

نشریه پژوهشی:

ارزیابی ویژگی‌های کمی، کیفی و جذب عناصر گیاه به‌لیمو (*Lippia citriodora* L.) تحت تاثیر بیوجار، ورمی کمپوست و ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه

معصومه لایق حقیقی^{۱*} و بهلول عباس زاده^۲

۱ و ۲. محقق و دانشیار، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۴/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱/۱۶)

چکیده

جنس *Lippia* بیش از ۲۰۰ گونه دارد که *Lippia citriodora* L. به دلیل داشتن خواص دارویی دارای اهمیت ویژه‌ای می‌باشد. به منظور ارزیابی ویژگی‌های کمی و کیفی و عناصر گیاه به‌لیمو تحت تاثیر ورمی کمپوست، بیوجار و ریزوباکتری‌های محرک رشد (Plant Growth Promoting Rhizobacteria-PGPR)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار، در موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، ایستگاه تحقیقات البرز در شرایط مزرعه، در سال ۱۳۹۶ روی نهال‌های یک ساله اجرا شد. عامل اول ورمی کمپوست در سه سطح (۰، ۶ و ۱۲ تن در هکتار)، عامل دوم بیوجار در سه سطح (صفر، ۵ و ۱۰ تن در هکتار) و عامل سوم باکتری‌های محرک رشد در دو سطح (بدون تلقیح و تلقیح با تلفیقی از ۳ سویه ازتوباکتر (*Azotobacter chroococcum* strain 5)، آزوسپیریلوم (*Azospirillum lipoferum* strain OF) و سودوموناس (*Pseudomonas putida*)) بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین درصد اسانس با ۰/۸۶ درصد از تیمار شاهد و حداکثر عملکرد اسانس با ۳/۷۴ کیلوگرم بر هکتار از تیمار ۱۲ تن ورمی کمپوست به همراه ۱۰ تن بیوجار و تلقیح کود زیستی بدست آمد. بیشترین آهن (۳۷۷/۰۶ پی‌پی‌ام) در تیمار ۶ تن ورمی کمپوست به همراه ۱۰ تن بیوجار در هکتار و تلقیح با کود زیستی وجود داشت. به طور کلی کاربرد ۶ تن ورمی کمپوست در هکتار، ۱۰ تن بیوجار در هکتار و تلقیح گیاهان به‌لیمو با باکتری‌های محرک رشد از طریق افزایش رشد و توسعه ریشه و در نتیجه جذب بهتر آب و مواد غذایی از خاک می‌تواند سبب افزایش عملکرد و بهبود صفات کمی گیاه گردد.

واژه‌های کلیدی: به‌لیمو، گیاه دارویی، کود آلی، کود زیستی

Evaluation quantitative, qualitative traits and elements adsorption of lemon verbena (*Lippia citriodora* L.) under biochar, vermicompost and plant growth promoting rhizobacteria

Maasoumeh Layeghhaghi^{1*} and Bohloul Abbaszadeh²

1, 2. Researcher and Associate Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
(Received: Jul. 06, 2021 - Accepted: Apr. 05, 2022)

ABSTRACT

The *Lippia* genus which has over than 200 species and *Lippia citriodora* L. is medicinally important. In order to evaluate the quantitative and qualitative characteristics and elements of *Lippia citriodora* L. under the influence of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), vermicompost and biochar, a factorial experiment was conducted in a randomized complete block design with 3 replications in the Research Institute of Forests and Rangelands, Alborz Research Station in field conditions, was implemented in 2017 on one-year seedlings. The first factor included factors: vermi-compost at three levels (0, 6 and 12 ton/ha), the second factors was biochar at three levels (0, 5 and 10 ton/ha) and the thirs factor was plant growth promoting rhizobacteria at two levels (non-inoculation and inoculation with combination of *Azotobacter chroococcum* strain 5, *Azospirillum lipoferum* strain OF and *Pseudomonas putida*). Comparison of means demonstrated that the highest essential oil percentage (0.86 %) was acquired from control treatment and the highest essential oil yield with 3.74 kg/ha was observed in treatment 12 ton/ha vermicompost, 10 ton/ha biochar and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria. The highest Fe (377.06 ppm) was observed in 12 ton/ha vermicompost, 10 ton/ha biochar and non-inoculation. Generally, application of 6 ton per hectare vermicompost, 10 ton per hectare biochar and PGPRs on *Lippia citriodora* can improve yield and qualitative traits of the plant through increasing growth, developing root and better absorbing water and nutrients from soil.

Keywords: Bio fertilizer, lemon verbena, medicinal plant, organic fertilizer.

* Corresponding author E-mail: layeghhaghi@yahoo.com

مقدمه

به‌لیمو (*Lippia citriodora* L.) درختچه‌ای خزان‌پذیر از خانواده شاهپسند (Verbenaceae) است که ارتفاع آن به ۱/۵ تا ۲ متر می‌رسد (Mozaffarian, 1998). این گیاه بومی کشورهای آمریکای جنوبی (شیلی و پرو) است (Zargari, 1992). اسانس به لیمو، دارای خواص باکتری‌کشی و حشره‌کشی است (Karimi, 2002) و در صنایع عطرسازی (Rashedi, 2001) و تهیه ادوکلن (Azadbakht, 1999) کاربرد دارد.

ورمی‌کمپوست شامل مقادیر زیادی از عناصر ماکرو و میکرو، دارای تخلخل زیاد، قدرت جذب و نگهداری بالای عناصر معدنی و هم‌چنین ظرفیت بالای نگهداری آب می‌باشد و سبب بهبود رشد و کیفیت اغلب گیاهان می‌شود (Yasmin & Nehvi, 2013; Campitelli & Ceppi, 2008). استفاده از ورمی‌کمپوست در ریحان سبب بهبود معنی‌دار مقدار اسانس و کیفیت آن شد (Anwar et al., 2005). تحقیقات (Esmailpour et al., 2017) بر ریحان (*Ocimum basilicum*) و (Kaykhani & Ganjali, 2017) بر گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) بیانگر بهبود عملکرد و کیفیت اسانس این گیاهان در اثر مصرف ورمی‌کمپوست بود. در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که استفاده از ورمی‌کمپوست و قطع آبیاری در مراحل ابتدایی گل‌دهی گیاه مرزه یکساله، موجب افزایش میزان ترکیبات مهم اسانس می‌شود (Heidarpour et al., 2019). افزودن ۱۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست منجر به بالاترین سطح تولید اسانس در بابونه (*Matricaria chamomilla*) گردید که تحت تنش شدید خشکی بود، در حالی که کمترین مقدار اسانس در تیمار بدون مصرف ورمی‌کمپوست مشاهده شد (Tasdighi et al., 2015). نتایج مشابهی نیز در بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) با مصرف ۱۰-۵ تن در هکتار ورمی‌کمپوست گزارش شد (Kazeminasab et al., 2016). در تحقیق دیگری بیان شد که مصرف کودهای زیستی، افزایش وزن تر و خشک برگ و ساقه و افزایش تعداد شاخه و گل به‌لیمو را سبب شده و کاربرد تلفیقی کودها (حل‌کننده‌های فسفات، بیوسولفور و تثبیت‌کننده

نیتروژن) موجب بالا رفتن درصد اسانس گیاه نسبت به سایر تیمارها شده است (Mohammadi et al., 2013).

باکتری‌های مختلفی رشد گیاه را تقویت می‌کنند، که در مجموع باکتری‌های تقویت‌کننده رشد گیاه (Plant Growth Promoting Rhizobacteria-PGPR) نامیده می‌شوند، باکتری‌ها از نظر تأثیر بر رشد گیاه دارای سازوکارهای متفاوتی هستند ولی به طور معمول از طریق محلول کردن فسفر، بالا بردن جذب عناصر غذایی و تولید هورمون‌های گیاهی بر رشد تأثیر می‌گذارند. ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه بخش بسیار کوچکی از ریزوباکتری‌ها (۵ تا ۲ درصد) را تشکیل می‌دهند، و به ندرت تعداد آن‌ها در یک خاک به طور طبیعی زیاد می‌شود. این باکتری‌ها با توجه به تأثیرشان بر روی رشد و نمو گیاهان زراعی به اصطلاح باکتری‌های افزایش‌دهنده عملکرد نامیده می‌شوند (Pallai, 2005).

