



دانشگاه گیلان

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و ششم، شماره سوم، ۱۳۹۸

۱۳۶-۱۲۱

<http://jopp.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jopp.2019.15236.2367

اثر زمان برداشت، نیتروژن و تراکم کاشت بر عملکرد و برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی پونه معطر (*Mentha pulegium* L.)

باباله فرجی^۱، *امیر صحرارو^۲، جمالعلی الفتی^۳ و یوسف حمیداوغلی^۳

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان،

^۲ استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان،

^۳ دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۳/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۴/۳۱

چکیده

سابقه و هدف: پونه معطر از جمله گیاهان خانواده نعنائیان است که هم به صورت سبزی و هم به عنوان گیاه دارویی مصارف متعددی دارد. این گیاه به حالت وحشی در دشت‌های مرطوب و حاشیه جریان‌های آب، حتی داخل آب رشد کرده و غالباً در نواحی مرکزی، جنوبی و غربی آسیا، شمال آفریقا، اتیوپی و جزایر قناری می‌روید. پراکنش این گیاه در ایران در دامنه‌های البرز، شمال و شمال‌شرقی کشور گزارش شده است. بخش‌های هوایی این گیاه به عنوان مواد دارویی و طعم‌دهنده در صنایع غذایی استفاده می‌شود. هدف از این پژوهش حاضر دستیابی به بهترین تیمار کود نیتروژنه، زمان برداشت و تراکم کشت برای گیاه پونه در منطقه رشت بود.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. کرت اصلی زمان برداشت (در دو زمان برداشت)، کرت فرعی شامل نیتروژن در چهار سطح (شاهد (بدون کود)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار) و کرت فرعی شامل تراکم بوته در سه سطح (۱۰، ۱۴ و ۱۸ بوته در مترمربع) بودند که بر روی صفات عملکردی و برخی صفات فیزیولوژیکی بررسی شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اثرات متقابل نیتروژن، تراکم کاشت و زمان برداشت بر عملکرد خشک اندام هوایی معنی‌داری بود. بیش‌ترین وزن خشک (۱۹۰۹ کیلوگرم در هکتار) در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار به همراه تراکم ۱۸ بوته در مترمربع در برداشت اول حاصل شد و کم‌ترین مقدار (۳۹۶/۶۶ کیلوگرم در هکتار) هم در تیمار کودی ۵۰ کیلوگرم با تراکم ۱۰ بوته در مترمربع در دومین برداشت به دست آمد. اما در مورد عملکرد تر و سطح برگ نیز اثر متقابل نیتروژن در تراکم کاشت معنی‌دار بود و بیش‌ترین مقدار عملکرد تر (۸۰۷۱ کیلوگرم در هکتار) مربوط به تیمار ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن با تراکم ۱۸ بوته در مترمربع بود. در خصوص صفات فیزیولوژیکی نتایج نشان داد که تیمارهای اعمال شده دارای اثرات معنی‌داری بر میزان درصد اسانس، کلروفیل کل، فنل کل و عناصر نیتروژن و کلسیم داشتند. در این زمینه، بیش‌ترین درصد اسانس (۲/۶۶ درصد) مربوط به تیمار نیتروژن ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار با تراکم کاشت ۱۰ بوته در مترمربع بود. همچنین عملکرد اسانس تحت تأثیر اثر متقابل زمان

* مسئول مکاتبه: asahraroo@guilan.ac.ir

برداشت در تراکم کاشت قرار داشت که بیش‌ترین مقدار هم مربوط به تیمار تراکم ۱۸ بوته در مترمربع در زمان برداشت اول با مقدار ۲۵۶۶۵/۰۷۵ میلی‌لیتر در هکتار بود.

نتیجه‌گیری: از آن‌جا که در این پژوهش بهترین تیمار زمان برداشت اول و نیتروژن ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار و تراکم ۱۸ بوته در مترمربع بود کاربرد چنین برنامه‌ای برای کاشت گیاه پونه معطر قابل پیشنهاد است.

واژه‌های کلیدی: اسانس، بیوماس، فنل کل

مقدمه

پونه معطر (*Mentha pulegium* L.) گیاهی علفی و پایا متعلق به تیره نعنائیان است. این گیاه دارای ساقه‌ای با ظاهر تقریباً استوانه‌ای به ارتفاع ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متر و ریزوم و بن‌رونده است. همچنین برگ‌های آن بیضوی به درازی ۴ تا ۷ سانتی‌متر و عرض ۲ تا ۳ سانتی‌متر می‌باشد که معمولاً دارای دم‌برگ کوتاه یا فاقد آن هستند. پهنک در قاعده قلبی شکل و برگ‌ها به‌صورت متقابل روی ساقه قرار گرفته‌اند. گل‌ها نر و ماده و به‌صورت دسته‌ای فراهم به رنگ مایل به بنفش در کنار برگ‌ها دیده می‌شوند و ظاهری سنبله مانند را ایجاد می‌کنند. کاسه گل، استکانی و میوه از نوع چهار فندقه است. این گیاه به حالت وحشی در دشت‌های مرطوب و حاشیه جریان‌های آب، حتی داخل آب رشد کرده و غالباً در نواحی مرکزی، جنوبی و غربی آسیا، شمال آفریقا، حبشه و جزایر قناری می‌روید. پراکنش این گیاه در ایران در دامنه‌های البرز، شمال و شمال‌شرقی کشور گزارش شده است (۸ و ۱۸).

همانند بسیاری از گیاهان خانواده نعنائیان، گیاه پونه دارای خواص درمانی متعددی می‌باشد که شامل خاصیت ضد عفونی‌کننده، ضد نفخ، ضد درد، ضد چسبندگی پلاکت‌ها می‌باشد. مهم‌ترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس پونه مونوترپن‌ها هستند و این

ترکیب به‌طور عمده از پولگون^۱، منتون^۲ و نئومننون^۳ تشکیل شده است (۱، ۸ و ۲۹).

