Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 53, No 3, Autumn 2022 (691-706)
DOI: 10.22059/ijhs.2022.326008.1945

علوم باغبانی ایران
دورۀ ۵۳، شمارۀ ۳، پاییز ۱۴۰۱ (ص ۷۰۶-۶۹۱)

نشریه پژوهشی:

تاثیر ماده آلی و نوع محیط کشت بر خصوصیات رویشی، فعالیت آنزیمی و میزان اسانس بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) در شرایط تنش شوری

شیما رحمانیان[۱]، عبدالحسین ابوطالبی جهرمی[۲*] و مهدی حسینی فرهی[۲]
۱. دانشجوی دکتری علوم باغبانی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران
۲. دانشیار علوم باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران
۳. دانشیار علوم باغبانی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران
(تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/٤/۲۷ - تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۱۱/۱٦)

چکیده

به منظور مطالعه تاثیر ماده آلی و نوع محیط کشت بر خصوصیات رویشی، فعالیت آنزیمی و میزان اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه در شرایط تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شهرستان جهرم استان فارس انجام شد. فاکتور اول بستر کشت در سه سطح (ترکیب کمپوست+ خاک زراعی، ورمی‌کمپوست+ خاک زراعی و کمپوست+ ورمی‌کمپوست+ خاک زراعی (همگی به نسبت های مساوی))، فاکتور دوم ماده‌آلی در دو سطح (اسید هیومیک و میکروارگانیسم‌های موثر (EM) (با غلظت ۵ در هزار)) و فاکتور سوم شوری در سه سطح (۵۱۵، ۳٦۵٦ و۷۳۱۲ میکروموس بر سانتی‌متر) بود. نتایج نشان داد با افزایش شوری، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز افزایش و ارتفاع گیاه، تعداد برگ، کلرفیل و درصد اسانس کاهش یافت. اثر افزودن توام ورمی‌کمپوست و کمپوست به خاک بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی، موثرتر از هر یک از این دو ماده به تنهایی بود. به‌طوری کلی کاربرد ماده آلی و میکروارگانیزم های موثر در بستر کشت حاوی خاک+ کمپوست+ ورمی‌کمپوست اثرات منفی شوری بر بادرنجبویه را کاهش داد و کاربرد ماده آلی و میکروارگانیزم های موثر می تواند در شرایط تنش شوری باعث بهبود تحمل و افزایش خصوصیات رشدی و افزایش محتوی درصد اسانس این گیاه دارویی گردد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهیومیک، کاتالاز، کلریدسدیم، ورمی‌کمپوست، وزن تر و خشک.

The effect of organic matter and type of culture medium on vegetative characteristics, enzymatic activity and essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under salinity stress

Shima Rahmanian[1], Abdolhossein Aboutalebi Jahroomi[2*] and Mehdi Hosseinifarahi[2]
1. Ph. D. Candidate of Horticultural Science, Yasooj Branch, Yasooj, Iran
2. Associate Professor of Horticulture, Jahroom Branch, Islamic Azad University, Jahroom, Iran
3. Associate Professor of Horticulture, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran
(Received: July 18, 2021 - Accepted: Feb. 05 ,2022)

ABSTRACT

In order to study the effect of organic matter and type of culture medium on vegetative characteristics, enzymatic activity and essential oil of lemon balm under salinity stress, a factorial experiment based on completely randomized design with three replications in Jahrom city of Fars province carried out. The first factor was the medium culture at three levels (compost + soil, vermicompost + soil and compost + vermicompost + soil (all in equal proportions)), the second factor was organic matter at two levels (humic acid (HA) and effective microorganisms (EM) (concentration of 5 per thousand) and the third factor was salinity at three levels (515, 3656 and 7312 µm/ cm). The results showed that with increasing salinity, proline content and activity of catalase and peroxidase enzymes increased and plant height, leaf number, chlorophyll and percentage of essential oil decreased. Co-addition of vermicompost and compost to soil on growth and physiological traits was more effective than either of these two substances alone. In general, the use of organic matter and effective microorganisms in the culture medium containing soil+ compost+ vermicompost reduced the negative effects of salinity on lemon balm and the use of organic matter and effective microorganisms can improved plant tolerance under salinity stress conditions and increased the growth characteristics and essential oil content of this medicinal plant.

Keywords: Catalase, fresh and dry weight, humic acid, sodium chloride, vermicompost.

* Corresponding author E-mail: aa84607@gmail.com

مقدمه

در حال حاضر حدود ۷۰ درصد از جمعیت جهان برای اهداف مختلف درمانی از گیاهان دارویی و اسانس‌ها استفاده می‌کنند (He *et al*., 2018). براساس آخرین آمار مرکز تجارت جهانی کشور ایران با دارا بودن سهم ۰/۱ درصدی از صادرات جهانی گیاهان دارویی در بین ۱۷۱ کشور صادرکننده در رتبه هفتاد و دوم قرار دارد (Moladoost & Shahmoradi, 2020). بادرنجبویه با نام علمی (*Melissa officinalis* L.) متعلق به تیره‌ی نعناع (Lamiaceae) به عنوان یک گیاه دارویی معطر موارد استفاده متنوعی دارد و در فارماکوپه‌های معتبر از برگ‌ها و پیکر رویشی آن به عنوان دارو یاد شده است. بسیاری از اثرات درمانی آن وابسته به اسانس برگ‌های آن است که غنی از آلدهیدها و الکل‌های ترپنیک می‌باشد (Uyanik & Gurbuz, 2014). از خواص‌درمانی آن می‌توان اثرات تسکینی و آرام‌بخشی، ضداسپاسم، ضدافسردگی، بهبود هضم، طعم‌دهنده غذا، بهبود آلزایمر و خواص آنتی‌باکتریال را نام برد (De Menezes *et al*., 2015).

امروز کشت گسترده گیاهان دارویی دشوار است زیرا بیش‌تر زمین‌های قابل کشت به‌طور غالب برای رشد محصولات غذایی ضروری استفاده می‌شود. زمین‌های غیر قابل کشت اغلب تحت تأثیر تنش‌های مختلف غیر زیستی قرار دارند که شوری در بین آن‌ها غالب است (Banerjee & Roychoudhury, 2017). شوری بر متابولیسم گیاه از جنبه‌های مختلف تأثیر گذاشته و تغییراتی را در فیزیولوژی و مورفولوژی گیاه باعث می‌شود. پدیده تجمع نمک به سلول‌هایی محدود می‌شود که در حال تقسیم بوده و به شدت تنفس می‌کنند. این سلول‌ها بطور عمده سلول‌های مریستمی می باشند و از نظرجذب یون‌ها بسیار فعالند. علائم تنش شوری شبیه علائمی است که در گیاهان تحت تنش خشکی دیده می‌شود، با این تفاوت که گیاه متأثر از تنش شوری معمولاً دچار پژمردگی نمی‌شود. تنش شوری اثرات پیچیده‌ای بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه می‌گذارد و مهم‌ترین واکنش گیاه به تنش شوری کاهش میزان رشد است (Mane *et al*., 2011). در پژوهشی بالاترین غلظت شوری (۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) به دلیل تغییر در فعالیت اسمزی باعث کاهش قابل توجهی در ارتفاع شاخساره، وزن زیست‌توده و میزان کلروفیل گیاه بادرنجبویه شده و فعالیت‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) در گیاهان تحت شوری افزایش یافت (Bonacina *et al*., 2017). در پژوهشی نتایج نشان داد که در تیمار شوری یک دسی‌زیمنس برمتر میزان وزن خشک و پرولین در بادرنجبویه بالاتر بود ولی با رسیدن شوری به ۴ دسی‌زیمنس بر متر از مقدار این شاخص کاسته شد (Khadem al-Husseini *et al*., 2018). در پژوهشی دیگر شوری آب آبیاری باعث کاهش برخی خصوصیات رشد (کل سطح برگ، تعداد برگ، وزن کل توده تر و خشک) در بادرنجبویه شد و قندهای محلول کل و پرولین را افزایش داد (Khalid & Cai, 2011).

به‌کارگیری محیط‌های کشت مناسب ازجمله کمپوست و ورمی‌کمپوست به‌عنوان یک استراتژی در کشاورزی پایدار می‌تواند علاوه بر افزایش تولید گیاهان دارویی، سبب افزایش میزان ماده مؤثره آن‌ها شود. در سال‌های اخیر به‌منظور کاهش آلودگی‌های زیست محیطی توجه زیادی به بازیافت زباله و به کارگیری کمپوست حاصل در اراضی کشاورزی شده است (Mona *et al*., 2008). از محاسن کاربرد و تولید کمپوست می‌توان به عوامل اقتصادی و محیطی همچون کاهش هزینه انتقال و دفن آن‌ها، حمایت از قوانین محیط زیست، کاهش استفاده از کودهای معدنی و بهبود خصوصیات خاک‌های زراعی اشاره کرد (Hargreaves *et al*., 2008). ورمی‌کمپوست یکی دیگر از کودهای آلی می‌باشد که به دلیل تخلخل زیاد دارای قدرت بالای جذب و نگهداری آب و عناصر غذایی، تهویه و زهکشی مناسب می‌باشد و استفاده از آن در کشاورزی پایدار، علاوه بر افزایش جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید خاک (نظیر قارچ‌های میکوریزا و باکتری‌های موجود در ریزوسفر نظیر میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات) در جهت فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم محلول عمل نموده و سبب رشد و عملکرد گیاهان می‌شود (Arancon *et al*., 2005;

Atiyeh *et al*., 2002). در پژوهشی کاربرد ورمی‌کمپوست سبب افزایش معنی‌دار طول و وزن خشک بخش هوایی، سطح برگ و وزن خشک ریشه رازیانه شد (BeykKhormizi *et al*., 2019). کاربرد کود ورمی‌کمپوست منجر به افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته، وزن تر کل بوته، وزن خشک کل بوته و تعداد برگ گیاه بادرشبی (*Dracocephalun moldavica* L.) شد (Gohari *et al*., 2019). در پژوهشی کاربرد نسبت مساوی حجمی ورمی‌کمپوست و خاک (۵۰:۵۰ درصد) باعث افزایش صفات کمی همچون ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی و تعداد برگ ریحان سبز شد (Hosseini Farahi & Norouzinejad, 2016).