Kandeel et al. (2001) عنوان نمودند که بیشترین درصد روغن فرّار در گیاه رازیانه در نتیجه تلقیح گیاهان با ترکیبی از آروسپیریلوم و ازتوباکتر و مصرف نیتروژن، فسفر و پتاسیم حاصل می‌شود. Youssef et al. (2004) اظهار داشتند که کاربرد کودهای زیستی (ازتوباکتر و آروسپیریلوم) در بهبود ویژگی‌های رشدی و ترکیب‌های اسانس گیاه مریم‌گلی کارایی بالایی دارد. گزارش Leithy et al. (2006) نیز حکایت از اثر مثبت ازتوباکتر در افزایش میزان اسانس در گیاه رزماری می‌باشد. در پژوهشی دیگر ملاحظه شد که باکتری‌های محرک رشد تأثیر مثبتی بر صفات مورفولوژیک، عملکرد کمی و کیفی اسانس و جذب عناصر غذایی (N, P, K) در گیاه دارویی *Origanum onites* L. دارند. Kumar et al. (2009) گزارش نمودند که کاربرد آروسپیریلوم همراه با ۹۳/۷۵ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و فسفر در گیاه دارویی درمنه (*Artemisia pallens* L.) سبب افزایش زیست توده تر و خشک گیاه و عملکرد اسانس گیاه گردید. سطوح مختلف کودهای شیمیایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم و کودهای زیستی آروسپیریلوم، ازتوباکتر و باسیلوس روی گیاه رازیانه نشان داد که بالاترین میزان زیست توده تر و خشک گیاه در

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۶ در مزرعه مجتمع تحقیقاتی البرز کرج، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور با موقعیت جغرافیایی ۳۶ درجه و ۸۴ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۵۰ درجه و ۳۲ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳۲۰ متر از سطح دریا انجام شد. در طول دوره رشد گیاه، میانگین دمای محل ۲۱/۹۵ درجه سانتی‌گراد و میزان بارندگی ۱۱۶/۳ میلی‌متر بود (IRIMO, 2017). آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام شد و عامل‌های آزمایش شامل ورمی‌کمپوست (Vermicompost-V) در ۳ سطح (صفر، ۶ و ۱۲ تن در هکتار)، بیوپچار (Biochar-B) در ۳ سطح (صفر، ۵ و ۱۰ تن در هکتار) و باکتری‌های محرک رشد در دو سطح (عدم تلقیح و تلقیح) بودند. در این آزمایش از تلقیح باکتری‌های جنس ازتوباکتر (*Azotobacter chroococcum* strain 5)، آزوسپیریلوم (*Azospirillum lipoferum* strain OF) و سودوموناس (*Pseudomonas putida*) به صورت تلقیح ریشه استفاده شد. نهال‌های یک ساله ریشه‌دار در ابتدای فصل بهار به زمین اصلی منتقل گردید. قبل از انجام آزمایش، از مزرعه و از عمق صفر تا ۴۰ سانتی‌متری به طور تصادفی نمونه‌گیری و در آزمایشگاه خاک تجزیه شد (جدول ۱). قبل از مصرف، ورمی‌کمپوست (جدول ۲) و بیوپچار از منبع ضایعات محصولات زراعی و باغی (جدول ۳) نیز تجزیه شدند. قبل از کاشت نهال‌ها در تیمارهای مربوط به کودهای زیستی (تهیه شده از موسسه خاک و آب)، ریشه‌ها برای تلقیح به داخل ظرف‌های حاوی باکتری محرک رشد (Plant Growth Promoting Rhizobacteria-PGPR) و صمغ عربی منتقل شد و پس از ۳ ساعت، به زمین اصلی منتقل شدند. ابعاد کرت‌ها ۳×۳=۹ متر بود. فاصله بین کرت‌ها ۲ متر و بین تکرارها ۳ متر بود. فاصله بین خطوط کشت ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها بر روی هر خط ۴۰ سانتی‌متر بود که بوته‌ها بصورت لوزی شکل در روی خطوط کشت شدند. آبیاری بصورت قطره‌ای و دو هفته اول بعد از انتقال نشاها، هفته‌ای دو نوبت و بعد از آن در طول دوره رشد، یک نوبت در

تیمار تلقیح ۵۰٪ کودهای شیمیایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم به همراه آزوسپیریلوم ازتوباکتر و باسیلوس حاصل می‌شود (Mahfouz & Sharaf-Eldin, 2007).

بیوپچار (زغال زیستی) منبعی کربنی است که از بقایای گیاهی طی فرایند پیرولیسیس (pyrolysis) در شرایط کمبود یا نبود اکسیژن تولید می‌شود (Glaser & Birk, 2012). ماندگاری آن در خاک، بسته به شرایط تولید آن (Namgay *et al.*, 2010) و ویژگی‌های مواد اولیه دارد (Winsley, 2007). از فواید بیوپچار می‌توان به افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی خاک (Singh *et al.*, 2010)، افزایش عملکرد گیاه (Vaccari *et al.*, 2011; Van Zwieten *et al.*, 2010)، حفظ ماده آلی و بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک (Van Zwieten *et al.*, 2010) اشاره کرد. همچنین بیوپچار به دلیل داشتن عناصر غذایی فراوان (Warnock *et al.*, 2007; Solaiman *et al.*, 2011; Lehmann *et al.*, 2010) کمیت و کیفیت گیاه را بهبود می‌بخشد (Laird, 2008). مشاهده شد که اضافه کردن بیوپچار به خاک باعث ارتباط مثبت بین بیوپچار و نیتروژن و فسفر و اثر بر رشد گیاه می‌شود (Van Zwieten *et al.*, 2010). گزارش شده است که مصرف بیوپچار بیش از حد مشخص موجب کاهش کلونیزاسیون ریشه با قارچ‌های میکوریزایی می‌شود (Warnock *et al.*, 2010; Hale *et al.*, 2013; LeCroy *et al.*, 2013; Mukherjee & Zimmerman, 2013). تحقیقات مختلف نتایج متناقض مثبت (Sinclair *et al.*, 2007; Chan *et al.*, 2008) منفی (Gaskin *et al.*, 2009; Asai *et al.*, 2010) و عدم تاثیر (Van Zwieten *et al.*, 2009; Asai *et al.*, 2010) از کاربرد بیوپچار بر پارامترهای مختلف گیاهان را گزارش نموده‌اند. همچنین همان‌طوری که در بررسی منابع مختلف گزارش شد، استفاده از ورمی‌کمپوست و کودهای مختلف زیستی می‌تواند نتایج متفاوتی را در گیاهان مختلف به همراه داشته باشند. بنابراین، با توجه به اهمیت گیاهان دارویی و همچنین در نظر گرفتن اهمیت مدیریت اکولوژیک، این آزمایش به منظور بررسی تأثیر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد و کودهای آلی بر خصوصیات رشد، عملکرد و کیفیت اسانس به‌لیمو در شرایط آب و هوایی کرج انجام گرفت.

غذایی آن (نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم) اندازه‌گیری شد. از نمونه برگ‌های آماده شده به ترتیب زیر برای سنجش عناصر عصاره‌گیری شد. مراحل انجام عصاره‌گیری (Waling *et al.*, 1989):

(۱) هضم در بالن ژوژه با اسید سولفوریک-اسید سالیسیلیک-آب اکسیژنه

(۲) هضم به روش سوزاندن خشک و ترکیب با اسید هیدروکلریک

مقدار ۲ گرم نمونه گیاه خشک‌شده را با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و در کروزه چینی ریخته شد و در کوره تا ۵۵۰ درجه به مدت ۴ ساعت حرارت داده و خاکستر حاصل را با آب مقطر کمی خیس کرده و ۱۰ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک ۲ مول اضافه و بعد از اتمام فعل و انفعالات محتویات کروزه از کاغذ صافی ریز به داخل بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتر صاف شد. عصاره نهایی به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. در نهایت طبق روش‌های متداول با دستگاه جذب اتمی نسبت به اندازه‌گیری عناصر ریزمغذی مانند آهن، روی، مس و منگنز اقدام شد (Hovind, 2004). اندازه‌گیری عناصر فسفر و پتاسیم و نیتروژن با دستگاه‌های اسپکتروفتومتر (Avila-Segura *et al.*, 2004)، فلیم‌فتومتر (Hald, 1947) و کجلدال (Lynch & Barbano, 1999) صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD در سطح ۰/۵٪ انجام شد.

