* 58: 314-322. [10.1016/j.ecoleng.2013.07.011](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.07.011)
- Mehrafarin, A., Naghdi Badi, H., Poorhadi, M., Hadavi, E., Qavami, N., and Kadkhoda, Z., 2011. Phytochemical and agronomical response of peppermint (*Mentha piperita* L.) to bio-fertilizers and urea fertilizer application. *Journal of Medicinal Plants* 4(40): 107-118. (In Persian with English Summary)
- Mohammadi, S., Boroomand, N., and Moghbeli, E., 2018. Effect of different mycorrhizal species inoculation on concentration of nutrient elements, yield per plant and antioxidant activity in peppermint (*Mentha piperita*) under salt stress. *Soil Management and Sustainable Production* 8(4): 127-142. (In Persian with English Summary). [10.22069/EJSMS.2019.12936.1734](https://doi.org/10.22069/EJSMS.2019.12936.1734)
- Omid Beigi, R., 2000. Findings from the Production of Medicinal Plants. Astane Ghodse Razavi Press, Mashhad, Iran. Volume 3 (In Persian)
- Pandey, R., 2005. Management of meloidogyne incognita in artemisia pallens with bio-organics. *Phytopara* 33(3): 304-308. [10.1007/BF02979868](https://doi.org/10.1007/BF02979868)
- Pooyanfar, M., Norafkan, H., Ehsasi, H., and Mahmoodi Rad, Z., 2017. The effect of foliar application of vermicompost tea on morphological characteristics and yield components of peppermint. Third International Conference on Sustainable Development, Solutions and Challenges Focusing on Agriculture, Natural Resources, Environment and Tourism. March 9, Tabriz, Iran. (In Persian)
- Prasad, A., Kumar, S., Khaliq, A., and Pandey, A., 2011. Heavy metals and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi can alter the yield and chemical composition of volatile oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Biology and Fertility Soils* 47: 853-861. [10.1007/s00374-011-0590-0](https://doi.org/10.1007/s00374-011-0590-0)
- Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N., and Gautam, S.P., 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. motia by rhizobacteria, AMF and *Azospirillum* inoculation. *Microbiology Research* 156: 145-149. [10.1078/0944-5013-00095](https://doi.org/10.1078/0944-5013-00095)
- Santoro, M.V., Zygadlo, J., Giordano, W., and Banchio, E., 2011. Volatile organic compounds from rhizobacteria increase biosynthesis of essential oils and growth parameters in peppermint (*Mentha piperita* L.). *Plant Physiology and Biochemistry* 49: 1177-1182. [10.1016/j.plaphy.2011.07.016](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.07.016)
- Seif Sahandi, M., Mehrafarin, A., Khalighi-Sigaroodi, F., Sharifi, M., and Naghdi Badi, H., 2018. Review on anatomical, phytochemical and pharmacological properties of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Medicinal Plant* 69(1): 16-33. (In Persian with English Summary)
- Sharaf-Eldin, M.A., and Mahfouz, S.A., 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth yield and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* mill). *International Agrophysics* 21: 361-366. [10.1055/s-2007-987419](https://doi.org/10.1055/s-2007-987419)
- Sifola, M., and Barbieri, G., 2006. Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. *Scientia Horticulture* 108(4): 408-413. [10.1016/j.scienta.2006.02.002](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.02.002)
- 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.
- Steinbeiss, S., Gleixner, G., and Antonietti, M., 2009. Effect of biochar amendment on soil carbon balance and soil microbial activity. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 1301-1310. [10.1016/j.soilbio.2009.03.016](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.03.016)
- Street, R.A., 2012. Heavy metals in medicinal plant products- An African perspective. *South African Journal of Botany* 82: 67-74. [10.1016/j.sajb.2012.07.013](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.07.013)

- Sun, Z., Wang, H., Wang, J., Zhou, L., and Yang, P., 2014. Chemical composition and anti-inflammatory, cytotoxic and antioxidant activities of essential oil from leaves of *Mentha piperita* grown in china. Plos One 9(12): 1-15. [10.1371/journal.pone.0114767](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114767)
- USP37 - NF32. U.S., 2014. Pharmacopeia National Formulary. United States Pharmacopeial. USA. pp. 6787.
- Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. Plant and Soil 255: 271- 286. [10.1023/A:1026037216893](https://doi.org/10.1023/A:1026037216893)
- Warnock, D.D., Mummeya, D.L., McBride, B., Major, J., Lehmann, J., and Rillig, M.C., 2010. Influences of nonherbaceous biochar on arbuscular mycorrhizal fungal abundances in roots and soils: results from growth chamber and field experiments. Applied Soil Ecology 46: 450-456. [10.1016/j.apsoil.2010.09.002](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.09.002)
- 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(1-2): 155-166. [10.1016/j.geoderma.2004.07.003](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.07.003)
- Yaghoby, M., Amerian, M., and Asghar, H., 2014. Comparison of the effect of biological and biofertilized fertilizers on some physiological traits in bean growing. The 2nd National Conference of the Desert with the Approach of the Management of Arid and Desert Areas. Semnan University, Iran. (In Persian)
- Youssef, A.A., Edri, A.E., and Maa, 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.