استفاده از انواع کودهای آلی از جمله هیومیک اسید، برای بهبود کمی و کیفی محصولات زراعی و باغی رواج فراوان یافته است. این کودهای طبیعی بدون اثر مخرب زیست محیطی ممکن است برای افزایش عملکرد، مؤثر واقع شوند هیومیک اسید ترکیب پلیمری طبیعی آلی است که در نتیجه پوسیدگی مواد آلی خاک، پیت، لیگنین و غیره به وجود می آید که ممکن است برای افزایش محصول و کیفیت آن به کار گرفته شود (Abdipour *et al*., 2019).

نشان داده شده است که محرکهای زیستی، از جمله میکروارگانیسم‌های تقویت کننده رشد گیاه، باعث افزایش جذب، رشد و عملکرد عناصر غذایی گیاه از طریق مکانیسم های مختلف زمینه ای مانند تغییر در ساختار خاک، حلالیت مواد مغذی، رشد ریشه و ریخت شناسی، فیزیولوژی گیاه و روابط همزیستی می شوند. بعلاوه، آن‌ها می توانند تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی و همچنین مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا را بهبود ببخشند. میکروارگانیسم‌های موثر (Effective microorganisms) ترکیبی ویژه از ۱۲۰ گونه مختلف میکروارگانیسم هوازی و بی هوازی است (Iriti *et al*., 2019). این کود بیولوژیکی شامل حداکثر ۸۰ گونه مختلف متعلق به پنج گروه اصلی از میکروارگانیسم ها، از جمله باکتری های فتوسنتز (*Rhodopseudomonas palustris*، *Rhodobacter sphaeroides*)، باکتری‌های اسیدلاکتیک (*Lactobacillus plantarum*، *L. casei*، *Streptococcus lactis*)، مخمرها (*Saccharomyces cerevisiae*)، اکتینومایست‌ها (*Streptomyces albus*، *S. griseus*) و قارچ‌های تخمیر کننده (*Aspergillus oryzae* ، *Penicillium spp.* ، *Mucor hiemalis*) می‌باشد (Ndona *et al*., 2011).

نتایج پژوهش‌های انجام شده در کشور حاکی از آن است که تحقیقات ارزشمندی در زمینه تأثیر کودهای زیستی و آلی در بهبود کمیت و کیفیت محصولات زارعی انجام شده است. اما در خصوص تأثیر این کودها بر رشد و عملکرد گیاهان دارویی به‌خصوص بادرنجبویه در شرایط تنش شوری تحقیقات زیادی صورت نگرفته است. با توجه با ارزش بالای دارویی و غذایی این گیاه و همچنین اثرات سوء و مخرب زیست محیطی و تهدید بهداشت تغذیه‌ای انسان ناشی از مصرف سموم و کودهای شیمیایی در بخش کشاورزی، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر برخی بسترهای کشت و مواد آلی بر رشد رویشی و میزان اسانس گیاه‌دارویی بادرنجبویه تحت تنش شوری انجام گردید.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی و تیمارهای مورد استفاده

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شهرستان جهرم استان فارس انجام شد. فاکتور اول بستر کشت در سه سطح (ترکیب کمپوست و خاک زراعی، ورمی‌کمپوست و خاک زراعی و مخلوط کمپوست، ورمی‌کمپوست، خاک زراعی) همگی به نسبت برابر، فاکتور دوم ماده آلی شامل اسیدهیومیک و میکروارگانیزم‌های موثر (Effective Microorganisms) در دو غلظت (صفر و ۵ در هزار) و فاکتور سوم شوری در سه غلظت (۵۱۵، ۳۶۵۶ و ۷۳۱۲ میکروموس بر سانتی‌متر) بود. کمپوست و ورمی‌کمپوست از شرکت سبزگستر تهیه شد که مشخصات خاک زراعی، کمپوست و ورمی‌کمپوست در جدول ۱ نشان داده شده است. اسیدهیومیک از شرکت آور هیومیک (ساخت کشور آمریکا) دارای هیومیک‌اسید ۹۵٪ و میکروارگانیسم‌های موثر (EM) از شرکت امکان‌پذیر

پارس تهیه گردید. میکروارگانیسم‌های موثر ترکیبی از ۱۲۰ گونه میکروارگانیسم هوازی و بی‌هوازی است که سه گروه اصلی مخمرها، باکتری‌های فتوسنتزکننده و باکتری‌های اسیدلاکتیک تشکیل شده است که اغلب در تولید فرآورده‌های خوراکی بکار می‌رود و برای سلامتی بسیار مفید می‌باشد. در این آزمایش در مهرماه سال ۹۷ ابتدا بذرها به‌مدت ۴۸ ساعت درآب خیسانده و سپس در سینی‌های نشاء کشت گردید. در این تحقیق ۲۷ تا تیمار بود که ۳ تکرار در نظر گرفته شد. گیاهچه‌ها پس از رشد کافی و بهمن‌ماه در مرحله انتقال به گلدان‌های ۵ لیتری حاوی بسترهای کشت مورد نظر در هوای آزاد انتقال داده شدند. پس از استقرار کامل گیاهان تیمار شوری به‌صورت آب آبیاری به فاصله دو روز در میان به گلدان‌ها داده شد. پس از اعمال شوری به فاصله هر ۱۵ روز یکبار مواد آلی (EM و HA) به غلظت ۵ در هزار همراه آب آبیاری به گیاهان داده شد. به گیاهان تا ظهور اولین گل اجازه رشد داده شد. مقیاس انتهای دوره رشد گلدهی بود که بعد از گلدهی برداشت شدند و پس از آن نسبت به اندازه‌گیری صفات رویشی و فیزیولوژیکی اقدام گردید.

اندازه‌گیری شاخص‌های مورد آزمایش

صفات رویشی

برای اندازه‌گیری ارتفاع بوته در پایان رشد رویشی، ارتفاع ۱۰ بوته از سطح خاک تا آخرین نقطه رشد توسط خط‌کش اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها بر حسب سانتی‌متر برای ارتفاع گیاه یادداشت گردید. به منظور اندازه‌گیری وزن تر اندام‌های هوایی، ریشه و کل گیاه، وزن این اندام‌ها به‌وسیله ترازوی دیجیتال توزین شد. سپس نمونه‌ها بلافاصله به محل سایه در مکان خشک با دمای ۲۵ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد دارای تهویه منتقل و سپس با استفاده از آون با دمای ۵۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و با ترازو، وزن خشک اندام هوایی، ریشه و کل گیاه اندازه‌گیری شد (Abdipour *et al*., 2019).

درصد اسانس

مقدار ۲۵ گرم از گیاه خشک و از هر تیمار توزین شد. با ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مخلوط گردیده سپس اسانس موجود در گیاه به روش تقطیر با آب از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت برای هر نمونه انجام گرفت و اسانس حاصل استخراج گردید. اسانس به‌دست‌آمده با استفاده از سولفات سدیم آب‌گیری شد. سپس درون ظروف شیشه‌ای مخصوص (ویال) قرار داده شد و برای جلوگیری از تبخیر شدن اسانس با کاغذ پارافیلم پوشانده و سپس درصد اسانس محاسبه گردید (Farahbakhsh *et al*., 2020).

میزان کلروفیل

برای اندازه‌گیری کلروفیل، بدین منظور ۰/۲ گرم برگ تازه در استون ۸۰ درصد هموژن گردید. پس از سانتریفوژ در ۲۵۰۰ دور بر دقیقه، محلول روئی برداشته و جذب آن در ۶۴۷ و ۶۶۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. توسط فرمول زیر مقادیر کلروفیل اندازه‌گیری گردید (Haghshenas *et al*., 2020).

$$\text{Chl. a (mg/L)} = (12.25 \times A_{663}) - (2.79 \times A_{647}).$$

$$\text{Chl. b (mg/L)} = (21.5 \times A_{647}) - (5.1 \times A_{663}).$$

سنجش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

برای اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز از روش (Ravi Kiran & Aruna (2010) استفاده شد. به این منظور مخلوط واکنش شامل ۱۰۰ میلی مول بافر فسفات پتاسیم، ۱۵ میلی‌مول آب اکسیژنه بود که پس از اضافه کردن عصاره نمونه بافت تغییر جذب در اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر ارزیابی گردید.

جدول ۱. نتایج تجزیه فیزیکوشیمیایی خاک، کمپوست و ورمی‌کمپوست.

Table 1. Results of physicochemical analysis of soil, compost and vermicompost.

Sample	pH	EC (ds/m)	O.C (%)	N (%)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	B (mg/kg)
Soil	7.95	1.53	0.9	0.9	6.2	1.37	3.2	0.29	1.4	0.14	0.12
Compost	7.42	4.06	17.34	1.73	0.87	0.15	517	68.5	185	8.5	39.5
Vermicomost	7	13.02	34.68	3.46	1.23	1.5	0.69	207.5	395	40	68.5

سنجش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (CAT)

اندازه‌گیری این آنزیم بر اساس تغییر شیمیایی نیترو بلوتترازولیوم صورت گرفت. بدین منظور محلول واکنش شامل ۵۵ هزارم مول نیترو بلوتترازولیوم، ۱/۴۲ درصد ترایتون X-100، ۰/۱ mM میلی‌مول EDTA، ۱۶ میلی مول پیروگالول بود که پس از اضافه کردن عصاره نمونه بافت تغییر جذب در اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر ارزیابی گردید (Bromand Sivieri *et al*., 2021).

سنجش میزان فعالیت پرولین

برای اندازه‌گیری میزان پرولین از روش Bates *et al*. (1973) استفاده شد. به این ترتیب که به ۱۰۰ میلی‌گرم از پودر برگ ۱۰ میلی‌لیتر از محلول اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ اضافه شد و پس از ۲۴ ساعت این محلول به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ درو سانتریفوژ گردید از محلول رویی ۲ میلی لیتر برداشته و به آن نین هیدرین به مقدار ۲ میلی‌لیتر اضافه گردید. سپس ۱ میلی لیتر اسیداستیک گلاسیال اضافه گردید و لوله‌ها به‌مدت ۱ ساعت در بن ماری آب جوش قرار گرفتند پس از سرد شدن بر روی هر لوله ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد دو فاز تشکیل گردید فاز بالا برداشته و در طول موج ۵۲۰ نانو متر جذب آن قرائت گردید. مقدار پرولین بر حسب میکرو مول بر گرم برگ تازه بیان شد.