هفته بود. در طول دوره رشد ۳ نوبت وجین دستی صورت گرفت. در مرحله شروع گلدهی اقدام به یادداشت برداری صفات و برداشت گیاه (کف‌بر کردن از ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر از سطح خاک) با رعایت اثر حاشیه‌ای کرت‌ها شد. ارتفاع گیاه (ارتفاع ایستاده)، قطر بزرگ و کوچک تاج‌پوشش، دور تاج‌پوشش، طول برگ و عرض برگ با متر اندازه‌گیری شدند. سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (Leaf Area Index) انجام شد. پس از برداشت، برگ‌ها از ساقه جدا و همه اندام‌های هوایی در شرایط سایه و با جریان هوا و به دور از نور خورشید خشک شدند. توزین اندام‌های خشک شامل گل‌آذین، برگ و ساقه با ترازو انجام شد. اسانس‌گیری از برگ خشک شده در سایه به روش تقطیر با آب و به وسیله دستگاه کلونجر در مدت ۲ ساعت انجام شد (Mirza *et al.*, 1996). برای بدست آوردن عملکرد اسانس، درصد بدست آمده در عملکرد برگ ضرب گردید. عناصر ماکرو و میکرو جذب شده در برگ اندازه‌گیری شد.

آماده‌سازی نمونه برای اندازه‌گیری عناصر شامل شستشو، خشک و آسیاب کردن می‌باشد. برگ‌ها ابتدا با آب معمولی سپس با اسید هیدروکلریک ۰/۱ مول و مجدد با آب مقطر شستشو گردید. نمونه گیاه به مدت ۴۸ ساعت در آون با حرارت ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس آسیاب شد. نمونه آسیاب شده از الک ۰/۵ میلی‌متری عبور داده شد و میزان جذب عناصر

جدول ۱. نتایج آنالیز خاک مزرعه به لیمو.

Table 1. Results of Soil Analysis of Lemon Verbena Field

Depth (cm)	Saturation percentage (%)	EC (ds/m)	Saturation acidity or pH (mv)	T.N.V (%)	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	Texture
0-30	34.98	1.09	7.81	10.02	61.6	22.4	16	Sandy loam
Organic carbon (%)	Available phosphor (mg/kg)	N (%)	Available potassium (%)	Iron (mg/kg)	Zinc (mg/kg)	Manganese (%)	Magnesium (%)	
0.73	11.32	0.08	451	3.79	1.07	8.92	0.03	

جدول ۲. نتایج آنالیز ورمی‌کمپوست.

Table 2. Results of vermicompost analysis.

OM (%)	P (%)	P ₂ O ₅ (%)	N (%)	C/N (%)	Potassium as per K% (%)	Potassium as K ₂ O (%)	Fe (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Mn (%)	Mg (%)	pH (mv)	EC 10% weight/volume ratio (ds/m)	Humidity (%)
27.82	0.16	0.38	0.56	24.84	0.24	0.29	10590	157.29	664.89	0.81	7.48	0.26	3.61

جدول ۳. نتایج آنالیز بیوچار.

Table 3. Results of biochar analysis.

Sample	EC (ds/m)	pH (mv)	OM (%)	Available P (%)	Available K (%)	P2O5 (%)	K2O (%)	N (%)
Biochar	0.26	7.83	27.82	0.16	0.24	0.38	0.29	0.54

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل سه گانه تیمارهای ورمی کمپوست در بیوچار در ریزوباکتری‌های محرک رشد (Plant Growth Promoting Rhizobacteria-PGPR) بر ارتفاع گیاه، عرض برگ، سطح برگ، قطر ساقه اصلی، قطر کوچک تاج پوشش، دور تاج پوشش، عملکرد برگ، عملکرد ساقه، عملکرد گل‌آذین، عملکرد کل ماده خشک، و عملکرد اسانس در سطح ۵٪ درصد و بر درصد اسانس در سطح ۱٪ اختلاف آماری داشت (جدول ۴).

مقایسه میانگین اثر متقابل ورمی کمپوست به همراه بیوچار بر تعداد برگ نشان داد که بیشترین تعداد برگ با ۵۰۹ برگ متعلق به تیمار ۶ تن ورمی کمپوست به همراه ۵ تن بیوچار (V6B5) در هکتار بود (جدول ۵). حداکثر طول برگ ۶/۹ سانتی‌متر و حداکثر قطر تاج پوشش بزرگ ۹۱ سانتی‌متر بود (جدول ۵).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه عامل ورمی کمپوست در بیوچار به همراه ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) نشان داد که ارتفاع گیاه در تیمار ۱۲ تن ورمی کمپوست به همراه تلقیح با ریزوباکتری‌های محرک رشد (V12BOP1) با میانگین ۱۰۸/۵ سانتی‌متر بیشترین بود (جدول ۶).

عرض برگ با مصرف ورمی کمپوست افزایش یافت. سطح برگ نیز بشدت تحت تاثیر مصرف کودهای آلی و زیستی بود (جدول ۶). قطر ساقه اصلی، قطر کوچک تاج پوشش و دورتاج پوشش در تیمار شاهد (V0BOP0) کمترین بود (جدول ۶). کمترین عملکرد برگ در تیمارهای شاهد (V0BOP0) و (V0BOP1) به ترتیب با ۹۳/۹ و ۱۱۴/۵ کیلوگرم در هکتار بود، این در حالی است که بیشترین عملکرد برگ با ۵۸۶ کیلوگرم در هکتار متعلق به تیمار V6B10P0 بود. حداکثر عملکرد ساقه در تیمارهای V6B5P1 و V6B10P0 به ترتیب با ۶۰۱/۵ و ۴۹۵/۱ کیلوگرم در هکتار بود (جدول ۶).

حداکثر عملکرد کل ماده خشک نیز در تیمارهای V6B5P1 و V6B10P0 به ترتیب با ۱۲۴۶ و ۱۱۳۳ کیلوگرم در هکتار مشاهده شد (جدول ۶). بالاترین درصد اسانس با ۰/۸۶٪ متعلق به تیمار شاهد (V0BOP0) بود. بیشترین عملکرد اسانس با ۳۷۳۶ گرم در هکتار متعلق به تیمار V6B10P0 بود (جدول ۶).

نتایج همبستگی بین برخی از صفات نشان داد که تعداد برگ با دور تاج پوشش ($r=0/68^{**}$) و عملکرد ساقه ($r=0/50^{**}$) همبستگی مثبت معنی‌دار داشت (جدول ۷). بین عملکرد برگ با عملکرد ساقه ($r=0/77^{**}$) همبستگی مثبت معنی‌دار مشاهده شد (جدول ۷).

وجود اختلاف معنی‌دار در بین سطوح مختلف ورمی کمپوست بر صفات مختلف به لیمو از جمله صفات مورفولوژیک و عملکرد برگ، ساقه، گل‌آذین، کل ماده خشک و نیز درصد اسانس (جدول ۴) نشانگر تاثیر این تیمار کودی بر ویژگی‌های رشدی به‌لیمو می‌باشد. ورمی کمپوست به دلیل داشتن تخلخل زیاد، قدرت جذب و نگهداری بالای عناصر معدنی (Samavat et al., 2001) و آزادسازی تدریجی آن‌ها و نیز ظرفیت بالای نگهداری آب (Arancon et al., 2004) در رشد و نمو به‌لیمو اثر گذاشته است، هم‌چنین با آزادسازی عناصر پرمصرف، کم‌مصرف، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها و هورمون‌های محرک رشد گیاه و نیز تاثیر افزایشی بر تعداد جمعیت میکروارگانیزم‌های مفید خاک و فعالیت آن‌ها (Prabha et al., 2007) موجب افزایش رشد در گیاهان تیمار شده گردیده و نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار ایجاد کرده است. در جدول‌های ۵ و ۶ مشاهده می‌شود که مصرف ورمی کمپوست موجب بهبود صفات مورفولوژیک نسبت به شاهد گردید. هم‌چنین در جدول ۶ مشاهده می‌گردد که تمامی صفات اندازه‌گیری شده به‌جز درصد اسانس در تیمارهای مصرف ورمی کمپوست بهبود یافته است. نتایج بدست آمده به لحاظ صفاتی مانند اثر بر ارتفاع بوته، تعداد چتر در بوته و عملکرد دانه با

منطقه کرج که تحقیق ما انجام شده است، نسبت به تحقیقات نامبردگان از تابستان‌های گرم و خشک برخوردار بوده و اثر ورمی‌کمپوست بخصوص در زمینه افزایش ظرفیت جذب آب می‌تواند بیشتر نمایان شود (Arancon et al., 2004).