میزان متابولیت‌های ثانویه و ترکیبات زیست‌فعال گیاهان دارویی اگرچه تحت کنترل عوامل و فرآیندهای ژنتیکی قرار دارند اما در عین‌حال تولید این مواد تحت‌تأثیر عوامل محیطی نیز قرار می‌گیرند به‌طوری‌که با بهینه‌سازی عوامل محیطی می‌توان کمیت و کیفیت را به‌طور چشم‌گیری کنترل نمود (۲۹). از عوامل مهم دیگر دخیل در میزان رشد و نمو، عملکرد و همچنین اجزا ترکیبات مؤثره گیاهان دارویی می‌توان به زمان برداشت اشاره کرد که در بسیاری از موارد برای هر یک از گیاهان دارویی در مناطق مختلف کشت و کار، زمان برداشت منحصر به فردی تعیین شده است (۴۰).

یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی دخیل در رشد گیاهان، میزان در دسترس بودن عناصر غذایی مورد نیاز گیاهی و به‌عبارت دیگر بحث تغذیه گیاه می‌باشد و از بین این عوامل، نیتروژن از جمله عناصر غذایی اصلی است که در تمام دوره‌های رشد و نمو گیاهان اثر دارد. این عنصر بیش‌ترین غلظت را در بین عناصر معدنی در گیاه به خود اختصاص داده و نقش مهمی در افزایش عملکرد گیاه ایفا می‌کند، به‌طوری‌که کمبود آن بیش از عناصر غذایی دیگر عملکرد را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (۱۹ و ۲۵).

- 1- Pulegone
- 2- Menthone
- 3- Neo-menthone

آنتی‌اکسیدان برای سلامتی انسان عمل کرده و از بروز سرطان جلوگیری نماید (۵).

علی‌رغم گزارش‌های متعدد در خصوص تأثیر کودهای نیتروژنی و همچنین تراکم کاشت و زمان برداشت گیاهان دارویی مختلف، هنوز اطلاع جامع و کاملی از تأثیر این عوامل و سطوح بهینه آن‌ها برای کشت پونه در زمین‌های شمال کشور وجود ندارد؛ بنابراین هدف از این پژوهش بررسی ارزیابی تغییرات میزان اسانس، عناصر معدنی (نیتروژن، کلسیم و منیزیم) و ترکیبات زیست‌فعال (فنل و کلروفیل) گیاه دارویی پونه معطر در شرایط رشدی شمال کشور بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر زمان برداشت، کود نیتروژن و تراکم کاشت بر روی برخی خصوصیات عملکردی و فیزیولوژی گیاه دارویی پونه معطر در سال ۱۳۹۴ در دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. پیش از شروع آزمایش، نمونه‌برداری خاک به‌صورت ترکیبی (پنج نمونه در مکان‌های متفاوت) انجام گرفت و سپس ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد نظر توسط موسسه برنج واقع در رشت تعیین شد (جدول ۱). این آزمایش، به‌صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار طراحی گردید. کرت اصلی شامل زمان برداشت بود که شامل دو زمان برداشت می‌شد (مرحله اول برداشت در هنگام گلدهی گیاهان و برداشت دوم، دو ماه بعد از آن)، کرت فرعی مقادیر نیتروژن (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار از منبع اوره) در نظر گرفته شد که به‌صورت سرک و در سه مرحله اعمال گردید و کرت فرعی شامل تراکم کاشت در سه سطح (۱۰، ۱۴ و ۱۸ بوته در مترمربع) بود. در بهار پس از تسطیح و ایجاد جوی و پشته به فاصله ۵۰

علاوه بر بحث تغذیه گیاهی، تراکم کاشت نیز از عوامل مهم در تولید گیاهان به‌شمار می‌آید، به‌طوری‌که اگر میزان تراکم بوته بیش از حد مطلوب باشد، عوامل محیطی به اندازه کافی در اختیار بوته قرار نمی‌گیرد. همچنین اگر تراکم بوته کم‌تر از حد مطلوب باشد از امکانات محیطی موجود به‌نحو مطلوبی استفاده نشده و هدررفت بیش‌تری اتفاق خواهد افتاد (۹ و ۳۹). از طرف دیگر با توجه به این‌که با نزدیک‌تر شدن دوره رشد و نمو گیاهان دارویی به زمان برداشت، کمیت و کیفیت ترکیبات زیست‌فعال آن‌ها به شدت تغییر می‌کند و نیز با در نظر گرفتن این‌که شرایط اقلیمی و جغرافیایی هر منطقه بر زمان مناسب برداشت محصول تأثیر به‌سزایی دارد، بنابراین تعیین زمان برداشت هر نوع گیاه دارویی برای یک منطقه خاص، اهمیت زیادی خواهد داشت (۳۸ و ۴۰).

ترکیبات فنلی گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه هستند که به‌صورت گسترده‌ای در سلسله گیاهی وجود دارند که بر اساس ساختمان، تعداد و محل گروه هیدروکسیل و دیگر عوامل تغییرپذیر در کلاس‌های مختلفی رده‌بندی می‌شوند. ترکیبات فنلی فعالیت‌های زیستی مختلفی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند، اما بیش‌تر به‌خاطر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، خاصیت حفاظت‌کنندگی و بازدارندگی از بیماری‌های سرطان، مهم می‌باشند. ترکیبات فنلی قادر به خنثی کردن گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر می‌باشند که این امر به ویژگی اهداء الکترون آن‌ها ارتباط دارد (۱۷).

از جمله مولکول‌های زیست‌فعال دیگر می‌توان کلروفیل را نام برد. مولکول کلروفیل در واقع پورفیرین‌های منیزیم است که باعث ایجاد رنگ سبز در گیاهان می‌شود و در فعالیت‌های حیاتی گیاهان نقش مهمی دارد. کلروفیل‌ها علاوه بر نقش مهم فتوسنتزی خود در گیاهان، می‌تواند به‌عنوان یک

پلاستیکی حاوی ماسه انتقال داده شدند. در نهایت نشاءهای دارای اندازه یکسان پس از گذشت یک ماه (تاریخ ۹۵/۲/۲۴) به زمین اصلی منتقل گردیدند. نمونه‌گیری در دو دوره با فاصله حدود دو ماه صورت گرفت.