سنجش میزان پروتئین

یک گرم از برگ چیده شده را در آون خشک و در هاون چینی له شدند سپس در لوله آزمایش ریخته و به آن ۴ گرم کاتالیزور و ۱۰ سی‌سی اسیدسولفوریک غلیظ اضافه کرده و در دستگاه هضم به مدت یک ساعت در دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس دو و نیم ساعت در دمای ۳۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده و بعد از خنک شدن لوله‌ها مقدار ازت نمونه‌ها با دستگاه کجل‌دال قرائت شد (Akhzari & Pessarakli, 2016).

محاسبات آماری

تجزیه آماری داده‌های حاصل از صفات مورد بررسی با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین به کمک آزمون LSD در سطح احتمال ۱ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

ارتفاع گیاه

نتایج تجزیه واریانس اثر ماده آلی و محیط کشت بر خصوصیات رویشی، فعالیت آنزیمی و درصد اسانس گیاه بادرنجبویه تحت تنش شوری در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر فاکتورهای آزمایش بر خصوصیات رویشی تاثیر معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد دارد. نتایج مقایسه میانگین اثرمتقابل محیط کشت، شوری و ماده آلی بر ارتفاع گیاه نشان داد که بیش‌ترین ارتفاع گیاه در محیط کشت حاوی خاک و کمپوست و ورمی‌کمپوست در شوری ۵۱۵ میکروموس بر سانتی‌متر و استفاده از EM و بدون استفاده از ماده آلی به‌ترتیب (۶۱/۸ و ۵۸/۲ سانتی‌متر) و کم‌ترین آن در محیط کشت خاک و ورمی‌کمپوست در شوری ۷۳۱۲ میکروموس بر سانتی‌متر با استفاده از ماده آلی HA (۲۲ سانتی‌متر) مشاهده شد. در مجموع در شوری ۳۶۵۶ میکروموس بر سانتی‌متر در هر ۳ محیط کشت، که در آن از EM یا HA استفاده شده باشد می‌تواند اثرات منفی شوری را بر ارتفاع گیاه کاهش غیر معنی‌داری دهد (جدول ۳).

براساس نتایج این تحقیق، با افزایش شوری، ارتفاع گیاه کاهش معنی‌داری پیدا کرد. کاهش ارتفاع گیاه در اثر شوری در گیاهان دارویی ریحان (Rostami & Moghadam, 2019)، گل مغرب (Bohlouli *et al*., 2019)، آویشن (Hosseini *et al*., 2017) گزارش شده است. شوری خاک باعث کاهش پتانسیل اسمزی در محلول خاک شده و دسترسی گیاه به آب را کاهش می‌دهد. کاهش ارتفاع گیاه در اثر تنش شوری، می‌تواند به‌علت عدم تورژسانس مناسب سلول‌ها و تخصیص بیش‌تر مواد سنتزشده جهت مقابله با تنش، کوتاه‌شدن دوره رشد و در کل ممانعت از توسعه عادی سلول‌ها باشد. واکنش گیاه به شوری خاک، کاهش رشد است که می‌تواند به دلیل اختلال در جذب آب و

املاح، بسته شدن جزئی یا کلی روزنه‌ها و کاهش کارایی فتوسنتز باشد (Razzaghi *et al*., 2011). در شرایط تنش شوری، انتقال مواد فتوسنتزی در گیاه مختل می‌شود که موجب اشباع شدن برگ‌ها از گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و در نتیجه باعث محدودیت فرآیند فتوسنتز و کاهش رشد گیاه ازجمله ارتفاع بوته می‌شود (Nadeem *et al*., 2014). در این پژوهش که گیاهان کشت شده در بسترهای حاوی سطوح کمپوست و ورمی‌کمپوست باهم نسبت به استفاده تنهایی آنها اثر مثبت‌تری داشته و بالاترین ارتفاع بوته را دارا بودند، که علت آن وجود عناصر پرمصرف و کم‌مصرف، خواص شیمیایی و فیزیکی اسید هیومیک موجود در ورمی‌کمپوست، از طریق افزایش ظرفیت نگهداری عناصر غذایی و همچنین افزایش فعالیت ریزجاندارها باعث افزایش رشد و ارتفاع گیاه می‌شود (Arancon *et al*., 2005). کمپوست نیز از طریق قدرت زیاد جذب آب و تأمین عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف بر میزان فتوسنتز و تولید زیست‌توده تأثیر مثبت داشت. احتمالاً افزودن ورمی‌کمپوست به خاک نیز نه تنها فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را افزایش داده است بلکه با بهبود شرایط فیزیکی و فرآیندهای حیاتی خاک و پایداری و حالت بافری در محیط کشت، منجر به افزایش جمعیت میکروبی می‌گردد. افزایش فعالیت‌های آنزیمی و وجود ریزموجودات مفید و مواد هورمونی ضمن ایجاد یک محیط مناسب برای رشد ریشه، موجب افزایش رشد اندام هوایی گردیده و سبب افزایش کارایی ورمی‌کمپوست می‌شود (Gohari *et al*., 2019). تأثیر مثبت استفاده از ورمی‌کمپوست و کمپوست بر صفات رویشی و افزایش ارتفاع گیاهان به لیمو (Asghari *et al*., 2016)، زیره سبز (Yadollahi *et al*., 2013) و نعناع سبز (Kiani *et al*., 2015) گزارش شده است. به‌طوری که کاربرد این دو کود آلی بیشترین تأثیر را داشت و کاربرد دو کود اثر یکدیگر را تکمیل کردند. افزایش ارتفاع گیاه بادرنجبویه و به‌لیمو با کاربرد ورمی‌کمپوست توسط برخی پژوهشگران گزارش شده است (Hosseini Farahi & Norouzinejad, 2016; Layeghhaghighi and Abbaszadeh, 2022).

بر اساس نتایج این تحقیق به‌نظر می‌رسد، استفاده از میکروارگانیسم‌های موثر در شرایطی می‌تواند فعالیت تاثیرگذاری داشته باشد که شرایط در خاک برای فعالیت این میکروارگانیسم‌ها مهیا باشد. این میکروارگانیسم‌ها جهت ادامه زندگی به مواد آلی نیازمند هستند، که در این شرایط محیط کشت مناسب حاوی کود آلی قابلیت تأمین این مواد را برای میکروارگانیسم‌های مذکور دارد (Javaid & Bajwa, 2011). در شرایط حضور کود آلی، میکروارگانیسم‌ها با تغذیه از این مواد، سریعاً تکثیر و با افزایش جمعیت روند تجزیه مواد آلی موجود را تسریع می‌بخشند (Pei-Sheng & Hui-Lian, 2002). تسریع در تجزیه مواد آلی، منجر به افزایش سرعت آزادسازی مواد معدنی مورد نیاز گیاه به سیستم خاک-گیاه شده و در نهایت گیاه با جذب این مواد، رشد و نمو خود را بهبود بخشیده و عملکرد بهتری حاصل می‌گردد (Daly & Stewart, 1999).

وزن تر و خشک کل گیاه

اثر متقابل محیط کشت، شوری و ماده آلی بر وزن تر و خشک کل گیاه نشان داد که بیش‌ترین وزن تر و خشک کل گیاه در محیط کشت حاوی خاک و ورمی‌کمپوست در شوری ۳۶۵۶ میکروموس بر سانتی‌متر و استفاده از مواد آلی HA به‌ترتیب (۳۹۶/۷ و ۱۶۱/۷ گرم) و کم‌ترین آن در محیط کشت خاک و کمپوست در شوری ۷۳۱۲ میکروموس بر سانتی‌متر بدون استفاده از ماده آلی به‌ترتیب (۱۰۴/۷ و ۲۰ گرم) مشاهده شد. در شوری‌های ۳۶۵۶ و ۷۳۱۲ میکروموس بر سانتی‌متر در محیط کشت‌های خاک و ورمی‌کمپوست و همچنین خاک و کمپوست که در آن از EM یا HA (به‌ویژه HA) استفاده شده باشد می‌تواند اثرات منفی شوری را بر وزن تر کل و خشک گیاه کاهش معنی‌داری دهد؛ به‌طوری که در محیط کشت خاک و ورمی‌کمپوست با کاربرد HA وزن تر و خشک گیاه را در شوری متوسط (۳۶۵۶ میکروموس بر سانتی‌متر) را ۱۸۲/۸۶ و ۲۳۴/۷۸ درصد افزایش دهد (جدول ۴).

یکی از دلایل کاهش وزن تر و خشک گیاه در خاک می‌تواند بعلت غلظت بالاتر سدیم و کلرید در محلول خاک و جذب بیش‌تر آن باشد که نه تنها باعث

اختلال در جذب عناصر دیگر می‌شود بلکه منجر به تنش اسمزی و اختلال در تعادل یونی می‌شود که در نتیجه باعث کاهش شاخص‌های رشدی گیاه از قبیل وزن تر و خشک می‌شود (Bybordi, 2012). دلیل دیگر کاهش رشد گیاه تحت تنش شوری می‌تواند بعلت تخریب سیستم متابولیسمی، بی‌نظمی غشایی، افزایش لیگنین و ضخامت دیواره سلولی باشد که قابلیت ارتجاعی سلولی را کاهش داده و منجر به کاهش تقسیم سلولی و مهار رشد سلولی و در نهایت کاهش عملکرد گیاهی می‌شود (Reginato *et al*., 2016).