نتایج تحقیقات Darzi et al. (2008) مطابقت نشان داد. اما به لحاظ اثر بر عملکرد اندام‌های مختلف با نتایج تحقیقات Kiafar et al. (2013) عدم تطابق نشان داد که شاید یکی از دلایل عدم تطابق با نتایج نامبرده مربوط به محل اجرای دو پروژه باشد، زیرا در

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس اثر ورمی‌کمپوست، بیوجار و ریزوباکتری‌های محرک رشد بر صفات مورفولوژیک، درصد و عملکرد اسانس به‌لیمو.

Table 4. Results of variance analysis effect of vermicompost, biochar and PGPR on morphological traits and essential oil yield of lemon verbena.

Source of variation	d.f.	Mean of squares							
		Plant's height	Number of leaves	Length of leaf	Width of leaf	Leaf area	Diameter of stem	Diameter of large canopy	Diameter of small canopy
Block	2	369.4ns	122.6**	0.09ns	0.04ns	1923.7**	0.93ns	2051.4**	1.9ns
Vermicompost (V)	2	1403.7**	140.6**	10.4**	0.8**	329.6**	1.8ns	2931.8**	7.2**
Biochar (B)	2	181.7ns	16ns	1.3ns	0.04ns	31.09ns	20.8**	78.9ns	0.4ns
PGPR (P)	1	2504.8**	42.3*	0.05ns	0.008ns	48.9ns	0.1ns	459.02ns	0.3ns
V*B	4	38*	44.9*	1.5*	0.03ns	70.6*	0.9ns	150.3*	3.9*
V*P	2	2.6ns	37.8*	0.4ns	0.003ns	136.04*	1.1ns	132.2*	0.9ns
B*P	2	62.9*	7.9ns	0.2ns	0.03ns	46.8ns	14.2*	32.4ns	0.02ns
V*B*P	4	48*	4.6ns	0.1ns	0.09*	51.1*	9.3*	50.6ns	3.4*
Error	34	14.5	15.1	0.5	0.04	25.4	3.6	69.6	1.1
C.V.(%)	-	13.16	25.6	11.3	14.7	25.6	23.08	25.4	15.9

ns, *, **: Non significantly difference and significantly difference in 5% and 1% levels of probability, respectively.

ادامه جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس اثر ورمی‌کمپوست، بیوجار و ریزوباکتری‌های محرک رشد بر صفات مورفولوژیک، درصد و عملکرد اسانس به‌لیمو.

Continude table 4. Results of variance analysis effect of vermicompost, biochar and PGPR on morphological traits and essential oil yield of lemon verbena.

Source of variation	d.f.	Mean of squares						
		Circumference of Canopy	Leaf yield	Stem yield	Inflorescence yield	Total dry matter yield	Essential oil Percentage	Essential oil yield yield
Block	2	611.2ns	77.01*	45.2*	17.2**	137.8**	0ns	499.9**
Vermicompost (V)	2	4876.4**	95.9**	98.3**	22.7**	211.01**	0.1**	79.6ns
Biochar (B)	2	328.6ns	125.08**	10.9ns	1.4ns	95.1*	0.04**	1314.2**
PGPR (P)	1	1353.6**	24.3ns	5.2ns	0.09ns	24.8ns	0.006**	278.3ns
V*B	4	680.8*	41.5ns	34.8ns	4.7**	58.3*	0.1**	337.7**
V*P	2	610.5*	55.4*	10.2ns	1.4ns	69.6*	0.03**	220.6*
B*P	2	241.1ns	35.6*	38.2*	0.4ns	79.2*	0.02**	282.9*
V*B*P	4	639.6*	38.3*	32.5*	2.5*	54.3*	0.07**	246.1*
Error	34	218.2	17.2	11.7	0.9	20.7	0.005	53.9
C.V.(%)	-	25.1	22.6	20.3	15.1	18.4	4.2	21.8

ns, *, **: Non significantly difference and significantly difference in 5% and 1% levels of probability, respectively.

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل ورمی کمپوست و بیوچار بر برخی صفات مورفولوژیک بهلیمو.

Table 5. Mean comparing interaction effect of vermicompost and biochar on some morphological traits of lemon verbena.

Vermi-compost and Biochar (V*B)	Means of Traits		
	Number of leaves (n/p)	Length of leaf (cm)	Small diameter of canopy (cm)
V ₀ B ₀	218.2c	4.4b	55.4b
V ₀ B ₅	276.8bc	5.8ab	66.6ab
V ₀ B ₁₀	278.8bc	5.9ab	69.5ab
V ₆ B ₀	393.5abc	6.9a	88.7a
V ₆ B ₅	509.5a	6.8a	91.07a
V ₆ B ₁₀	457ab	6.7ab	87.8a
V ₁₂ B ₀	275.8bc	6.6ab	75.7ab
V ₁₂ B ₅	304.2abc	6.7ab	71.4ab
V ₁₂ B ₁₀	258.6bc	6.6ab	74.5ab

در هر ستون میانگین های با حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

In each column, means followed by at least a common letter, are not significantly difference at 5 percent probability level.

(V = vermi-compost. 0, 6, and 12 ton/ha)

(B = biochar. 0, 5, and 12 ton/ha)

جدول ۶. مقایسه میانگین اثر متقابل ورمی کمپوست، بیوچار و ریزوباکتری های محرک رشد بر برخی صفات مورفولوژیک و عملکرد اسانس بهلیمو.

Table 6. Mean comparing interaction effect of vermicompost, biochar and PGPR on some morphological traits and essential oil yield of lemon verbena.

	Height of plant (cm)	Width of leaf (cm)	Leaf area (cm ²)	Diameter of stem (cm)	Diameter of small canopy (cm)	Circumference of canopy (cm)	Leaf yield (kg/ha)	Stem yield (kg/ha)	Inflorescence yields (kg/ha)	Total dry matter yield (kg/ha)	Essential oil percentage (%)	Essential oil yield (g/ha)
V ₀ B ₀ P ₀	78.6cde	1.1d	426.7bc	6.6bc	36.6bc	76.4c	93.9d	189.2c	21.3d	304.5e	0.86a	819.1f
V ₀ B ₀ P ₁	91.3a-d	1.2bcd	602.9abc	8.3abc	41.7abc	100.1abc	114.5d	170.3c	26.6cd	311.5de	0.53ef	607.7f
V ₀ B ₅ P ₀	66.9e	1.3a-d	344.7c	9.5ab	25.4c	76.1c	322.5a-d	198.6c	25.3d	546.5ade	0.62d	2011.4b-f
V ₀ B ₅ P ₁	88.7a-e	1.5a-d	1346.3a	9.01abc	40.2abc	103.3abc	491.4abc	306.4bc	33cd	830.8abc	0.5f	2480.2a-e
V ₀ B ₁₀ P ₀	81.7b-e	1.3a-d	589abc	7.8abc	38.3abc	102.1abc	253.7cd	202.2c	35.6bcd	491.6cde	0.56e	1408.3def
V ₀ B ₁₀ P ₁	90.7a-d	1.2cd	744.6abc	8.6abc	40.5abc	106.2abc	440.7abc	332.6bc	26.3cd	799.7a-e	0.79b	3480.8ab
V ₆ B ₀ P ₀	77.3de	1.7ab	1307.9a	7.03abc	47.6abc	119.2abc	393.4a-d	380bc	42.3bcd	815.8a-d	0.3h	1184.3ef
V ₆ B ₀ P ₁	92.6a-d	1.7ab	10.94abc	8.05abc	46.07abc	121.2abc	274.1bcd	268bc	51.6abc	593.7cde	0.54e	1489.4def
V ₆ B ₅ P ₀	81.1b-e	1.6ab	1386.1a	10.4a	65.6a	124.6abc	463.9abc	355.3bc	68.7a	888abc	0.39g	1830c-f
V ₆ B ₅ P ₁	93a-d	1.7a	1284.9ab	9.9ab	55.7ab	135.6ab	576.6ab	601.5a	67.9a	1246.2a	0.3h	1768.7c-f
V ₆ B ₁₀ P ₀	82.8b-e	1.6ab	976.5abc	8.4abc	55.6ab	112.2abc	586a	495.1ab	52abc	1133.1ab	0.63d	3736.3a
V ₆ B ₁₀ P ₁	95.8a-d	1.6ab	932.8abc	7.1abc	55.8ab	143.9a	461.4abc	283.6bc	58.9ab	804a-e	0.63d	2926.7a-d
V ₁₂ B ₀ P ₀	92a-d	1.6abc	1092.9abc	7.3abc	42.3abc	101.7abc	311.4a-d	274.6bc	68.3a	654.4b-e	0.33h	1066.7ef
V ₁₂ B ₀ P ₁	108.5a	1.6ab	1036.5abc	8.7abc	44.6abc	99.6abc	371.3a-d	341bc	37.6bcd	750b-e	0.38g	1407.7def
V ₁₂ B ₅ P ₀	87.5a-e	1.6ab	1110.5abc	10.5a	44.5abc	126.3abc	294.7a-d	250c	42.07abd	586.7cde	0.69c	2027.1b-f
V ₁₂ B ₅ P ₁	103.6ab	1.6ab	1012.2abc	7.2abc	43.8abc	100.2abc	395.3a-d	273.03bc	42.07bcd	710.4bcde	0.81b	3228.7abc
V ₁₂ B ₁₀ P ₀	100.8abc	1.7a	1169.2abc	7.9abc	44.4abc	87.4bc	335.4a-d	300.6bc	25.5d	661.5b-e	0.41g	1365.1def
V ₁₂ B ₁₀ P ₁	107.1a	1.6ab	1025.8abc	7.5abc	48.1abc	105.8abc	346a-d	195.3c	24.6d	566cde	0.5f	1756.5c-f

در هر ستون میانگین های با حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

In each column, means followed by at least a common letter, are not significantly difference at 5 percent probability level.