سانتی‌متر، کرت‌هایی به ابعاد ۳×۲ متر ایجاد و هر کرت شامل چهار ردیف کشت و فاصله بین هر دو بلوک یک متر بود. مواد گیاهی (قلمه) از منطقه تیمورکوه آلیان شهرستان فومن در تاریخ ۱۳۹۵/۱/۲۴ تهیه و سپس برای ریشه‌دهی (و همچنین افزایش ریشه‌دهی نشاءهای کم‌ریشه‌دار) به گلدان‌های

جدول ۱- برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک.

Table 1. Some physicochemical characteristics of soil.

اسیدیته	درصد شن	درصد سیلت	درصد رس	پتاسیم K (ppm)	فسفر P (ppm)	درصد نیتروژن N (%)	درصد کربن C (%)	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) Ec (ds/m)	بافت خاک Soil texture
pH	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)						Loamy
7.44	51	30	19	219	65.6	0.16	1.08	1	

نیتروژن مایع آسیاب گردید و به آن یک میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد و تاریکی قرار داده شدند. پس از سانتریفیوژ کردن، ۵۰ میکرولیتر عصاره به دست آمده و با استون ۸۰ درصد به حجم یک میلی‌لیتر رسید و میزان جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ نانومتر خوانده شد.

فنل کل: میزان فنل کل مطابق روش فولین سیکالچو با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (PG Instrument +80, Leicester, United Kingdom) به دست آمد (۳۶). برای اندازه‌گیری میزان فنل، ۵۰ میکرولیتر محلول استخراج شده را با آب مقطر ابتدا به حجم پنج میلی‌لیتر رسانیده شد و در مرحله بعد ۱/۵ میلی‌لیتر فولین به آن اضافه گردید. پس از گذشت پنج دقیقه روی هر نمونه یک میلی‌لیتر کربنات سدیم (۷/۵ درصد) ریخته شد. نمونه‌ها ۱/۵ ساعت در تاریکی قرار گرفتند و سپس میزان جذب آن‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد.

صفات اندازه‌گیری شده

وزن تر و خشک: با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ ساخت آلمان (مدل Sartorius) انجام شد. **اسانس:** نمونه‌ها در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس برای اسانس‌گیری نمونه‌ها از دستگاه کلونجر استفاده شد. برای این کار ۴۰ گرم از بافت گیاه با ۷۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل بالن کلونجر قرار گرفت و پس از گذشت ۳ ساعت اسانس جمع‌آوری شد. برای رطوبت‌زدایی اسانس نیز از سولفات سدیم استفاده شد (۲۴). سپس درصد اسانس در واحد وزن خشک به دست آمد. برای عملکرد اسانس نیز وزن خشک بوته‌ها در هکتار محاسبه گردید و در ادامه با استفاده از تناسب، عملکرد اسانس به دست آمد.

سطح برگ: با استفاده از دستگاه سطح برگ‌سنج مدل GCL Buble Etch Tank ساخت آلمان انجام گرفت. **کلروفیل:** برای تعیین میزان کلروفیل‌ها از روش Lichtenthaler and Buschmann (2001) استفاده گردید (۲۱). بدین منظور ۰/۲ گرم از نمونه با کمک

در محل تقطیر دستگاه اتوماتیک تیتراسیون قرار داده و در نهایت پس از اتمام تیتراسیون، دستگاه میزان نیتروژن موجود را بر حسب درصد نشان داد. مقادیر کلسیم و منیزیم توسط محلول EDTA روش کمپلکس متری (تیتراسیون) و با دستگاه بورت دیجیتالی مدل Rudolf Brand اندازه‌گیری شدند (۲۰).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه داده‌ها با برنامه Excel و نرم‌افزار SAS صورت گرفت. همچنین مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی (در سطح احتمال پنج درصد) انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول‌های ۲ و ۳ آورده شده‌اند که به تفصیل برای هر یک از صفات مورد بررسی در ادامه توضیح داده خواهد شد.

عناصر معدنی: برای این منظور نمونه‌ها ابتدا به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۵ درجه قرار گرفته و سپس کاملاً پودر شده و از الک دو میلی‌متری عبور داده شدند تا کاملاً صاف و یکدست شوند و پودر به‌دست آمده جهت انجام فرآیندهای بعدی استخراج عناصر معدنی، جداگانه در داخل ظروف مخصوص در بسته ریخته شدند. جهت تهیه خاکستر یک گرم نمونه برگ آسیاب‌شده در بوتله‌چینی ریخته و در کوره الکتریکی در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج ساعت قرار داده شد تا خاکستر سفید حاصل شود. به خاکستر سفید شده پنج میلی‌لیتر اسید کلریدریک دو نرمال اضافه و تا ظهور رنگ لیمویی روی حمام بن‌ماری قرار داده شد. این عصاره با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسید و برای اندازه‌گیری عناصر معدنی به‌کار رفت.

برای تعیین میزان نیتروژن از روش کج‌لدال استفاده شد. برای این منظور پنج میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده را داخل لوله آزمایش ریخته و

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر کود نیتروژن، تراکم کاشت و زمان برداشت بر خصوصیات گیاه پونه معطر.

Table 2. Analysis of variance of some pennyroyal traits under nitrogen fertilizer, plant density and harvest time.

میانگین مربعات Mean of squares					درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V.
کلروفیل Chlorophyll	فنل کل Total phenol	سطح برگ Leaf area	وزن خشک Dry weight	وزن تر Fresh weight		
0.0004 ^{ns}	7.45 ^{ns}	1083.28*	0.64 ^{ns}	8.02 ^{ns}	2	بلوک B
0.02*	1726.6*	1115.68**	61.53**	810.63**	1	زمان برداشت Harvest Time
0.000	44.06	5.51	0.25	5.19	2	خطای اصلی Main error
0.31**	1945.54**	27673.38**	121.42**	3556.65**	3	نیتروژن Nitrogen
0.000 ^{ns}	29.96 ^{ns}	30.74 ^{ns}	18.90**	57.93*	3	نیتروژن × زمان Nitrogen × Time
0.000	11.17	69.84	0.94	10.87	12	خطای فرعی Sub-error
0.07**	1186.63**	2632.51**	12.65**	220.58**	2	تراکم Plant density
0.000 ^{ns}	6.21 ^{ns}	15.04 ^{ns}	5.16**	3.13 ^{ns}	2	زمان × تراکم Time × Density

ادامه جدول ۲-

Continue Table 2.