در این پژوهش با کاربرد ورمی‌کمپوست در محیط کشت گیاه بادرنجبویه، خسارت شوری کاهش و میزان وزن تر و خشک کل گیاه افزایش یافت؛ به‌طوری بیش‌ترین میزان آن در شوری ۳۶۵۶ میکروموس بر سانتی‌متر مشاهده شد. ورمی‌کمپوست، به دلیل داشتن برخی مواد شبه هورمونی، سبب افزایش آغازش ریشه، افزایش بیوماس ریشه و رشد گیاه می‌شود در همین راستا، براساس تحقیقات انجام شده در بعضی از گیاهان نظیر *Helianthus annuus* L. استفاده از ورمی کمپوست توانسته سبب افزایش رشد و تولید محصول شود (Ahmad & Jabeen, 2009). ورمی‌کمپوست از مواد شبیه پیت و ضایعات آلی تشکیل شده که خیلی زیاد ریز شده و دارای تخلخل خوب، ظرفیت زهکشی و نگهداری آب زیاد و فعالیت میکروبی قابل توجه است که از طریق تعامل بین کرمهای خاکی و میکروارگانیسم‌ها در یک فرآیند غیر گرماگیر ایجاد شده است. ثابت شده که تأثیر مفید کودهای آلی بر رشد محصولات زراعی مربوط به بیشتر شدن فعالیت زیستی در محیط ریشه، بهبود ساختمان خاک و افزایش قابلیت استفاده عناصر غذایی است (George & Pillai, 2000).

هیومیک‌اسید از طریق افزایش محتوای نیتروژن برگ‌ها و حفظ ماندگاری برگ‌ها سبب بهبود رشد، افزایش زیست توده تولیدی می‌شود. استفاده از هیومیک اسید با فراهم کردن افزایش جذب عناصر غذایی باعث رشد مطلوب اندام‌های هوایی می‌شود (Erkossa *et al*., 2002). هیومیک‌اسید با تولید بیش تر نوکلئیک‌اسیدها و آمینواسید ها، تکثیر سلولی را در کل گیاه و به‌ویژه در ریشه‌ها افزایش می‌دهند، ازسوی دیگر، هیومیک اسید با اصلاح دانه‌بندی خاک فضای بیش‌تری برای نفوذ آب ایجاد می‌کند. در پژوهش حاضر نیز تأثیرپذیری مثبت صفات مورفولوژیک از هیومیک‌اسید، بیان کننده مؤثر بودن این کود است.

درصد اسانس

مقایسه میانگین اثر انفرادی نوع محیط کشت بر درصد اسانس نشان داد که میزان اسانس در محیط کشت ترکیبی خاک و کمپوست و ورمی‌کمپوست به میزان ۴/۴۷ به‌طور معنی‌داری بیش‌ترین و در محیط کشت خاک و کمپوست به میزان ۳/۵۳ کم‌ترین مقدار بود. در مجموع افزودن توام ورمی‌کمپوست و کمپوست به خاک موثرتر از هر یک از این دو ماده به‌تنهایی به خاک بود؛ به‌طوری- که ۲۶/۶۳ درصد افزایش درصد اسانس نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۱). مقایسه میانگین اثر انفرادی شوری بر درصد اسانس نشان داد که با افزایش شوری، درصد اسانس ۹/۷۶ درصد کاهش یافت به‌طوری‌که میزان آن در شوری ۵۱۵ میکروموس بر سانتی‌متر ۴/۲ درصد و در شوری ۳۶۵۶ و ۷۳۱۲ به ترتیب ۳/۹۹ و ۳/۷۹ درصد بود (شکل ۲). اسانس‌ها متابولیت‌های ثانویه هستند که حاوی ترکیبات مختلفی هستند. گیاه بادرنجبویه سرشار از اسانس است که به‌طور گسترده‌ای در محصولات غذایی و بهداشتی، داروها و مواد آرایشی استفاده می‌شود (Mokhtarzadeh *et al*., 2017). ارزش تجاری گیاهان بادرنجبویه به عملکرد و ترکیب شیمیایی اسانس آن‌ها بستگی دارد (Bonacina *et al*., 2017). براساس نتایج بدست آمده در این تحقیق کاربرد همزمان کمپوست وورمی‌کمپوست درصد اسانس را افزایش معنی‌داری داد. در تفسیر نتیجه حاصل از بهبود میزان اسانس در اثر مصرف کودهای کمپوست و ورمی‌کمپوست، می‌توان اظهار داشت از آنجایی که اسانس‌ها ترکیب هایی ترپنوئیدی بوده که واحدهای سازنده آن‌ها (ایزوپرنوئیدها) مانند ایزوپنتیل پیروفسفات و دی

متیل آلیل پیروفسفات، نیاز مبرم به ATP و NADPH دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های اخیر ضروری می‌باشند (Darzi, 2007). افزایش مقادیر کمپوست و ورمی‌کمپوست از طریق فراهم‌نمودن جذب بیشتر فسفر و نیتروژن که در اجزای تشکیل دهنده اسانس حضور دارند موجب افزایش میزان اسانس پیکر رویشی شدند (Anwar *et al*., 2005).

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر بستر کشت، شوری و ماده آلی بر برخی صفات رویشی و فیزیولوژیکی بادرنجبویه.

Table 2. Results of variance analysis effect of medium culture, salinity and organic matter on some vegetative and physiological traits of lemon balm.

Sources of variations	d.f.	Mean of square									
		Plant height	Plant Fresh weight	Plant dry weight	Essential oil	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Catalase	Peroxidase	Prolin	Protein
Culture medium (A)	2	364.9**	1134.7**	157.5**	5.9784**	27.449**	9.420**	26.088**	20.681**	1795.4**	4.162**
Salinity (B)	2	778.5**	200.7**	76.2**	1.1471**	4.002**	1.171**	9.381**	3.856**	739.3**	2.072**
Organic matter (C)	2	185.6**	231.4**	55.8**	0.1280ns	0.549**	0.128**	1.310**	0.879**	94.0**	0.165**
A x B	4	124.6**	146.4**	23.5**	0.0001ns	0.024**	0.024**	0.238**	0.012**	27.8**	0.123**
A x C	4	23.2ns	186.4**	35.7**	0.0011 ns	0.024**	0.020**	0.043**	0.007ns	3.0**	0.029**
B x C	4	112.2**	65.1**	4.9ns	0.0021 ns	0.030**	0.021**	0.046**	0.074**	1.6*	0.063**
A x B x C	8	121.6**	35.1**	12.7**	0.0018 ns	0.022*	0.015**	0.060**	0.046**	7.6**	0.052**
Erorr	54	16.3	6.9	24.0	0.1538	0.009	0.004	0.003	0.004	0.6	0.002
C.V%		9.8	10.5	17.9	9.8	1.5	2.0	1.1	2.1	3.2	1.3

ns، *، ** به ترتیب نبود تفاوت معنی دار و تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱.

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

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت، شوری و ماده آلی بر برخی صفات رویشی بادرنجبویه.

Table 3. Mean comparison interaction effect of of medium culture, salinity and organic matter on some vegetative traits of lemon balm.

Salinity (µ mho/cm)	Organic matter	Culture medium	Plant height (cm)	Leaf number	Number of Lateral branches
515	Control	SC	44.8 b-e	448.7 jkl	13.0 i
		SV	30.5 hi	704.0 f-k	23.7 def
		SCV	58.3 a	1254.7 a	29.0 cd
	EM	SC	48.0 b	726.0 c-k	20.3 fgh
		SV	43.2 b-f	853.3 b-h	27.0 cde
		SCV	61.8 a	853.3 b-h	27.0 cde
	HA	SC	41.3 b-g	706.0 f-k	20.0 fgh
		SV	46.0 bc	920.7 a-g	30.3 bc
		SCV	45.0 bcd	1264.0 a	36.0 ab
3656	Control	SC	36.2 c-h	639.3 g-l	19.7 fgh
		SV	33.2 gh	536.0 h-l	24.0 def
		SCV	39.5 b-g	1090.0 a-d	36.0 ab
	EM	SC	43.7 b-f	604.0 g-l	19.0 fgh
		SV	41.0 b-g	994.7 a-f	38.0 a
		SCV	43.2 b-f	876.0 b-h	22.0 efg
	HA	SC	42.8 b-f	773.7 d-j	23.0 ef
		SV	40.3 b-g	1170.0 ab	40.3 a
		SCV	44.2 b-e	804.0 c-i	22.3 efg
7312	Control	SC	39.7 b-g	328.7 l	7.0 j
		SV	38.3 c-h	418.3 kl	16.0 hi
		SCV	36.8 d-h	1125.3 abc	32.0 bc
	EM	SC	38.8 c-h	776.0 d-j	23.7 def
		SV	40.7 b-g	477.3 i-l	19.7 fgh
		SCV	35.3 fgh	1060.7 a-e	17.0 ghi
	HA	SC	33.8 gh	558.0 h-l	17.0 ghi
		SV	22.0 i	460.7 i-l	21.7 e-h
		SCV	37.2 d-h	666.0 f-l	18.3 f-i

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

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

SC= Soil+ Compost; **SV**= Soil+ Vermicompost; **SCV**= Soil+Compost+ Vermicompost

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت، شوری و ماده آلی بر برخی صفات فیزیولوژیکی بادرنجبویه.

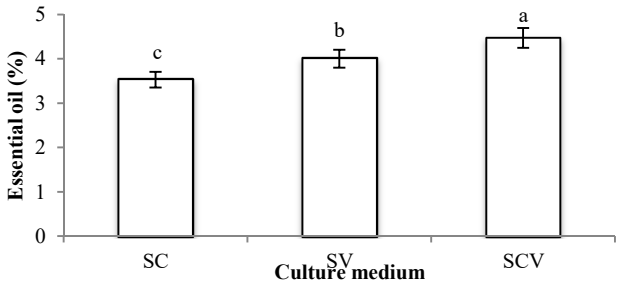
Table 4. Mean comparison interaction effect of of the of medium culture, salinity and organic matter on some physiological traits of lemon balm.