(V = vermi-compost. 0, 6, and 12 ton/ha)

(B = biochar. 0, 5, and 12 ton/ha)

(P = PGPR, 0 (non- inoculation) and 1 (inoculation))

جدول ۷. همبستگی ساده بین صفات بهلیمو تحت تاثیر استفاده از ورمی کمپوست، بیوچار و ریزوباکتری های محرک رشد.

Table 7. Simple correlation between some traits of lemon verbena under application of vermi-compost, biochar and PGPR.

Traits	Number of leaves	Leaf area	Circumference of canopy	Leaf yield	Stem yield	Inflorescence yield	Essential oil percentage
Number of Leaves	1						
Leaf Surface	0.09ns	1					
Circumference of Canopy	0.68**	0.25ns	1				
Leaf Yield	0.44*	0.29*	0.25ns	1			
Stem Yield	0.50*	0.25ns	0.32*	0.77**	1		
Inflorescence Yield	0.41*	0.45*	0.40*	0.41*	0.42*	1	
Extract Percentage	0.08ns	-0.26ns	-0.17ns	0.18ns	-0.25ns	-0.31*	1

ns, *, **: Non significantly difference and significantly difference in 5% and 1% level of probability, respectively.

ns, *, **: Non significantly difference and significantly difference in 5% and 1% level of probability, respectively.

گرفت و بیشتر تیمارهای مصرف PGPR در یک گروه قرار داشتند اما در بقیه صفات روند خیلی مشخصی مشاهده نشد. اثر متقابل سه‌گانه بر صفات مورفولوژیک و عملکرد اندام‌های مختلف، عملکرد اسانس و نیز بر درصد اسانس اختلاف آماری معنی‌دار داشتند (جدول ۴). از آن جایی که ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) یک تیمار کیفی هست و اثر گذاری کمی آن در دراز مدت اتفاق می‌افتد، بنابراین در سال اول برای تولید گیاهان با درصد اسانس بالا استفاده از آن مفید گزارش شده بود (Yasari & Patwardhan, 2007). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه عامل ورمی‌کمپوست، بیوچار به همراه ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) در جدول ۶ نشان داد که ارتفاع گیاه تحت تاثیر بیوچار قرار نگرفت، عرض برگ با مصرف ورمی‌کمپوست افزایش یافت. سطح برگ نیز بشدت تحت تاثیر مصرف کودهای آلی و زیستی بود، کمترین قطر ساقه اصلی، قطر کوچک تاج پوشش و دور تاج پوشش در تیمار شاهد بود. بیشترین عملکرد برگ و عملکرد اسانس متعلق به تیمار V6B10P0 بود. حداکثر عملکرد ساقه و عملکرد کل ماده خشک در تیمارهای V6B5P1 و V6B10P0 مشاهده شدند (جدول ۶). بالاترین درصد اسانس با ۰/۸۶ درصد متعلق به تیمار شاهد (V0B0P0) بود. نتایج همبستگی بین صفات نشان داد که عملکرد برگ با اجزای آن یعنی سطح و تعداد برگ همبستگی مثبت معنی‌دار داشت (جدول ۷). عملکرد گل‌آذین با درصد اسانس همبستگی منفی معنی‌دار داشت (جدول ۷) که نشان می‌دهد عواملی که موجب افزایش رشد گیاه و توسعه تعداد شاخ و برگ و ساقه‌های جانبی می‌شوند، بر درصد اسانس تاثیر منفی خواهد داشت، به عبارتی نتیجه این رابطه نشان می‌دهد که درصد اسانس در شرایط تنش افزایش خواهد یافت، بنابراین اعمال تیمارهای تنش بخصوص قبل از چیدن برگ‌ها می‌تواند یکی از موضوعات تحقیقاتی در آینده بر روی به‌لیمو باشد زیرا در این تحقیق از کودهای زیستی استفاده شده که به دلیل توسعه سیستم ریشه، افزایش گره‌زایی و تثبیت نیتروژن مولکولی اتمسفر (Renaut *et al.*, 2004) و نیز تولید سیدروفورهای مختلف برای افزایش قابلیت جذب Zn، Fe و Mn، و بالابردن حلالیت فسفر از ترکیب‌های نامحلول معدنی (Narula *et al.*,

در جدول ۴ مشاهده گردید که بیوچار بر عملکرد برگ، عملکرد کل ماده خشک، درصد و عملکرد اسانس اختلاف آماری داشت. اما بررسی جدول‌های ۵ و ۶ نشان داد که این ماده آلی به تنهایی در بهبود شاخص‌های اندازه‌گیری شده نمی‌تواند موثر باشد که علت این عدم تاثیر سریع و زیاد می‌تواند به خصوصیات ویژه این ماده آلی ارتباط پیدا کند زیرا بیوچار نقش اساسی در بهبود ساختمان خاک (Yasmin & Nehvi, 2013)، کاهش برون ریزهای توده زیستی مانند CO₂ شده، کاهش فرسایش و آبشویی (Rabiei *et al.*, 2013)، افزایش قدرت حفظ عناصر غذایی در خاک (Ven zweten *et al.*, 2010) و افزایش ظرفیت نگهداری آب و افزایش تبادل کاتیونی دارد (Sohi *et al.*, 2010; Laird *et al.*, 2011). و بنظر می‌رسد برای ظاهر شدن اثرات مواد مغذی آن (Warnock *et al.*, 2007; Solaiman *et al.*, 2010; Lehmann *et al.*, 2011) و در اختیار گذاشتن عناصر غذایی ذخیره شده برای بهبود کمیت و کیفیت گیاه، زمان بیشتری نیاز است (Laird, 2008). همچنین بیوچار می‌تواند به خنثی کردن خاک‌های اسیدی و آماده نمودن شرایط برای فعالیت بیشتر ریزجانداران کمک کند. بنابراین به منظور بررسی اثرات بیوچار بهتر است که پروژه‌های بیش از یکسال و گیاهان چند ساله در نظر گرفته شود زیرا در تحقیقات اثرات باقیمانده طولانی مدت بیوچار برای فصل‌های بعد از مصرف مشاهده شده است (Lehmann *et al.*, 2011). شاید یکی از دلایل مشخص نبودن نتایج حاصل از مصرف بیوچار بخاطر مخلوط کردن بیوچار با سایر اصلاح‌کننده‌های خاک از جمله کمپوست قبل از عملیات خاکورزی باشد که می‌تواند بهره‌وری را با کم کردن تعداد عملیات خاکورزی مورد نیاز، کاهش دهد. کود زیستی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) موجب بهبود جذب آب و عناصر غذایی از طریق تولید فیتوهورمون‌های رشد گیاهی (Mrkovacki & Milic, 2001; Bashan & Dubrovsky, 1996) می‌شوند. اثر ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) بر ارتفاع گیاه، تعداد برگ، دور تاج پوشش و درصد اسانس اختلاف معنی‌دار بود. نگاهی به جدول ۶ نشان داد که ارتفاع گیاه تحت تاثیر ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) قرار

همراه مصرف PGPR با میانگین ۰/۳۶٪ بیشترین بود. بیشترین آهن در تیمار V6B10P1 با میانگین ۳۷۷/۰۶ پی‌پی‌ام مشاهده شد. منگنز در تیمار مصرف ۱۲ تن ورمی‌کمپوست در هکتار در عدم مصرف بایوچار و PGPR با میانگین ۱۹۸/۸ پی‌پی‌ام بیشترین بود. بیشترین روی را تیمار V6B0P0 با میانگین ۳۴/۶ پی‌پی‌ام داشت. مس در تیمار مصرف ۶ تن در هکتار ورمی‌کمپوست و ۵ تن در هکتار بایوچار و مصرف PGPR با میانگین ۱۴/۳ پی‌پی‌ام بیشترین بود (جدول ۹).