میانگین مربعات Mean of squares					درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V.
کلروفیل Chlorophyll	فنل کل Total phenol	سطح برگ Leaf area	وزن خشک Dry weight	وزن تر Fresh weight		
0.002**	25.06**	260.88**	5.63**	23.89**	6	تراکم × نیتروژن Nitrogen × Density
0.000 ^{ns}	2.63 ^{ns}	74.13 ^{ns}	1.50**	10.89 ^{ns}	6	زمان × نیتروژن × تراکم Time × Nitrogen × Density
0.000	6.94	50.15	13.64	157.73	32	خطای کل Total error
5.09	2.56	9.37	8.72	7.03		ضریب تغییرات (%) CV%

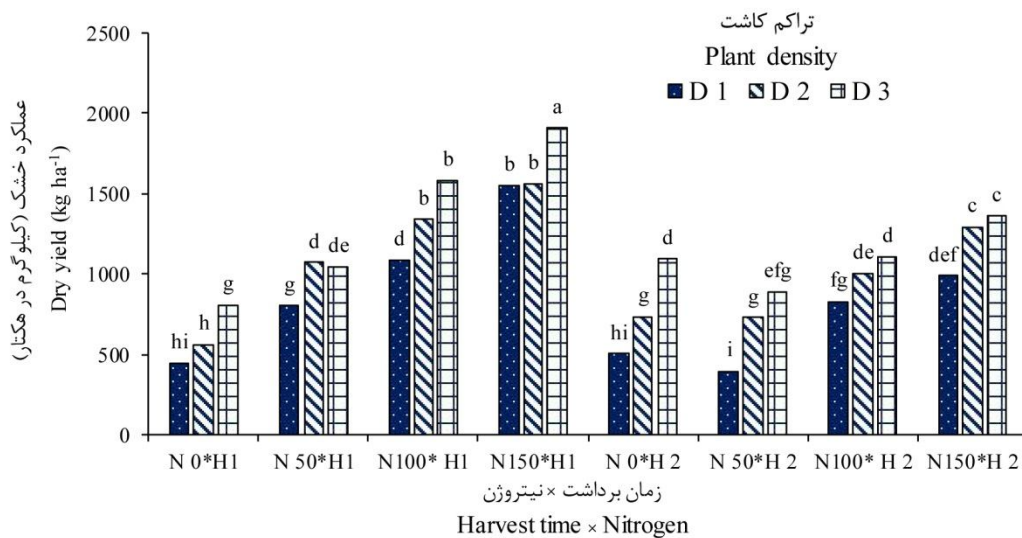
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر کود نیتروژن، تراکم کاشت و زمان برداشت بر خصوصیات گیاه پونه معطر.

Table 3. Analysis of variance of nitrogen fertilizer, plant density and harvest time on some traits of pennyroyal.

میانگین مربعات Mean of squares					درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V.
عملکرد اسانس Yield Oil	اسانس (%) Essential Oil (%)	درصد منیزیم Mg (%)	درصد کلسیم Ca (%)	درصد نیتروژن N (%)		
10396801 ^{ns}	0.013 ^{ns}	5.57 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.04 ^{ns}	2	بلوک B
900929157**	2.80**	0.29 ^{ns}	0.13 ^{ns}	2.80**	1	زمان برداشت Harvest Time
8645071	0.11	1.29	0.011	0.02	2	خطای اصلی Main error
2044661036**	2.67**	0.34 ^{ns}	0.49**	16.16**	3	نیتروژن Nitrogen
141409251**	0.14*	0.26 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.08 ^{ns}	3	نیتروژن × زمان Nitrogen × Time
19077846	0.20	3.20	0.002	0.02	12	خطای فرعی Sub-error
226714574**	0.09 ^{ns}	0.52 ^{ns}	0.06 ^{ns}	76**	2	تراکم Plant density
53305044*	0.46**	0.48 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.28**	2	زمان × تراکم Time × Density
32989119 ^{ns}	0.28**	0.27 ^{ns}	0.005**	1.07**	6	تراکم × نیتروژن Nitrogen × Density
15049615 ^{ns}	0.041 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.001 ^{ns}	1.13**	6	زمان × نیتروژن × تراکم Time × Nitrogen × Density
14739036	0.074	3.47	0.001	0.03	32	خطای کل Total error
18.94	14.41	10.39	4.59	3.93		ضریب تغییرات (%) CV%

بیش‌تری دیده شد. در صفت وزن تر اندام هوایی بیش‌ترین مقدار یعنی ۸۰۷۱/۸ کیلوگرم در هکتار مربوط به تیمار ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن با تراکم ۱۸ بوته بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت، همچنین کم‌ترین مقدار یعنی ۱۷۲۰/۱۶ کیلوگرم در هکتار در تیمار بدون کود و تراکم ۱۰ بوته بود (جدول ۴). در بررسی صفت وزن خشک اندام‌های هوایی بیش‌ترین مقدار (۱۹۰۹/۲ کیلوگرم در هکتار) مربوط به ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و تراکم ۱۸ بوته در مترمربع و زمان برداشت اول و کم‌ترین مقدار (۳۹۶/۶۶ کیلوگرم در هکتار) هم در تیمار کودی ۵۰ کیلوگرم با تراکم ۱۰ بوته در مترمربع در دومین برداشت به‌دست آمد (شکل ۱).