Salinity (µ mho/cm)	Organic matter	Culture medium	Shoot fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	Root fresh weight (g)	Root dry weight (g)	Plant fresh weight (g)	Plant dry weight (g)
515	Control	SC	53.7 ^{g}	16.3 ^{lm}	87.0 ^{jkl}	32.0 $^{g-j}$	140.7 ^{lm}	48.3 ^{lm}
		SV	65.3 ^{efg}	18.7 $^{j-m}$	83.0 ^{kl}	23.3 ^{ij}	148.3 ^{lm}	42.0 ^{lm}
		SCV	133.0 ^{abc}	34.0 ^{cde}	173.0 ^{cd}	59.3 $^{c-g}$	306.0 $^{b-f}$	93.3 $^{d-h}$
	EM	SC	79.0 $^{d-g}$	24.0 $^{g-k}$	117.0 ^{hi}	41.0 $^{f-i}$	196.0 $^{i-l}$	65.0 $^{h-l}$
		SV	104.3 $^{b-f}$	29.3 $^{e-h}$	153.0 ^{def}	56.0 $^{d-h}$	257.3 ^{fgh}	85.3 $^{f-k}$
		SCV	153.0 ^{ab}	41.3 ^{b}	184.0 ^{bc}	82.0 ^{bcd}	337.0 ^{bc}	123.3 ^{bcd}
	HA	SC	63.7 ^{efg}	19.3 $^{i-m}$	111.3 ^{bc}	40.0 $^{f-i}$	175.0 ^{jkl}	59.3 $^{i-l}$
		SV	120.3 ^{abc}	34.0 ^{cde}	184.0 ^{bc}	72.0 ^{cde}	304.3 $^{b-f}$	106.0 $^{c-g}$
		SCV	122.0 $^{a-d}$	36.3 $^{b-e}$	207.0 ^{b}	86.0 ^{bc}	329.0 ^{bcd}	122.3 $^{b-e}$
3656	Control	SC	61.7 ^{efg}	18.7 $^{j-m}$	82.0 ^{b}	27.3 ^{hij}	143.7 ^{lm}	46.0 ^{lm}
		SV	145.0 ^{abc}	35.0 $^{b-e}$	202.0 ^{b}	67.0 $^{c-f}$	347.0 ^{ab}	102.0 $^{d-g}$
		SCV	119.3 $^{a-d}$	37.0 ^{bcd}	240.0 ^{a}	108.0 ^{ab}	359.3 ^{ab}	145.0 ^{ab}
	EM	SC	77.0 $^{d-g}$	24.0 $^{g-k}$	120.0 ^{bc}	49.0 $^{e-i}$	197.0 $^{i-l}$	73.0 $^{g-l}$
		SV	135.0 ^{abc}	51.0 ^{a}	185.0 ^{bc}	85.0 ^{bcd}	320.0 $^{b-e}$	136.0 ^{abc}
		SCV	109.7 $^{b-e}$	34.0 ^{cde}	142.3 ^{efg}	58.7 $^{c-g}$	252.0 $^{f-i}$	92.7 $^{d-i}$
	HA	SC	78.7 $^{d-g}$	23.0 $^{h-l}$	141.0 ^{a}	60.0 $^{c-g}$	219.7 $^{h-k}$	83.0 $^{f-k}$
		SV	138.3 $^{a-d}$	39.3 ^{bc}	258.3 ^{a}	122.3 ^{a}	396.7 ^{a}	161.7 ^{a}
		SCV	110.7 $^{b-e}$	33.3 $^{c-f}$	167.0 ^{cde}	72.7 ^{cde}	277.7 $^{d-g}$	106.0 $^{c-g}$
7312	Control	SC	51.7 ^{g}	14.0 ^{m}	53.0 ^{lm}	6.0 ^{j}	104.7 ^{m}	20.0 ^{m}
		SV	98.3 $^{c-g}$	31.0 $^{d-g}$	71.0 ^{lm}	21.0 ^{ij}	169.3 ^{kl}	52.0 ^{klm}
		SCV	106.3 $^{b-f}$	34.0 ^{cde}	162.0 $^{c-f}$	66.3 $^{c-f}$	268.3 $^{e-h}$	100.3 $^{d-g}$
	EM	SC	77.0 $^{d-g}$	25.3 $^{g-j}$	150.0 ^{ijk}	64.0 $^{c-f}$	227.0 $^{g-j}$	89.3 $^{e-ij}$
		SV	167.3 ^{a}	24.3 $^{g-k}$	97.3 ^{ijk}	32.7 $^{g-j}$	264.7 $^{e-h}$	57.0 ^{jkl}
		SCV	79.0 $^{d-g}$	21.0 $^{i-m}$	106.0 ^{ijk}	40.0 $^{f-i}$	185.0 ^{jkl}	61.0 $^{h-l}$
	HA	SC	59.7 ^{fg}	18.0 ^{klm}	109.0 ^{a}	34.0 $^{g-j}$	168.7 ^{kl}	52.0 ^{klm}
		SV	116.0 ^{bcd}	26.3 $^{f-i}$	242.3 ^{a}	81.7 ^{bcd}	358.3 ^{ab}	108.0 $^{c-f}$
		SCV	97.7 $^{c-g}$	29.3 $^{e-h}$	187.0 ^{bc}	80.0 ^{bcd}	284.7 $^{c-f}$	109.3 $^{c-f}$

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

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

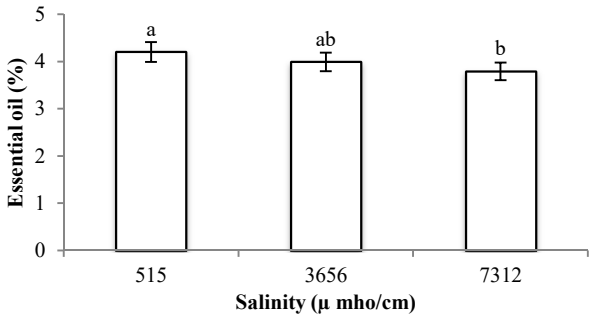
SC= Soil+ Compost; **SV**= Soil+ Vermicompost; **SCV**= Soil+Compost+ Vermicompost



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر محیط کشت بر اسانس بادرنجبویه.

Figure 1. Mean comparision effect of culture medium on essential oil of lemon balm.

SC= Soil+Compost (1:1), **SV**= Soil+Vermicompost (1:1), **SCV**= Soil+Compost+Vermicompost (1:1:1)



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر شوری بر اسانس بادرنجبویه.

Figure 2. Mean comparision effect of salinity on essential oil of lemon balm.

SC= Soil+Compost (1:1), SV= Soil+Vermicompost (1:1), SCV= Soil+Compost+Vermicompost (1:1:1)

براساس نتایج این تحقیق، درصد اسانس تحت تأثیر تنش شوری گرفت. کم‌ترین درصد اسانس از گیاهان تحت شوری ۷۳۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به‌دست آمد که نشان از تأثیر منفی شوری زیاد بر این شاخص است. کاهش میزان اسانس ممکن است به دلیل اختلال در فتوسنتنز (همبستگی بین متابولیت‌های اولیه و ثانویه) و تولید کربوهیدرات تحت شرایط تنش شوری باشدکه باعث جلوگیری از رشد گیاه می‌شود (Flexas & Medrano, 2002). محدود شدن عرضهٔ سیتوکنین از ریشه‌ها به شاخه‌ها و در نتیجه تغییر نسبت بین سیتوکنین و اسید آبسیزیک برگ و به هم خوردن نسبت هورمونی در گیاه عامل دیگر کاهش میزان اسانس در تنش شوری می‌تواند باشد (Barrett-Lennard, 2003).

محتوای کلروفیل a و b

اثر متقابل محیط کشت، شوری و ماده آلی بر میزان کلروفیل a و b نشان داد که بیش‌ترین کلروفیل a و b در محیط کشت حاوی خاک و کمپوست و ورمی‌کمپوست در شوری ۵۱۵ میکروموس بر سانتی‌متری و استفاده از EM و HA به‌ترتیب (۷/۹۱ و ۷/۷۰ میلی‌گرم بر گرم) و (۳/۹۷ و ۳/۸۴ میلی‌گرم بر گرم) کم‌ترین آن‌ها در محیط کشت خاک و کمپوست در شوری ۷۳۱۲ میکروموس بر سانتی‌متر و بدون افزودن ماده آلی (۴/۵۲ و ۲/۲۶ میلی‌گرم بر گرم) مشاهده شد. در مجموع استفاده از محیط کشت حاوی کمپوست و ورمی‌کمپوست در ترکیب با خاک که در آن از EM یا HA (به‌ویژه HA) استفاده شده باشد، می‌تواند اثرات منفی شوری را کاهش دهد؛ به‌طوری که میزان کلروفیل a و b در شوری متوسط نسبت به شاهد به‌ترتیب ۴۲/۱۱ و ۴۲/۴۷ درصد با کاربرد HA افزایش یافت (جدول ۵).

یکی از دلایل کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تنش شوری می‌تواند به‌علت افزایش غلظت تنظیم کننده‌های رشد مانند اسید آبسیزیک و اتیلن باشد که تحریک‌کننده آنزیم کلروفیلاز و پراکسیداز هستند بدین ترتیب موجب تجزیه کلروفیل‌های گیاه می‌شوند و گیاهان تحت شوری، رنگدانه‌های فتوسنتزی را برای جلوگیری از بیوسنتز یا تجزیشان کاهش می‌دهند (Khan *et al*., 2014). همچنین شوری از طریق تجمع یون‌های سمی در کلروپلاست و تنش اکسیداتیو در گیاه باعث تخریب کلروفیل‌ها می‌شود و دلیل دیگر کاهش کلروفیل‌ها می‌تواند به افزایش استفاده از نیتروژن برای سنتز پرولین باشد از آنجایی که گلوتامات ترکیب اولیه پرولین و کلروفیل است احتمال می‌رود در شرایط تحت تنش شوری از طریق تحریک آنزیم لیگازگلوتامات و تبدیل گلوتامات بیشتر به تولید پرولین اختصاص یابد و به‌همین دلیل مقدار کلروفیل کاهش می‌یابد (Rahdari *et al*., 2012) و کاهش غلظت کلروفیل از عوامل مهم تاثیرگذار بر کاهش ظرفیت فتوسنتزی گیاه به‌شمار می‌رود و با افزایش سطح شوری از کارایی فتوسنتزی برگ‌ها کاسته شده و این امر موجب تشدید صدمات تنش می‌شود (Sirousmehr *et al*., 2015). کود آلی ورمی‌کمپوست با افزایش میزان نیتروژن در گیاه، باعث افزایش میزان رنگیزه‌ها (کلروفیل) شده که به‌دنبال توانایی جذب نور خورشید، تولید مواد فتوسنتزی و در نهایت باعث بهبود رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Arancon *et al*., 2005) که با تحقیقات انجام شده بر روی گیاه بادرشبی (*Dracocephalun moldavica* L.) (Gohari *et al*., 2019)، در گیاه تاج خروس (Uma & Malathi, 2009) مطابقت داشت. نتایج تحقیق حاضر نیز افزایش کلروفیل تحت تیمارهای کودی را نشان می‌دهد. کاربرد ورمی‌کمپوست موجب افزایش رشد، تولید برگ بیشتر، افزایش میزان کلروفیل a و b و درنتیجه آن افزایش سطح فتوسنتز در گیاه می‌شود (Gohari *et al*., 2019).