نتایج همبستگی ساده بین عناصر نشان داد که نیتروژن با فسفر ($r=0/58^{**}$)، و روی ($r=0/52^{**}$) همبستگی مثبت معنی‌دار داشت. بین فسفر با پتاسیم ($r=0/63^{**}$)، منیزیم ($r=0/65^{**}$)، و مس ($r=0/63^{**}$) همبستگی مثبت معنی‌دار مشاهده شد. پتاسیم با منیزیم ($r=0/56^{**}$)، روی ($r=0/55^{**}$) و مس ($r=0/57^{**}$) همبستگی مثبت معنی‌دار داشت.

همبستگی مثبت معنی‌دار بین آهن با روی ($r=0/69^{**}$) وجود دارد. بین منگنز با روی ($r=0/57^{**}$) همبستگی مثبت معنی‌دار وجود داشت. روی با مس ($r=0/51^{**}$) همبستگی مثبت معنی‌دار داشت (جدول ۱۰).

وجود اثر مثبت کودهای ورمی‌کمپوست با بایوچار به همراه ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) بر اکثر عناصر جذبی گیاه نشان‌دهنده اثر مثبت تیمارهای استفاده شده در بالا بردن میزان جذب عناصر یاد شده می‌باشد (جدول ۸). نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۹) نشان داد که بیشترین نیتروژن در تیمار V6B0P1 وجود داشت. بیشترین فسفر و منیزیم را تیمار V6B5P1 داشت. مقدار گوگرد جذب شده در تیمار مصرف ۶ تن در هکتار ورمی‌کمپوست در مصرف ۱۰ تن در هکتار بایوچار به همراه مصرف PGPR بیشترین بود. بیشترین آهن در تیمار V6B10P1 مشاهده شد. منگنز در تیمار مصرف ۱۲ تن ورمی‌کمپوست در هکتار بیشترین بود. بیشترین روی را تیمار V6B0P0 داشت. مس در تیمار مصرف ۶ تن در هکتار ورمی‌کمپوست و ۵ تن در هکتار بایوچار و مصرف PGPR (جدول ۹).

(2000) علاوه بر افزایش رشد، موجب کاهش اثر تنش‌های محیطی می‌شوند. همچنین نقش کودهای آلی بایوچار (Rabiei et al., 2013; Sohi et al., 2010; Laird et al., 2011) و ورمی‌کمپوست (Arancon et al., 2004; Prabha et al., 2007) نیز در کاهش تنش‌های محیطی کاملاً مورد تایید است، نیز افزایش عملکرد ناشی از مصرف ورمی‌کمپوست را در مقایسه با سایر کودهای آلی مربوط به مقادیر بالای تنظیم‌کننده‌های رشد در ساختار کود ورمی‌کمپوست که نسبتاً ناپایدار بوده و روی سطح هومات‌ها جذب شده نقش مهمی را در اتصال ذرات هومات دارد که این ذرات با افزایش فراهمی عناصر غذایی باعث رشد و نمو گیاه و به دنبال آن افزایش عملکرد محصول است.

نتایج تجزیه واریانس عناصر نشان داد که اثر متقابل ورمی‌کمپوست به همراه بایوچار بر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، منیزیم، گوگرد، آهن، منگنز، روی و مس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل ورمی‌کمپوست به همراه ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) به جز پتاسیم و منیزیم بر سایر عناصر اندازه‌گیری شده از قبیل نیتروژن، گوگرد، آهن، منگنز، روی و مس در سطح احتمال یک درصد و بر فسفر در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. بایوچار به همراه ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) بر فسفر، پتاسیم، منیزیم، گوگرد، آهن، منگنز، روی و مس در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌دار داشت. اثر متقابل سه گانه ورمی‌کمپوست، بایوچار به همراه ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) بر نیتروژن و منیزیم در سطح احتمال پنج درصد و بر فسفر، گوگرد، آهن، منگنز، روی و مس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۸).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه ورمی‌کمپوست، بایوچار به همراه ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) (جدول ۹) نشان داد که بیشترین نیتروژن در تیمار V6B0P1 با میانگین ۲/۳۵ درصد وجود داشت. بیشترین فسفر و منیزیم را تیمار V6B5P1 به ترتیب با میانگین‌های ۰/۲۷ و ۰/۲۸ درصد داشت. مقدار گوگرد جذب‌شده در تیمار مصرف ۶ تن در هکتار ورمی‌کمپوست در مصرف ۱۰ تن در هکتار بایوچار به

جدول ۸. نتایج تجزیه واریانس اثر ورمی‌کمپوست، بیوجار و ریزوباکتری‌های محرک رشد بر برخی عناصر به‌لیمو.

Table 8. Results of variance analysis effect of vermicompost, biochar and PGPR on some elements of lemon verbena.

Source of variation	d.f.	Mean of squares								
		Nitrogen	Phosphor	Potassium	Magnesium	Sulfur	Iron	Manganese	Zinc	Copper
Block	2	0.1**	0.006**	0.007**	0.005**	0.008**	59.02**	66.2**	51.5**	1.5**
Vermi-Compost (V)	2	0.42**	0.005**	0.005**	0.009**	0.006**	1147.8**	4828.6**	55.6**	22.4**
Biochar (B)	2	0.04**	0.001**	0.0001ns	0.01**	0.01**	1569.3**	2945.6**	35.9**	9.5**
PGPR (P)	1	0.4**	0.01**	0ns	0.01**	0.01**	29718.1**	829.1**	96.8**	49.5**
V*B	4	0.04**	0.003**	0.0003*	0.001**	0.01**	1675.8**	858.6**	8.3**	7.8**
V*P	2	0.03**	0*	0ns	0.0002ns	0.02**	60801.9**	525.8**	7.4**	5.9**
B*P	2	0.01ns	0.001**	0.0006**	0.0006**	0.01**	8812**	1503.6**	117.6**	16.7**
V*B*P	4	0.02*	0**	0.0001ns	0.0003*	0.01**	4078.8**	791.9**	12.9**	4.5**
Error	34	0.006	0.0007	0.0001	0.00009	0.0003	0.5	1.03	0.19	0.02
C.V.(%)	-	3.9	4.27	1.8	4.7	9.4	0.25	0.62	1.59	1.8

ns, *, **: Non significantly difference and significantly difference in 5% and 1% levels of probability, respectively.

جدول ۹. مقایسه میانگین اثر متقابل ورمی‌کمپوست، بیوجار و ریزوباکتری‌های محرک رشد بر میزان جذب عناصر به‌لیمو.

Table 9. Mean comparing interaction effect of vermicompost, biochar and PGPR on absorption of some elements in lemon verbena.