وزن تر و خشک اندام هوایی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده و همچنین اثرات سه‌گانه کود نیتروژن، تراکم کاشت و زمان برداشت بر میزان وزن خشک اندام هوایی و اثر دوگانه نیتروژن و تراکم کاشت بر وزن عملکرد تر معنی‌دار بود (جدول ۲). همچنین مقایسات میانگین داده‌ها مشخص کرد که در سطوح نیتروژن با افزایش تراکم کشت، میزان وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۱). در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنی نیز همین روند با شدت بیش‌تری ملاحظه شد. در مورد عملکرد وزن خشک در برداشت اول اختلافات بین تراکم‌های کشت بین سطوح مختلف تیمار کود نیتروژن با شدت



شکل ۱- اثر سه‌گانه نیتروژن، تراکم کاشت و زمان برداشت بر وزن خشک پونه معطر.

Fig. 1. Triple interaction effect of nitrogen, plant density and harvest time on pennyroyal dry weight.

* نیتروژن صفر (N0)، نیتروژن ۵۰ (N50)، نیتروژن ۱۰۰ (N100)، نیتروژن ۱۵۰ (N150)، زمان برداشت اول (H1)، زمان برداشت دوم (H2)، تراکم ۱۰ بوته در مترمربع (D1)، تراکم ۱۴ بوته در مترمربع (D2)، تراکم ۱۸ بوته در مترمربع (D3).

* Nitrogen fertilizer 0 kg ha⁻¹ (N0), Nitrogen fertilizer 50 kg ha⁻¹ (N50), Nitrogen fertilizer 100 kg ha⁻¹ (N100), Nitrogen fertilizer 150 kg ha⁻¹ (N150), First harvest time (H1), Second harvest time (H2), Plant density of 10 plants m⁻² (D1), Plant density of 14 plants m⁻² (D2), Plant density of 18 plants m⁻² (D3).

تراکم کاشت ۱۰ بوته در مترمربع با مقدار ۲۸/۳۷ سانتی مترمربع در بوته بود که با تیمارهای بدون کودی با تراکم‌های ۱۴ و ۱۸ بوته در مترمربع اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲). همچنین این جدول نشان داد که با افزایش مقدار نیتروژن به مقدار سطح برگ افزوده شد و نیتروژن اثر معنی‌داری بر افزایش سطح برگ داشت، این افزایش در تیمارهای نیتروژن زیاد بیش‌تر از مقادیر کم نیتروژن است. همچنین در تیمار بدون کودی افزایش تراکم کاشت تأثیری در سطح برگ نداشت.

دلفین و همکاران (۲۰۰۵) گزارش نمودند که نیتروژن یک عنصر تعیین‌کننده در تغذیه، رشد و عملکرد گیاه محسوب می‌شود، به‌طوری‌که میزان نیتروژن قابل‌دسترس برای گیاه می‌تواند میزان پروتئین دانه، محتوای کلروفیل برگ و اندازه و حجم پروتوپلاسم سلولی و همچنین سطح برگ را افزایش داده و بدین ترتیب فعالیت فتوسنتزی را تحت‌تأثیر قرار دهد (۱۰). بالا بودن شاخص سطح برگ در تیمار کود شیمیایی به احتمال زیاد می‌تواند به‌دلیل بهبود شرایط جذب عناصر غذایی در خاک (۳۰) و تأثیر این عناصر به‌خصوص نیتروژن بر افزایش رشد رویشی گیاه باشد که منتج به افزایش تعداد برگ و همچنین افزایش سطح برگ‌های گیاه شده است (۳۵). درایکوت و وب (۱۹۷۳) گزارش کردند که افزایش تراکم در حد مطلوب سبب رشد سریع‌تر برگ و پوشش کامل‌تر زمین می‌شود. بنابراین افزایش تراکم تا حد معینی باعث افزایش شاخص سطح برگ می‌گردد. که در گیاه پونه بهترین عملکرد در کم‌ترین تراکم به‌دست آمد (۱۲).

نیتروژن یکی از مهم‌ترین عناصر غذایی مؤثر در افزایش عملکرد گیاهان به‌شمار می‌آید. این عنصر در ساختمان اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک، بازهای پورینی، آلکالوئیدها، کلروفیل و غیره وجود دارد. علاوه بر این کمبود نیتروژن منجر به کاهش کارایی فتوسنتز، وزن خشک گیاه، شاخص سطح برگ و میزان پروتئین‌ها و نیز تأخیر در رشد رویشی و زایشی گیاه می‌شود (۱۱). از دلایلی که اثر نیتروژن باعث افزایش وزن تر و خشک می‌شود را می‌توان به شرکت این عنصر در ساختار مولکول‌های بزرگ مانند پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و اسیدهای نوکلئیک نسبت داد (۴۲).

افلاطونی (۲۰۰۵) در پژوهش خود گزارش کرد که نعنای فلفلی در چین اول رشد بیش‌تری نسبت به چین دوم داشت که به‌نظر می‌رسد اختلاف این نتایج با نتایج به‌دست آمده از آزمایش حاضر به‌دلیل اختلاف در شرایط کشت و منطقه بوده است، که علت بالا بودن عملکرد در چین اول را به روزهای آفتابی با دمای مناسب نسبت داده است که سبب افزایش فتوسنتز شده و باعث افزایش عملکرد اسانس شده است (۳).

سطح برگ: مقایسات میانگین و نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد اثر متقابل بین نیتروژن و تراکم کاشت در سطح یک درصد معنی‌دار شد. در این خصوص بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار کودی ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار در تراکم کاشت ۱۰ بوته در مترمربع با مقدار ۱۳۳/۰۴ سانتی‌مترمربع در بوته بود که تیمارهای نیتروژن ۱۰۰ کیلوگرم با تراکم ۱۰ بوته در مترمربع و نیتروژن ۱۵۰ کیلوگرم با تراکم ۱۴ و ۱۸ بوته در مترمربع در مکان بعدی قرار داشتند. کم‌ترین مقدار هم مربوط به تیمار بدون کودی با

اسید شیکمیک)، مقدار ترکیبات فنلی افزایش می‌یابد (۲۶ و ۲۷).