هیومیک‌اسید با قدرت کلات‌کنندگی عناصر غذایی و با کاهش تبخیر، تعرق و در نتیجه، قرار دادن آب و مواد غذایی بیش‌تر و مناسب‌تر در اختیار گیاه می‌تواند ساخت رنگیزه ها را افزایش دهد و انتقال مواد فتوسنتزی را در b و a گیاه آسان‌تر کند (Sabouri *et al*., 2017) به همین علت، کلروفیل مقادیر بیش‌تری در تیمار با هیومیک اسید نشان دادند. کاربرد برگی هیومیک اسید می‌تواند فتوسنتز را تقویت کند و تحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده را افزایش دهد

(Sanjari *et al*., 2015). در پژوهشی کاربرد اسیدهیومیک باعث افزایش معنی‌داری بر میزان کلروفیل مرزه تحت شرایط تنش گردید و در نهایت با بهبود جذب عناصر غذایی و توسعه بخش‌های رویشی و زایشی سبب افزایش صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک گردید (Hosseinian *et al*., 2019).

میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز

اثر متقابل محیط کشت، شوری و ماده آلی بر میزان کاتالاز و پراکسیداز نشان داد که بیش‌ترین میزان کاتالاز و پراکسیداز در محیط کشت حاوی خاک و کمپوست و ورمی‌کمپوست در شرایط شوری ۷۳۱۲ میکروموس بر سانتی‌متر و بدون استفاده از مواد آلی به‌ترتیب (۶/۳۲ و ۴/۳۱ واحد بین‌المللی بر گرم) مشاهده شد. در مجموع استفاده از مواد آلی EM و HA نتوانست میزان کاتالاز و پراکسیداز را افزایش دهد (جدول ۵).

در بسیاری از مطالعات، تغییرات در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را به عنوان پاسخی به تنش‌های غیرزیستی نشان داده‌اند و حاکی از آن است که افزایش این فعالیت‌ها ارتباط مستقیمی با تحمل به تنش دارد (Choudhury *et al*., 2017). گیاهان یکسری مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی برای از بین بردن این رادیکال‌های آزاد یا غیر فعال کردن این رادیکال‌ها دارند. در سلول‌های گیاهی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD) و کاتالاز (CAT) فعالیت دارند که به‌عنوان یک سیستم دفاعی عمل می‌کنند و رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند و سلول را در برابر آسیب اکسیداتیو حفاظت می‌کنند (Sharifiasl *et al*., 2020). افزایش فعالیت کاتالاز مربوط به حفظ سطح پراکسیداسیون لیپید در شرایط تنش شوری است (Alscher *et al*., 1997).

در این مطالعه، فعالیت کاتالاز تا غلظت ۷۳۱۲ میکروموس بر سانتی‌متر شوری افزایش یافت. بنابراین، این آنزیم برای محافظت از سلول‌ها در برابر اکسیداسیون موثر بود. آنزیم کاتالاز عمل دیسموتاسیون هیدروژن پراکسید به اکسیژن و آب را کاتالیز می‌کند. افزایش فعالیت کاتالاز در گیاهان یک ویژگی سازشی بوده و با کاهش میزان هیدروژن پراکسید حاصل از متابولیسم سلولی از آسیب رسیدن به بافت جلوگیری می‌کند. آنزیم پراکسیداز نقش جاروب کردن هیدروژن پراکسید را به عهده دارد و می‌تواند نقش ویژه‌ای را در تنظیم میزان ROS در شرایط تنش داشته باشند (Gill & Tuteja, 2010). محققین نشان داده‌اند که غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش دو برابر شده و لذا باعث افزایش مقاومت به تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند. نتایج این تحقیق با تحقیقات انجام شده بر روی بادرنجبویه (Bonacina *et al*., 2017) و گل مغربی (Bohlouli *et al*., 2019) مطابقت دارد. آنان نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را در اثر تنش گزارش کرده‌اند.

میزان پرولین

اثر متقابل محیط کشت، شوری و ماده آلی بر میزان پرولین نشان داد که بیش‌ترین میزان پرولین در محیط کشت حاوی خاک و کمپوست در شرایط شوری ۷۳۱۲ میکروموس بر سانتی‌متر دسی‌زیمنس بر متر و بدون استفاده از مواد آلی (۴۱/۳۰ میکرومول بر گرم) و کم‌ترین آن در محیط کشت خاک و کمپوست و ورمی‌کمپوست در محیط بدون شوری و استفاده از ماده آلی EM (۱۰/۳۰ میکرومول بر گرم) مشاهده شد. در مجموع در هر سه محیط کشت استفاده از ماده آلی میزان پرولین را کاهش داد (جدول ۵).

با افزایش سطح شوری مقدار تنظیم کننده‌های اسمزی از قبیل پرولین افزایش می‌یابد، زیرا کلرید سدیم موجب تحریک ژن‌های سنتز کننده آنزیم گلوتامین کیناز (اولین آنزیم مسیر بیوسنتز پرولین به صورت خود به خودی) پرولین می‌شوند. شدت ساخت آن به سرعت و میزان توسعه تنش، نوع و سن اندام و تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌ای بستگی دارد و ساخت پرولین، گیاه را به تنش‌های محیطی متحمل و میزان بیش ازحد تجمع پرولین در تنش شوری می‌تواند نشان از تجزیه گسترده پروتئین‌ها و کاهش استفاده از آنها در ساخت پروتئین‌ها باشد که می‌تواند منجر به کاهش رشد گیاه شود (Gohari *et al*., 2019). با افزایش شوری میزان پرولین در گیاه افزایش بادرشبی (Gohari *et al*., 2019) و گیاه دارویی خرفه

(Rahdari *et al.*, 2012) گزارش شده است. برخی پژوهشگران بیان داشتند که در اغلب گیاهان تجمع پرولین تحت شرایط تنش شوری منجر به افزایش تحمل گیاهان به تنش شده و افزایش مقدار پرولین در این شرایط به عنوان یکی از فاکتورهای تحمل به تنش در نظر گرفته می‌شود (Hakim *et al*., 2014).

پروتئین

اثر متقابل محیط کشت، شوری و ماده آلی بر میزان پروتئین نشان داد که بیش‌ترین میزان پروتئین در محیط کشت حاوی خاک و کمپوست و ورمی‌کمپوست در شرایط بدون شوری و استفاده از ماده آلی EM (۴/۴۱٪) و کم‌ترین آن در محیط کشت خاک و کمپوست در محیط شوری ۷۳۱۲ میکروموس بر سانتی‌متر و بدون استفاده از مواد آلی (۲/۸۰٪) مشاهده شد. در مجموع استفاده از محیط کشت حاوی کمپوست و ورمی‌کمپوست در ترکیب با خاک که در آن از EM یا HA استفاده شده باشد می‌تواند اثرات منفی شوری بر پروتئین را کاهش دهد (جدول ۵). سمیت ناشی از یون‌ها تحت تنش شوری در سلول‌ها نشان‌دهنده جایگزینی یون‌های سدیم به‌جای پتاسیم است که باعث تغییرات بیوشیمیایی در واکنش‌های سلولی، اختلال در عملکرد پروتئین‌های و تعاملات بین اسیدآمینه‌ای می‌گردد (Said-Al Ahl & Mahmoud, 2010). افزایش پروتئین نیز در تیمار با ورمی‌کمپوست شاید بدلیل تامین مقدار قابل توجهی از عناصر پیش نیاز برای تولید پروتئین از کود ورمی‌کمپوست باشد (Mason *et al*., 2010).

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت، شوری و ماده آلی بر میزان کلروفیل، پروئتین، پرولین و برخی آنزیم های آنتی اکسیدانتی بادرنجبویه.

Table 5. Mean comparison interaction effect of medium culture, salinity and organic matter on chlorophyll, proline, protein content and some antioxidant enzymes activity in lemon balm.

Salinity (µ mho/cm)	Organic matter	Culture medium	Chlorophyll a (mgr/gr)	Chlorophyll b (mgr/gr)	Catalase (IU/gr)	Peroxidase (IU/gr)	Prolin (umol/g)	Protein (%)
515	Control	SC	5.20 mn	2.59 kl	3.17 p	1.74 p	27.20 g	3.28 l
		SV	6.11 h	3.06 fg	3.85 m	2.69 ij	19.60 kl	3.72 fg
		SCV	7.42 c	3.70 b	5.36 d	3.55 e	14.70 op	4.17 c
	EM	SC	5.33 lm	2.67 jk	3.01 q	1.52 q	25.10 h	3.39 jk
		SV	6.45 g	3.22 e	3.40 o	2.22 m	17.70 mn	3.98 d
		SCV	7.91 a	3.97 a	5.15 ef	3.30 f	10.30 r	4.41 a
	HA	SC	5.50 kl	2.75 ij	2.76 r	1.60 q	22.40 ij	3.50 ij
		SV	6.30 gh	3.15 ef	3.62 n	2.50 kl	15.17 op	3.84 e
		SCV	7.70 b	3.84 a	4.94 gh	3.11 g	12.80 q	4.28 b
3656	Control	SC	4.79 pq	2.39 nop	3.86 m	2.05 n	36.70 c	3.15 m
		SV	5.73 ij	2.86 hi	4.58 ij	2.96 h	23.50 hi	3.53 i
		SCV	7.12 de	3.55 cd	5.91 b	3.90 c	17.80 m	4.00 d
	EM	SC	4.97 op	2.48 lmn	3.56 n	1.91 o	33.90 d	3.37 kl
		SV	5.90 i	2.95 gh	4.41 k	2.80 i	19.20 lm	3.64 gh
		SCV	7.30 cd	3.64 bc	5.26 de	3.50 e	14.40 pq	4.14 c
	HA	SC	5.10 no	2.55 klm	3.30 o	1.73 p	31.50 e	3.27 l
		SV	6.11 h	3.06 fg	4.14 l	2.55 k	21.80 j	3.77 ef
		SCV	7.39 c	3.69 b	5.60 c	3.71 d	16.10 no	4.30 b
7312	Control	SC	4.52 r	2.26 p	4.64 i	2.58 jk	41.30 a	2.80 o
		SV	5.24 mn	2.61 kl	5.05 fg	3.47 e	29.10 f	3.34 kl
		SCV	6.84 f	3.42 d	6.32 a	4.31 a	22.40 ij	3.76 ef
	EM	SC	4.63 qr	2.31 op	4.47 jk	2.38 l	36.30 c	2.93 n
		SV	5.40 klm	2.43 mno	4.90 h	3.28 f	27.00 g	3.42 jk
		SCV	7.12 de	3.55 cd	6.01 b	4.10 b	21.00 jk	3.29 l
	HA	SC	4.71 qr	2.34 op	4.12 l	2.04 n	38.50 b	3.12 m
		SV	5.57 jk	2.79 ij	4.66 i	3.03 gh	24.40 h	3.56 hi
		SCV	6.96 ef	3.49 d	5.70 c	3.82 cd	19.10 lm	3.51 ij

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

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

SC= Soil+ Compost; **SV**= Soil+ Vermicompost; **SCV**= Soil+Compost+ Vermicompost.