V*B*P	Nitrogen (%)	Phosphor (%)	Potassium (%)	Magnesium (%)	Sulfur (%)	Iron (ppm)	Manganese (ppm)	Zinc (ppm)	Copper (ppm)
V ₀ B ₀ P ₀	1.93gh	0.13g	0.56cde	0.15h	0.09h	302.7f	173.8f	30c	7.6f
V ₀ B ₀ P ₁	1.94gh	0.18e	0.55efg	0.16gh	0.2cd	295h	167.06h	27.06g	7.1g
V ₀ B ₅ P ₀	2efg	0.17ef	0.54fg	0.16gh	0.27b	247.06m	105.1n	22.5j	6.6h
V ₀ B ₅ P ₁	2.2a-d	0.21cd	0.55efg	0.22d	0.26b	298.1g	157.6j	28.1e	8.2e
V ₀ B ₁₀ P ₀	1.92fgh	0.21cd	0.55d-g	0.17g	0.12gh	282.2j	144.4k	23.1j	6.07i
V ₀ B ₁₀ P ₁	2.05def	0.23b	0.53g	0.2e	0.27b	301.5f	126.2m	25.1h	7.2g
V ₆ B ₀ P ₀	2.12cde	0.2d	0.58bc	0.17g	0.15efg	322.4d	177.2e	34.6a	7.2g
V ₆ B ₀ P ₁	2.35a	0.21cd	0.57bcd	0.18fg	0.17de	252.7i	170.5g	27.9ef	7.2g
V ₆ B ₅ P ₀	2.19bcd	0.21d	0.57cde	0.26b	0.22c	291.3i	139.1l	24.6hi	6.9g
V ₆ B ₅ P ₁	2.24abc	0.27a	0.6a	0.28a	0.18de	321.7d	173.2f	30.5c	14.3a
V ₆ B ₁₀ P ₀	2.17bcd	0.21d	0.59ab	0.20e	0.12gh	245n	162.4i	25.1h	9.4d
V ₆ B ₁₀ P ₁	2.31ab	0.23b	0.59a	0.24c	0.36a	377.06a	188.8b	33.2b	11.1b
V ₁₂ B ₀ P ₀	1.78hi	0.18e	0.55def	0.18fg	0.2cd	272.9k	198.8a	27.2fg	7.2g
V ₁₂ B ₀ P ₁	1.9gh	0.23b	0.56cde	0.20e	0.14fg	347.06b	184.1c	27.2fg	8.3e
V ₁₂ B ₅ P ₀	1.73i	0.17ef	0.56cde	0.23cd	0.12gh	223.2p	180.5d	24.1i	7.2g
V ₁₂ B ₅ P ₁	2.06def	0.22bc	0.57cde	0.26b	0.12gh	309.1e	175f	29.1d	10.1c
V ₁₂ B ₁₀ P ₀	1.86ghi	0.16f	0.57cde	0.19ef	0.27b	234.3o	158.4j	22.9j	6.5h
V ₁₂ B ₁₀ P ₁	2.27abc	0.2d	0.56cde	0.20e	0.16ef	341.2c	167.9h	30.1c	8.3e

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند. In each column, means followed by at least a common letter, are not significantly difference at 5 percent probability level (V = vermi-compost, 0, 6, and 12 ton/ha), (B = biochar, 0, 5, and 12 ton/ha), (P = PGPR, 0 (non-inoculation) and 1 (inoculation))

جدول ۱۰. همبستگی ساده بین عناصر اندازه‌گیری شده در به‌لیمو تحت تاثیر ورمی‌کمپوست، بیوجار و ریزوباکتری‌های محرک رشد.

Table 10. Simple correlation between measured elements in leaf of lemon beebrush under application of vermicompost, biochar and PGPR.

Traits	Nitrogen	Phosphor	Potassium	Magnesium	Sulfur	Iron	Manganese	Zinc	Copper
Nitrogen	1								
Phosphor	0.58**	1							
Potassium	0.47*	0.54**	1						
Magnesium	0.41*	0.65**	0.56**	1					
Sulfur	0.29*	0.20ns	0.11ns	0.20ns	1				
Iron	0.39*	0.47*	0.17ns	0.25ns	0.14ns	1			
Manganese	-0.04ns	0.11ns	0.40*	0.16ns	-0.26ns	0.32*	1		
Zinc	0.52**	0.42*	0.55**	0.26ns	0.05ns	0.69**	0.57**	1	
Copper	0.45*	0.63**	0.57**	0.67**	0.06ns	0.48*	0.36*	0.51**	1

ns, *, **: Non significantly difference and significantly difference in 5% and 1% level of probability, respectively.

بخصوص برگ در گیاه به‌لیمو می‌باشد. وجود همبستگی مثبت بین عناصر پر مصرف نیتروژن با فسفر، پتاسیم، منیزیم و گوگرد و نیز عناصر کم مصرف آهن، روی و مس و نیز اکثر عناصر ماکرو و میکرو نشان داد که جذب یک عنصر موجب افزایش عنصر دیگر شده است، بنابراین تأمین همه عناصر غذایی مورد نیاز گیاه برای رشد مطلوب آن ضروری می‌باشد. نتایج مؤید این است که در دسترس بودن مقادیر کافی از مواد غذایی در مراحل رشد اولیه تا انتهای دوره رشد با استفاده از تیمارهای استفاده شده، فراهمی بهتر عناصر غذایی برای گیاه و اثر هورمونی القا شده در گیاه توسط ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) و ازدیاد رشد ریشه و به تبع آن افزایش زمینه دسترسی به آب و املاح و در نتیجه رشد بیشتر بخش هوایی گیاه را ممکن ساخته است.

یکی از دلایل قابلیت جذب بیشتر عناصر غذایی توسط گیاه در ورمی‌کمپوست به‌دلیل خاصیت تامپونی این ماده است که از تغییرات بیش از حد pH در خلال جذب عناصر توسط گیاه جلوگیری نموده و همچنین اسیدهای آلی موجود در آن، عناصر غذایی موجود در خاک را (به خصوص عناصر میکرو نظیر آهن و غیره) از طریق کمپلکس نمودن به صورت محلول درآورده و در اختیار گیاه قرار می‌دهد (Samavat et al., 2001).

نتیجه‌گیری کلی

مشاهده شد که میزان جذب اکثر عناصر در تیمار مصرف ۶ تن در هکتار ورمی‌کمپوست بیشتر از بقیه تیمارهاست. بنابراین بنظر می‌رسد که استفاده از ۶ تن ورمی‌کمپوست بهترین سطح مورد نیاز از این کود برای تولید سرشاخه

REFERENCES

- Anwar, M., Patra, D.D., Chand, S., & 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, 1737-46.
- Arancon, N.Q., Edwards, C.A., Atiyeh, R., & Metzger, J. D. (2004). Effect of vermicomposts produced from food wasted on the growth and yields of greenhouse peppers. *Bioresource Technology*, 97, 831-840.
- Asai, H., Samson, B. K., Stephan, H. M., Songyikhangsuthor, K., Homma, K., Kiyono, Y., Inoue, Y., Shiraiwa, T., & Horie, T. (2009). Biochar amendment techniques for upland rice production in Northern Laos. 1. Soil physical properties, leaf SPAD and grain yield. *Field Crops Research*, 111, 81-84.
- Azadbakht, M. (1999). *Herbs clasification*, (pp.256.) Teymourzadeh Publication, Tayeb Publication. (In Farsi).
- Bashan, Y., & Doubrovsky, J.G. (1996). *Azospirillum* spp. Participation in dry matter partitioning in grasses at the whole plant level. *Biology and Fertility of Soils*, 23, 435-440.
- Campitelli, P., & Ceppi, S. (2008). Effects of composting technologies on the chemical and physicochemical properties of humic acids. *Geoderma*, 14, 325-33.
- Chan, K. Y., Van Zwieten, L., Meszaros, I., Downie, A., & Joseph, S. (2007). Agronomic values of greenwaste biochar as a soil amendment. *Soil Research*, 45, 629-634.
- Darzi, M.T.A., Ghalavand, V., & Rajali, F. (2008). Investigating the effects of mycorrhiza, vermicompost, and phosphate biofertilizer on flowering, biologic yield, and stem symbiosis of fennel. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 10, 88-109. (In Farsi).
- Esmailpour, B., Rahmani, M., Heidarpour, O., & Shahriyari, M.H. (2017). Effect of vermicompost and spent mushroom compost on the nutrient and essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20, 1283-1292.
- Ganjali, A., & Kaykhani, M. (2017). Investigating the essential oil composition of *Rosmarinus officinalis* before and after fertilizing with vermicompost. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(5), 1413-1417.
- Glaser, B., & Birk, J. J. (2012). State of the scientific knowledge on properties and genesis of Anthropogenic Dark Earths in Central Amazonia (terra preta de Índio). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 82, 39-51.
- Hald, P.M. (1947). The flame photometer for the measurement of sodium and potassium in biological materials. *Journal of Biological Chemistry*, 167, 499-510.
- Hale, S. E., Alling, V., Martinsen, V., Mulder, J., Breedveld, G.D., & Cornelissen, G. (2013). The sorption and desorption of phosphate-P, ammonium-N, nitrate-N, and nincaoshell and corncob biochars. *Chemosphere*, 91, 1612-1619.