همان‌طور که در بالا اشاره شد، با تغییر میزان تراکم کاشت، قابلیت در دسترس بودن عوامل مختلف رشدی و همچنین رقابت گیاهان برای بهره‌مندی از آن‌ها در جهت رشد مطلوب، تغییر پیدا می‌کند، این امر باعث تغییر در ساخت کربوهیدرات‌ها و در نهایت تغییر در میزان ترکیبات مؤثره (مانند ترکیبات فنلی) می‌گردد (۳۲ و ۳۹).

کلروفیل کل: نتایج مقایسات میانگین نشان داد که بیش‌ترین مقدار آن هم مربوط به تیمار نیتروژن ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار با تراکم کاشت ۱۰ بوته در مترمربع با مقدار ۰/۶۷۲ میلی‌گرم در گرم بود که با سایر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت و کم‌ترین مقدار هم مربوط به سطح تیمار بدون کود با تراکم کاشت ۱۸ بوته در مترمربع با مقدار ۰/۲۴۱ میلی‌گرم در گرم بود (جدول ۴) که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. نتایج نشان داد با افزایش مقدار نیتروژن به مقدار کلروفیل گیاه افزوده می‌شود این افزایش با تراکم کاشت گیاه رابطه عکس داشت یعنی با افزایش تراکم کاشت از مقدار کلروفیل گیاه کاسته می‌شود.

مولکول کلروفیل در ساختار خود علاوه بر داشتن عنصر منیزیم دارای ترکیبات نیتروژن‌دار می‌باشد، به همین دلیل استفاده از نیتروژن می‌تواند تا حد زیادی باعث افزایش تولید کلروفیل در گیاه شود. همچنین با افزایش میزان مصرف کود نیتروژنی جذب نیتروژن توسط ریشه‌ها بیشتر شده و بنابراین منجر به افزایش رشد رویشی گیاه می‌گردد. در نتیجه این امر تولید کربوهیدرات‌ها افزایش یافته و در نتیجه امکان تولید رنگدانه‌ها مانند کلروفیل نیز

ایزدی و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که اثر افزایش کود نیتروژن بر تعداد برگ به نقش نیتروژن در متابولیسم گیاه مربوط می‌شود، زیرا نیاز گیاه را از لحاظ نیتروژن تامین می‌کند و باعث افزایش فرآورده‌های فتوسنتزی و در نتیجه افزایش رشد رویشی و تعداد و سطح برگ‌ها می‌شود (۱۵).

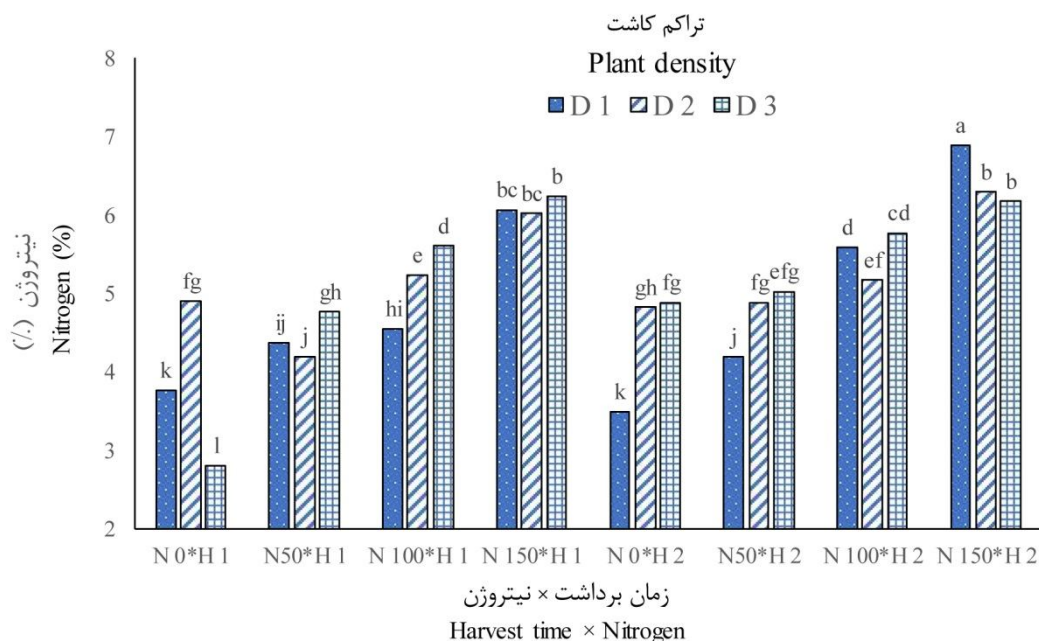
فنل کل: جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر متقابل بین نیتروژن و تراکم بوته در صفت فنل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بیش‌ترین فنل کل مربوط به تیمار ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار با تراکم ۱۰ بوته در مترمربع با مقدار ۱۱۹/۷ میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک دیده شد و کم‌ترین مقدار هم مربوط به اثر متقابل تیمارهای بدون کود نیتروژن در تراکم کاشت ۱۸ بوته در مترمربع با مقدار ۸۱/۴۹ میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۴).

از آن‌جا که بر اساس دو فرضیه تعادل کربن به مواد معدنی و فرضیه تمایز رشد، رابطه دوطرفه بین متابولیسم اولیه و ثانویه به اثبات رسیده است، بنابراین افزایش عناصر غذایی در خاک باعث افزایش میزان فتوسنتز خالص در گیاه شده و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر با بیوسنتز نشاسته و پروتئین در سنتز ترکیبات ثانویه گشته است. از طرف دیگر افزایش ترکیبات فنلی با افزایش کربوهیدرات‌ها در گیاه ارتباط مستقیم دارد. از آن‌جا که کربوهیدرات‌ها اسکلت مورد نیاز برای ساخت ترکیبات فنلی می‌باشند، بنابراین با افزایش در مقدار آن‌ها به‌عنوان سوبسترا (اختصاص یافتن بیش‌تر کربن به مسیر

درصد معنی‌دار بود، به طوری که بیشترین مقدار نیتروژن بافت‌های گیاهی مربوط به تیمار کودی ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار و در زمان برداشت دوم با تراکم کاشت ۱۰ بوته در مترمربع (۶/۸۹ درصد) و کمترین مقدار هم مربوط به تیمار بدون کودی در زمان برداشت اول با تراکم ۱۸ بوته در مترمربع (۲/۸۰ درصد) بود. بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تغییرات در مقدار نیتروژن بافت گیاهی به گونه‌ای است که هر سه تراکم کاشت در تیمار نیتروژن ۱۵۰ کیلوگرم در زمان برداشت دوم نسبت به سایر تیمارها برتری داشتند (شکل ۲).