نتیجه‌گیری نهایی

براساس نتایج این تحقیق، به‌طور کلی افزودن توام ورمی‌کمپوست و کمپوست به خاک موثرتر از هر یک از این دو ماده به تنهایی به خاک بر روی صفات رشدی و فیزیولوژیکی بود. استفاده از ماده آلی از هر نوع (EM یا HA) منجر به افزایش معنی‌دار تمام صفات رویشی و فیزیولوژیکی نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از ماده آلی) در شرایط شوری شد؛ اگرچه بیش‌ترین میزان صفات با کاربرد ماده آلی اسید هیومیک مشاهده شد. به‌طوری که در شوری بالا (۷۳۱۲ میکروموس بر سانتی‌متر) کاربرد محیط کشت‌های خاک و کمپوست و ورمی‌کمپوست که در آن از EM یا HA (به‌ویژه HA) استفاده شده باشد توانست اثرات منفی شوری را بر وزن تر کل و خشک ریشه و کل گیاه و کلروفیل را کاهش معنی‌دار و رشد رویشی را افزایش دهد. براساس نتایج این تحقیق می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که گیاه بادرنجبویه با فعالیت بالاتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ازجمله کاتالاز و پراکسیداز در شرایط شوری، دارای ظرفیت بالاتری جهت حذف گونه‌های فعال اکسیژن تولیدی و ثبات عملکرد بهتری می‌باشد. همچنین با توجه به اینکه افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها بیان‌کننده افزایش حذف گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد، لذا اغلب از این ویژگی به عنوان یک شاخص قابل اعتماد جهت بیان افزایش تحمل شوری استفاده می شود. در این پژوهش با افزایش شوری، میزان پرولین و آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نیز افزایش معنی‌داری یافتند. همچنین بررسی نتایج صفات رویشی نیز نشان داد که میزان وزن خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و کل گیاه در شوری ۳۶۵۶ دسی‌زیمنس بر افزایش معنی‌داری یافت. به‌طور کلی براساس نتایج این تحقیق، گیاه بادرنجبویه مقاوم به شوری بوده و کاربرد ماده آلی و میکروارگانیزم های موثر می تواند در شرایط تنش شوری باعث بهبود تحمل و افزایش خصوصیات رشدی و درصد اسانس این گیاه دارویی تا ۲۶/۶۳ درصد گردد. در نهایت استفاده از مواد آلی می‌تواند در شوری‌های بالا باعث بهبود صفات رویشی و عملکردی گیاه بادرنجبویه گردد.

REFERENCES

1. Abdipour, M., Hosseinifarahi, M., & Najafian, S. (2019). Effects of humic acid and cow manure biochar (CMB) in culture medium on growth and mineral concentrations of basil plant. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *6*(1), 27-38.
2. Adamipour, N., Heydarianpour, M. B., & Zarei, M. (2016). Evaluation of the application of vermicompost to reduce the destructive effects of salinity stress on the green carpet of the tall lawn *Festuca arundinacea* (Schreb.‘ Queen ’). *Science and Technology of Greenhouse Crops*, *7*(25), 35-46. (In Farsi).
3. Akhzari, D., & Pessarakli, M. (2016). Effect of drought stress on total protein, essential oil content, and physiological traits of *Levisticum officinale* Koch. *Journal of Plant Nutrition*, *39*(10), 1365-1371.
4. Alscher, R. G., Donahue, J. L., & Cramer, C. L. (1997). Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells. *Physiologia Plantarum*, *100*(2), 224-233.
5. Anwar, M., Patra, D. D., Chand, S., Alpesh, K., Naqvi, A. A., & 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.
6. Arancon, N. Q., Edwards, C. A., Bierman, P., Metzger, J. D., & Lucht, C. (2005). Effects of vermicomposts produced from cattle manure, food waste and paper waste on the growth and yield of peppers in the field. *Pedobiologia*, *49*(4), 297–306.
7. Asghari, A., Yousefirad, M., & Masumi, A. (2016). Effects of organic fertilizers of compost and vermicompost on qualitative and quantitative triats of Lemon verbena. *Journal of Medicinal Plants*, *15*(58), 63-71.
8. Atiyeh, R. M., Lee, S., Edwards, C. A., Arancon, N. Q., & Metzger, J. D. (2002). The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. *Bioresource Technology*, *84*(1), 7-14.
9. Banerjee, A., & Roychoudhury, A. (2017). Effect of salinity stress on growth and physiology of medicinal plants. In *Medicinal Plants and Environmental Challenges* (pp. 177-188). Springer.
10. Barrett-Lennard, E. G. (2003). The interaction between waterlogging and salinity in higher plants: causes, consequences and implications. *Plant and Soil*, *253*(1), 35-54.

11. Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
12. BeykKhormizi, A., Hosseini Sarghein, S., Sarafraz Ardakani, M. R., Moshtaghioun, S. M., & Mousavi Kouhi, S. M. (2019). Interaction of saline water and vermicompost on growth and absorption of some mineral nutrients in four landraces of fennel, *Foeniculum vulgare*. *Journal of Water Research in Agriculture*, *33.1*(1), 39-529. (In Farsi).
13. Bohlouli, M., Dehestani-Ardakani, M., Shirmardi, M., & Razmjoo, J. (2019). Effect of organic and biological fertilizers on some growth characteristics of evening primrose (*Oenothera biennis* L.) under salinity conditions. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, *12*(1), 263-280. (In Farsi).
14. Bonacina, C., Trevizan, C. B., Stracieri, J., dos Santos, T. B., Goncalves, J. E., Gazim, Z. C., & de Souza, S. G. H. (2017). Changes in growth, oxidative metabolism and essential oil composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) subjected to salt stress. *Australian Journal of Crop Science*, *11*(12), 1665-1674.
15. Bromand Sivieri, M., Heidary, M., Gholami, A., & Ghorbani, H. (2021). Effects of foliar application of nano iron oxide and biofertilizers on the activity of antioxidant enzymes and some physiological characteristics of the root and aerial parts in black cumin (*Nigella sativa* L.). *Iranian Journal of Horticultural Science*, *51*(4), 939-953. (In Farsi).
16. Canellas, L. P., Olivares, F. L., Okorokova-Façanha, A. L., & Façanha, A. R. (2002). Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H^{+-}ATPase activity in maize roots. *Plant Physiology (Bethesda)*, *130*(4), 1951-1957.
17. Choudhury, F. K., Rivero, R. M., Blumwald, E., & Mittler, R. (2017). Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *The Plant Journal*, *90*(5), 856-867.
18. Daly, M. J., & Stewart, D. P. C. (1999). Influence of "effective microorganisms"(EM) on vegetable production and carbon mineralization–a preliminary investigation. *Journal of Sustainable Agriculture*, *14*(2-3), 15-25.
19. Darzi, M. T. (2007). Effect of biofertilizers application on qualitative and quantitative yield of fennel *(Foeniculum vulgare* Mill.*)* in order to reach to a sustainable agroecosystem. Tarbiat Modares University, Tehran.
20. Dashti, M., Kafi, M., Astaraei, A., & Zabihi, H. R. (2018). Investigation of yield and yield components response of Salvia leriifolia Benth to the bio-logical and organic Fertilizers. *Zeitschrift Für Arznei-& Gewürzpflanzen*, *23*(2), 84-90.
21. De Menezes, C. P., Queiroga, F., Guerra, S., Pinheiro, L. S., Trajano, V. N., & Pereira, F. D. O. (2015). Investigation of *Melissa officinalis* L. essential oil for antifungal activity against *Cladosporium carrionii*. *International Journal of Tropical Disease & Health*, *8*(2), 49-56.
22. Farahbakhsh, J., Najafian, S., Hosseinifarahi, M., & Gholipour, S. (2020). The effect of time and temperature on shelf life of essential oil composition of Teucrium polium L. *Natural Product Research*, *0*(0), 1-5.
23. Flexas, J., & Medrano, H. (2002). Drought-inhibition of photosynthesis in C_3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany*, *89*(2), 183-189.
24. Garcia-Mina, J. M., Mora, V., Olaetxea, M., Baigorri, R., Fuentes, M., Garnica, M., San Francisco, S., Erro, J., Urrutia, O., & Casanova, E. (2012). Main mechanisms involved in the effects of humic substances on soil-plant systems. *Agrociencia Uruguay*, *16*(3), 188-190.
25. Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 909-930.
26. Gohari, G., Mohammadi, A., & Duathi Kazemnia, H. (2019). Effect of vermicompost on some growth and biochemical characteristic of *Dracocephalum moldavica* L. under water salinity stress. *Journal of Agricultural Science And Sustainable Production*, *29*(1), 151-168 (In Farsi).
27. Gorgini Shabankareh, H., Sabouri, F., Saedi, F., & Fakheri, B. A. (2017). Effects of different levels of humic acid on growth indices and essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under different irrigation regimes. *Crop Science Research in Arid Regions*, *1*(2), 166-176.
28. Haghshenas, M., Nazarideljou, M. J., & Shokoohian, A. (2020). Phytochemical and quality attributes of strawberry fruit under osmotic stress of nutrient solution and foliar application of putrescine and salicylic acid. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *7*(3), 263-278.
29. Hakim, M. A., Juraimi, A. S., Hanafi, M. M., Ismail, M. R., Selamat, A., Rafii, M. Y., & Latif, M. A. (2014). Biochemical and anatomical changes and yield reduction in rice (*Oryza sativa* L.) under varied salinity regimes. *BioMed Research International*, 1-11.
30. Hargreaves, J., Adl, M. S., Warman, P. R., & Rupasinghe, H. P. V. (2008). The effects of organic amendments on mineral element uptake and fruit quality of raspberries. *Plant and Soil*, *308*(1), 213-226.