14. Heidarpour, O., Esmailpour, B., Ashraf Soltani, A., & Khorramdel, S. (2019). Effect of vermicompost on essential oil composition of (*Satureja hortensis* L.) under water stress condition. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(2), 484-492.
15. Hovind, H. (2004). Trace elements determination AAS. Norwegian Institute for Water Research, *Desk Study Horizontal*, 20-47.
16. IRIMO, I.R. of I.M.O.M. (2017). Climatology, [Http://www.irimo.ir/](http://www.irimo.ir/).
17. Kandeel, Y.R., Nofal, E.S., Menesi, F.A., Reda, K.A., Taher, M., & Zaki, Z.T. (2001). Effect of some cultural practices on growth and chemical composition of *Foeniculum vulgare* Mill. In: *Proceedings of 5th Arabian Horticultural Conference.*, 24-28 Mar., Egypt, pp. 61-72.
18. Karimi, H. (2002). *A Dictionary of Iran's vegetations* (1st ed). Parcham Publication. (In Farsi).
19. Kazeminasab, A., Yarnia, M., Lebaschy, M.H., Mirshekari, B., & Rejali, F. (2016). The effect of vermicompost and PGPR on physiological traits of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) plant under drought stress. *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 2, 135-144.
20. Kiafar, R., Akbarzadeh, M., & Khommami, A.M. (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.
21. Kumar, T.S., Swaminathan, V., & Kumar, S. (2009). Influence of nitrogen, phosphorus and biofertilizers on growth, yield and essential oil constituents in ratoon crop of davana (*Artemisia pallens* Wall.). *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 8(2) 86-95.
22. Laird, D. A. (2008). The charcoalvision: awin-win-win scenariofor simultaneously producing bioenergy, permanently sequestering carbon, while improving soil and water quality. *Agronomy Journal*, 100, 178-181.
23. Laird, D.A., Rogovska, N.P., Garcia-Perez, M., Collins, H.P., Streubel, J.D., & Smith, M. (2011). Pyrolysis and biochar-opportunities for distributed production and soil quality enhancement, in sustainable alternative fuel feed stock opportunities, challenges and road maps for six U.S. regions, In *proceedings of the Sustainable Feed stocks for Advanced Biofuels Workshop*, Johnson (GA:SWCS publisher), Atlanta, pp. 257-281.
24. Le Croy, C., Masiello, C.A., Rudgers, J.A., Hockaday, W.C., & Silberg, J.J. (2013). Nitrogen, biochar, and mycorrhizae: alteration of the symbiosis and oxidation of the char surface. *Soil Biology and Biochemistry*, 58, 248-254.
25. Lehmann, J., Rillig, M.C., Thies, J., Masiello, C.A., Hockaday, W. C., & Crowley, D. (2011). Biochar effects on soil biota-a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 43, 1812-1836.
26. Leithy, S., El-Meseiry, T.A., & Abdallah, E.F. (2006). Effect of bio fertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on rosemary herbage oil yield and quality. *Journal of Applied Sciences Research*, 2(10), 773- 779.
27. Lynch, J.M., & Barbano, D.M. (1999). Kjeldahl nitrogen analysis as a reference method for protein determination in dairy products. *Journal of AOAC International*, 82, 1389-1398.
28. Mahfouz, S.A., & Sharaf-Eldin, M.A. (2007). Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysics*, 21(4), 361-366.
29. Mirza, M., Sefidkon, F., & Ahmadi, L. (1996). Natural essential oils (extraction, qualitative & quantitative identify, application). *Research Institute of Forests and Rangelands press*, 1, 175. (In Farsi).
30. Mohammadi, M., Tobeh, A., Vahidipour, H.R., & Fakhari, R. (2013). Effects of biological fertilizers on essential oil components and quantitative and qualitative yield of lemon verbena (*Lippia citriodora*). *International Journal of Agriculture and Crop Science*. 5(12), 1374 - 80.
31. Mozaffarian, V. (1998). *Dictionary of Iranian plants names*. Farhange Moaser. (In Farsi).
32. Mrkovacki, N., & Milic, V. (2001). Use of azotobacter chroococcum as potentially useful in agricultural application. *Annals of Microbiology*, 51, 145-158.
33. Mukherjee, A., & Zimmerman, A.R. (2013). Organic carbon and nutrient release from arangeo laboratory-produced biochars and biochar-soil mixtures. *Geoderma*, 193, 122-130.
34. Namgay, T., Singh, B., & Singh, B. P. (2010). Influence of biochar application to soil on the availability of As, Cd, Cu, Pb, and Zn to maize (*Zea mays*). *Australian Journal of Soil Research*, 48, 638-647.
35. Narula, N., Kumar, V., Behl, R.K., Deubel, A., Gransee, A., & Merbach, W. (2000). Effect of P-solubilizing *Azotobacter chroococcum* on N, P and K uptake in P-responsive wheat genotypes grown under greenhouse conditions. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 163(4), 393-398.
36. Pallai, R. (2005). Effect of plant growth-promoting rhizobacteria on canola (*Brassica napus* L.) and lentil (*Lens culinaris* Medik) plants. M.Sc. Thesis, Department of Applied Microbiology and Food Science, University of Saskatchewan Wan Saskatoon.
37. Prabha, M.L., Jayraaj, I.A. Jayraaj, R., & Rao, D.S. (2007). Effective of vermicompost on growth parameters of selected vegetable and medicinal plants. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*, 9, 321-326.

38. Rabiei, H., Davari, M.R. Moghimi Nejad, S., & Armaghan, F. (2013). Biochar (pyrolyzed biomass), soil amendments in sustainable agriculture. *National Conference on Agricultural Science and Technology*, 6 Mar., Malayer, Iran, pp. 34-43. (In Farsi).
39. Rashedi, L. (2001). *Traditional drugstore* (4th ed.). Tobugh Publication. (In Farsi).
40. Renaut, J., Lutts, S., Hoffmann, L., & Hausman, J.F. (2004). Responses of poplar to chilling temperature: proteomics and physiological aspects. *Plant Biology*, 6, 81-90.
41. Samavat, S., Lekzian, A., & Zamirpour, A.R. (2001). Effects of vermicompost on growth indices of *Solanum lycopersicum*. *Journal of Agricultural Sciences and Industries* 15(2), 83-88. (In Farsi).
42. Sinclair, K., Slavich, P., van Zwieten, L., & Downie, A. (2008). Productivity and nutrient availability on a Ferrosol: biochar, lime and fertiliser. In: *Proceedings of 14th Australian Agronomy Conference*, 21-25 Sep., Adelaide, South Australia, pp. 119-122.
43. Singh, B., Singh, B.P., & Cowie, A.L. (2010). Characterisation and evaluation of biochars for their application as a soil amendment. *Soil Research*, 48, 516-525.
44. Sohi, S.P., Krull, E. Lopez-Capel, E., & Bol, R. (2010). A review of biochar and its use and function in soil. *Advances in Agronomy*, 105, 47-82.
45. Solaiman, Z.M., Blackwell, P., Abbott, L. K., & Storer, P. (2010). Direct and residual effect to biochar application on mycorrhizal root colonisation, growth and nutrition of wheat. *Australian Journal in Soil Research*, 48, 546-554.
46. Tasdighi, H., Salehi, A., Movahhedi Dehnavi, M., & Behzadi, Y. (2015). Survey of yield, yield components and essential oil of *Matricaria chamomilla* L. with application of vermicompost and different irrigation levels. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 25(3), 61-78. (In Farsi).
47. Vaccari, F., Baronti, S., Lugato, E., Genesio, L., Castaldi, S., Fornasier, F., & Miglietta, F. (2011). Biochar as a strategy to sequester carbon and increase yield in durum wheat. *European Journal of Agronomy*, 34, 231-238.
48. Van Zwieten, L., Kimber, S., Morris, S., Chan, K.Y., Downie, A., Rust, J., Joseph, S., & Cowie, A. (2010). Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility. *Plant and Soil*, (327), 235-246.
49. Waling, I., Vark, W. V., Houba, V. J. G., & Van der lee, J. J. (1989). *Soil and Plant Analysis, a series of syllabi. Part 7, Plant analysis procedure.* wageningen agriculture university. Netherland.
50. Warnock, D.D., Mummey, D.L., McBride, B., Major, J., Lehmann, J., & Rillig, M.C. (2010). Influences of non-herbaceous biochar on arbuscular mycorrhizal fungal abundances in root sand soils: results from growth-chamber and field experiments. *Applied Soil Ecology*, 46, 450-456.
51. Winsley, P. (2007). Biochar and bioenergy production for climate change mitigation. *New Zealand Science Review*, (64), 5-10.
52. Yasari, E., & Patwardhan. A. M. (2007). Effects of *Azotobacter* and *Azospirillum* inoculations and chemical fertilizers on growth and productivity of canola. *Asian Journal of Plant Sciences*, 6(1), 77-82.
53. Yasmin, S., & Nehvi, F.A. (2013). Saffron as a valuable spice: A comprehensive review. *African Journal of Agricultural Research*, 8(3), 234-242.
54. Youssef, A.A., Edris, A.E., & 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.
55. Zargari, A. (1992). *Medicinal plants.* (5th ed, 3rd Volume). University of Tehran Publication, 711-713. (In Farsi).