افزایش می‌یابد (۴). با تغییر میزان تراکم کاشت گیاه، میزان بهره‌مندی گیاه از عوامل محیطی جهت رشد و نمو مانند میزان درجه حرارت، نور دریافتی، رطوبت محیط و حاصلخیزی خاک، تغییر می‌کند. این امر به نوبه خود بر میزان رشد و نمو و نیز ساخت ترکیبات گیاهی اثر مستقیم گذاشته و می‌تواند میزان تولید متابولیت‌های ثانویه و رنگدانه‌ها را به طور معنی‌داری تغییر دهد (۳۹).

عناصر معدنی: بررسی مقایسات میانگین و جدول تجزیه واریانس (جدول‌های ۲ و ۳) برای صفت درصد نیتروژن نشان داد که اثرات سه‌گانه نیتروژن، تراکم کاشت و زمان برداشت در سطح احتمال یک



شکل ۲- اثر سه‌گانه نیتروژن، تراکم کاشت و زمان برداشت بر درصد نیتروژن اندام‌های هوایی پونه معطر.

Fig. 2. Triple interaction effect of nitrogen, plant density and harvest time on pennyroyal nitrogen content.

* نیتروژن صفر (N0)، نیتروژن ۵۰ (N50)، نیتروژن ۱۰۰ (N100)، نیتروژن ۱۵۰ (N150)، زمان برداشت اول (H1)، زمان برداشت دوم (H2)، تراکم ۱۰ بوته در مترمربع (D1)، تراکم ۱۴ بوته در مترمربع (D2)، تراکم ۱۸ بوته در مترمربع (D3).

* Nitrogen fertilizer 0 kg ha⁻¹ (N0), Nitrogen fertilizer 50 kg ha⁻¹ (N50), Nitrogen fertilizer 100 kg ha⁻¹ (N100), Nitrogen fertilizer 150 kg ha⁻¹ (N150), First harvest time (H1), Second harvest time (H2), Plant density of 10 plants m⁻² (D1), Plant density of 14 plants m⁻² (D2), Plant density of 18 plants m⁻² (D3).

جهانتیغی، ۲۰۱۳) گزارش شده است (۱۳، ۳۰، ۳۴ و ۴۱). در بررسی دیگری گزارش شده که استفاده از کود نیتروژنی بر میزان عنصر منیزیم اثر معنی داری نداشت که یافته‌های بررسی حاضر با آن مطابقت داشت (۷).

درصد و عملکرد اسانس: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثرات سه‌گانه نیتروژن، تراکم و زمان برداشت اثر معنی داری بر روی میزان اسانس نداشت. ولی اثر متقابل نیتروژن و تراکم کاشت در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. در این مورد بیش‌ترین درصد اسانس (۲/۶۶ درصد) مربوط به تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار با تراکم کاشت ۱۰ بوته در مترمربع بود که با همان تیمار کودی با تراکم کاشت ۱۴ بوته در مترمربع اختلاف معنی داری نداشت. همچنین کم‌ترین مقدار (۱/۵۳ درصد) در شاهد با تراکم کاشت ۱۸ بوته در مترمربع به‌دست آمد (جدول ۴). با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت افزایش نیتروژن تا ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار تأثیر چندانی روی افزایش درصد اسانس نداشت و تنها در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن افزایش قابل‌توجهی در درصد اسانس مشاهده شد.

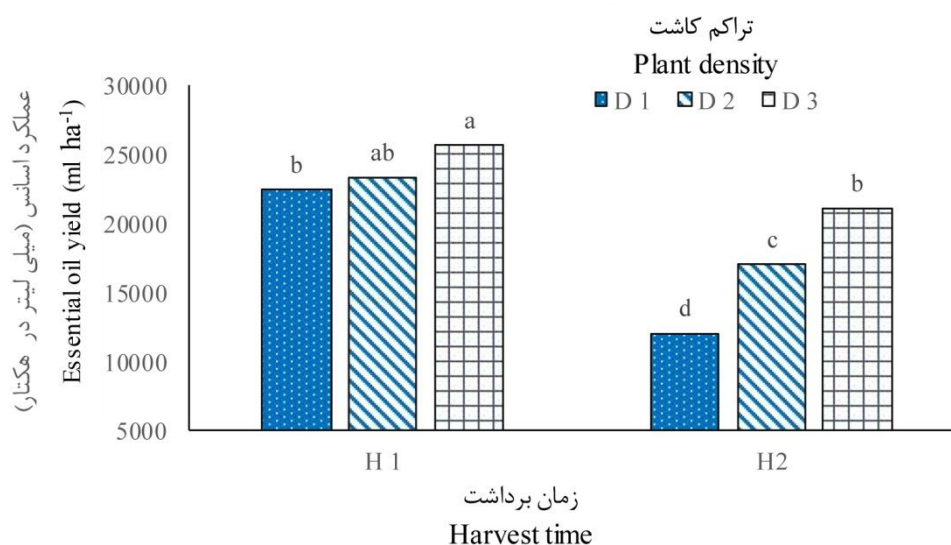
جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر متقابل زمان برداشت و تراکم کاشت در سطح احتمال پنج درصد بر روی عملکرد اسانس معنی دار گردید و بیش‌ترین مقدار هم در تراکم ۱۸ بوته در مترمربع در زمان برداشت اول با مقدار ۲۵/۶۶ لیتر بود که با تیمار تراکم کاشت ۱۴ بوته در مترمربع اختلاف معنی داری نشان نداد. کم‌ترین مقدار (۱۲/۰۵ لیتر) نیز مربوط به تیمار تراکم کاشت ۱۰ بوته در مترمربع در دومین زمان برداشت بود (شکل ۳).