31. He, J., Yang, B., Dong, M., & Wang, Y. (2018). Crossing the roof of the world: Trade in medicinal plants from Nepal to China. *Journal of Ethnopharmacology*, *224*, 100-110.
32. Hosseini Farahi, M., & Norouzinejad, M. (2016). Effect of vermicompost and Phosphate Barvar-2® biofertilizers on some quantitative charactrestics and elements absorption in green basil (*Ocimum basilicm* L.) in Gachsaran region. *Journal of Plant Ecophysiology*, *8*(24), 160-172. (In Farsi).
33. Hosseini, H., Mousavi Fard, S., Fatehi, F., & Qader, A. (2017). Phytochemical changes and morphophysiological traits of thyme (*Thymus vulgaris* L. CV Varico 3) under salinity stress. *Journal of Medicinal Plants*, *16*(10), 22-33.
34. Hosseinian, S. H., Ebrahimi-Pak, N. A., Yousefi, A., & Agdernejad, A. (2019). Effect of water stress and foliar application of humic acid on morphophysiological characteristics of safflower. *Journal of Soil and Water Conservation Research*, *26*(1), 219-232. (In Farsi).
35. Iriti, M., Scarafoni, A., Pierce, S., Castorina, G., & Vitalini, S. (2019). Soil application of effective microorganisms (EM) maintains leaf photosynthetic efficiency, increases seed yield and quality traits of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants grown on different substrates. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(9), 2-9.
36. Javaid, A., & Bajwa, R. (2011). Effect of effective microorganism application on crop growth, yield, and nutrition in *Vigna radiata* (L.) Wilczek in different soil amendment systems. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *42*(17), 2112-2121.
37. Khadem al-Husseini, Z., Jafarian, Z., Roshan, W., & Ranjbar, G. (2018). The effect of water salinity on the quantity and quality of biochemical compounds of Lemongrass (*Melissa officinallis* L.). *Iranian Science Research*, *12*(3), 370-379. (In Farsi).
38. Khalid, K. A., & Cai, W. (2011). The effects of mannitol and salinity stresses on growth and biochemical accumulations in lemon balm. *Acta Ecologica Sinica*, *31*(2), 112-120.
39. Khan, B. M., Hossain, M. K., & Mridha, M. A. U. (2014). Improving *Acacia auriculiformis* seedlings using microbial inoculant (Beneficial Microorganisms). *Journal of Forestry Research*, *25*(2), 359-364.
40. Kiani, Z., Esmaeilpour, B., Hadian, J., Soltani Toolarood, A. A., & Fatholoumi, S. (2015). effect of organic fertilizers on growth properties nuterien absorption and essential oil yield ofmedicinal plant of *Mentha spicata* L). *Journal of Plant Production Research*, *21*(4), 63-80 (In Farsi).
41. Layeghhaghighi, M., & Abbaszadeh, B. (2022). Evaluation quantitative, qualitative traits and elements adsorption of lemon verbena (*Lippia citriodora* L.) under biochar, vermicompost and plant growth promoting rhizobacteria. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 53(3), 667-679 (In Farsi).
42. Liu, C., & Cooper, R. J. (2000). Humic substances influence creeping bentgrass growth. *Carbon*, *54*(59), 41-51.
43. Mahlouji, M., Mousavizadeh, S. F., & Karimi, H. (2001). Effect of drought stress and sowing date on pino bean grain yield and yield components. *Journal of Agricultural and Natural Resources*, *4*(1), 57-67.
44. Mason, M. G., Jha, D., Salt, D. E., Tester, M., Hill, K., Kieber, J. J., & Eric Schaller, G. (2010). Type-B response regulators ARR1 and ARR12 regulate expression of AtHKT1; 1 and accumulation of sodium in Arabidopsis shoots. *The Plant Journal*, *64*(5), 753-763.
45. Mokhtarzadeh, S., Demirci, B., Goger, G., Khawar, K. M., & Kirimer, N. (2017). Characterization of volatile components in *Melissa officinalis* L. under in vitro conditions. *Journal of Essential Oil Research*, *29*(4), 299-303.
46. Moladoost, K., & Shahmoradi, M. (2020). Identification of challenges facing development of the medicinal plants sector in Iran. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *36*(5), 748-762.
47. Mona, Y., Kandil, A. M., & Swaefy Hend, M. F. (2008). Effect of three different compost levels on fennel and salvia growth character and their essential oils. *Biological Sciences*, *4*, 34-39.
48. Nadeem, S. M., Ahmad, M., Zahir, Z. A., Javaid, A., & Ashraf, M. (2014). The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advances*, *32*(2), 429-448.
49. Narimani, R., Moghadam, M., Nemati, S., & Ghasemi Pir Balouti, A. (2019). Evaluation of salinity stress modulation using humic acid and ascorbic acid in the medicinal plant *Dracocephalum moldavica* L. *Journal of Plant Research*, *31*(2), 971-955.
50. Ndona, R. K., Friedel, J. K., Spornberger, A., Rinnofner, T., & Jezik, K. (2011). Effective micro-organisms'(EM): An effective plant strengthening agent for tomatoes in protected cultivation. *Biological Agriculture & Horticulture*, *27*(2), 189-203.
51. Pei-Sheng, Y., & Hui-Lian, X. (2002). Influence of EM Bokashi on nodulation, physiological characters and yield of peanut in nature farming fields. *Journal of Sustainable Agriculture*, *19*(4), 105-112.

52. Pouresmaeil, M., Ghorbani, M. ahlagha, & Khavarinzhad, R. (2005). Effect of salinity on germination, fresh and dry mass, ion content, proline, soluble sugar and starch content in *Suaeda fruticosa*. *Wilderness*, *10*(2), 1-10.
53. Pramanik, P., Ghosh, G. K., Ghosal, P. K., & Banik, P. (2007). Changes in organic–C, N, P and K and enzyme activities in vermicompost of biodegradable organic wastes under liming and microbial inoculants. *Bioresource Technology*, *98*(13), 2485-2494.
54. Rahdari, P., Tavakoli, S., & Hosseini, S. M. (2012). Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, *8*(1), 182-193.
55. Ravi Kiran, T., & Aruna, H. K. (2010). Antioxidant enzyme activities and markers of oxidative stress in the life cycle of earthworm, Eudrilus eugeniae. *Italian Journal of Zoology*, *77*(2), 144-148.
56. Razzaghi, F., Ahmadi, S. H., Adolf, V. I., Jensen, C. R., Jacobsen, S., & Andersen, M. N. (2011). Water relations and transpiration of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under salinity and soil drying. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *197*(5), 348-360.
57. Rostami, G., & Moghadam, M. (2019). Effects of azomite on growth and some physiological and biochemical characteristics of basil under salt stress conditions. *Journal of Plant Process and Function*, *8*(29), 299-311 (In Farsi).
58. Sabouri, F., Sirusmehr, A. R., & Gorginieh Shabankareh, H. (2017). Effect of irrigation regimes and humic acid foliar application on some morphological and physiological characteristics of sunflower (*Helianthus annuus*). *Iranian Plant Biology*, *9*(4), 13-24 (In Farsi).
59. Said-Al Ahl, H. A. H., & Mahmoud, A. A. (2010). Effect of zinc and/or iron foliar application on growth and essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under salt stress. *Ozean Journal of Applied Sciences*, *3*(1), 97-111.
60. Sanjari, M., Sirusmehr, A. R., & Fakheri, B. (2015). Effect of drought stress and humic acid on morphological traits, yield and anthocyanin content of sour tea (*Hibiscus sabdarifa* L.). *Journal of Agricultural Ecology*, *8*(3), 346-358. (In Farsi).
61. Setayeshmehr, Z., & Esmaeilzadeh, S. (2013). Effect of salt stress on some phonological and biochemical characteristics in *Coriandrum sativum* L. *Journal of Plant Production*, *20*(3), 111–126.
62. Sharif, M., Khattak, R. A., & Sarir, M. S. (2002). Effect of different levels of lignitic coal derived humic acid on growth of maize plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *33*(19–20), 3567–3580.
63. Sharifiasl, R., Kafi, M., Saidi, M., & Kalateh J. (2020). The effect of humic acid on growth and some physiological responses in bermuda grass subjected to salinity stress. *Iranian Journal of Horticultural Science,* 51(2), 415-425 (In Farsi).
64. Sirousmehr, A., Bardel, J., & Mohammadi, S. (2015). Changes of germination properties, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes activity of safflower as affected by drought and salinity stresses. *Journal of Crop Ecophysiology*, *8*(4), 517-533.
65. Uma, B., & Malathi, M. (2009). Vermicompost as a soil supplement to improve growth and yield of Amaranthus species. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, *5*(6), 1054-1060.
66. Uyanik, M., & Gurbuz, B. (2014). Chemical diversity in essential oil compositions of leaf, herb and flower in lemon Balm (*Melissa officinalis* L.). *Turkish Journal of Agricultural and Natural Science*, *1*(2), 210-214.
67. Yadollahi, P., Bijani, M., Heidari, M., & Asgharipoor, M. . (2013). Effect of organic and biological fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of cumin cyminum l. in Sistan region. *Journal of Applied Research of Plant Ecophysiology*, *1*(4), 79-90.