نتایج مقایسه‌های میانگین و تجزیه واریانس (جدول‌های ۲ و ۳) نشان داد اثر متقابل نیتروژن و تراکم کاشت بر صفت کلسیم در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. بیش‌ترین مقدار (۱/۲۱ درصد) مربوط به ترکیب تیماری ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و تراکم ۱۸ بوته در مترمربع بود. کم‌ترین مقدار (۰/۶۷ درصد) نیز در نیتروژن شاهد با تراکم کاشت ۱۰ بوته در مترمربع دیده شد (جدول ۴).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که هیچ‌یک از تیمارهای نیتروژن و تراکم کاشت بر مقدار منیزیم تأثیر معنی داری نداشت (جدول ۳).

نیتروژن یکی از اجزای تشکیل‌دهنده بسیاری از مولکول‌های مهم مانند پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، برخی هورمون‌ها (مانند ایندول استیک اسید و سایتوکینین) و کلروفیل می‌باشد. با توجه به نقش کلسیم در ایجاد پیوندهای پلی‌ساکارییدی و پروتئین‌های دیواره سلولی، در بین سایر عناصر این عنصر در تثبیت و تحکیم دیواره سلولی نقش بسیار مهمی دارد. همچنین این عنصر نقش حمایتی در جذب مواد غذایی را نیز ایفا می‌کند. منیزیم تنها عنصر فلزی موجود در کلروفیل است و به‌عنوان هسته مرکزی سازنده کلروفیل شناخته شده است. بنابراین منیزیم به‌طور غیرمستقیم در متابولیسم و فتوسنتز گیاهان نقش دارد. از طرفی منیزیم با شرکت در چرخه اسید سیتریک به‌عنوان یک چرخه متابولیسمی در گیاه، در تنفس گیاهان نیز نقش ایفا می‌کند (۱۹ و ۲۵).

افزایش میزان نیتروژن گیاهان دارویی در پاسخ به کاربرد کودهای نیتروژنی قبلاً نیز توسط پژوهشگران دیگر در نعنای فلفلی (پشتدار و همکاران، ۲۰۱۶؛ زینلی و همکاران، ۲۰۱۴)، جعفری (سیدی گوراغانی و همکاران، ۲۰۱۴) و و زیره سیاه (حیدری و



شکل ۳- اثر متقابل فواصل کاشت و زمان برداشت بر روی عملکرد اسانس پونه معطر.

Fig. 3. Interaction effect between plant density and harvest time on essential oil yield of pennyroyal.

* زمان برداشت اول (H1)، زمان برداشت دوم (H2)، تراکم ۱۰ بوته در مترمربع (D1)، تراکم ۱۴ بوته در مترمربع (D2)، تراکم ۱۸ بوته در مترمربع (D3).

* First harvest time (H1), Second harvest time (H2), Plant density of 10 plants m⁻² (D1), Plant density of 14 plants m⁻² (D2), Plant density of 18 plants m⁻² (D3).

افزایش یا کاهش یابد. این کاهش یا افزایش که می‌تواند در اثر زمان‌های برداشت مختلف به وقوع بپیوندد ممکن است به دلیل تأثیر طول روز، دما و شدت نور بر فرآیندهای مختلف گیاهی باشد که هر کدام از این فرآیندها از حساسیت متفاوتی نسبت به عوامل یاد شده برخوردارند (۶ و ۲۸). به این ترتیب که با توجه به حساسیت آنزیم‌ها و فرآیندهای مختلف به عوامل مختلف محیطی یا عواملی مانند طول دوره رشد گیاهی، میزان سنتز یا تجزیه و تخریب ترکیبات مختلف گیاهی دچار تغییر گردیده و در نهایت میزان مواد مؤثره، اسانس گیاهی، انواع رنگدانه‌های مختلف (کلروفیل، کاروتنوئید، آنتوسیانین‌ها)، ترکیبات فنلی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، عناصر معدنی و سایر ترکیبات به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر طول دوره رشد و زمان برداشت قرار گیرند. در نهایت این امر اهمیت مربوط به بررسی زمان برداشت در گیاهان دارویی مختلف و

امروزه با توجه به اثرات ناخواسته داروهای شیمیایی، نیاز به گیاهان دارویی روز به روز در حال افزایش می‌باشد که این امر باعث مطالعات گسترده در زمینه کشت این گیاهان گردیده است. اسانس‌ها و مواد مؤثره گیاهان دارویی دارای اثرات فارماکولوژیکی یکنواخت و ویژگی‌های شناخته شده می‌باشد. از طرف دیگر، تأمین مواد اولیه صنایع داروسازی نیاز به افزایش تولید محصولات گیاهان دارویی در واحد سطح دارد که اولین، عملی‌ترین و اقتصادی‌ترین روش جهت حصول این مورد، مطالعه در مورد کارایی نهاده‌های مورد استفاده در کشت و کار گیاهان دارویی می‌باشد (۱).

یکی از تحولات درونی گیاه، آنتورژنی یا تغییراتی است که در ماده مؤثره گیاهان دارویی، بسته به مراحل مختلف رشد پدید می‌آید. تأثیر این تحولات به گونه‌ای است که گاهی میزان عملکرد و مواد مؤثره استخراج شده از گیاهان ممکن است تا چندین برابر

در مورد اثر تراکم کاشت بر میزان اسانس گیاهان دارویی، نتایج حاضر با یافته‌های جبارپور و همکاران (۲۰۱۳) در مورد نعنای فلفلی مطابقت دارد (۱۶). با تغییر تراکم بوته رقابت بر سر عوامل مورد نیاز جهت رشد مانند فضای رشد و توسعه اندام هوایی، نور کافی، مواد غذایی و آب افزایش یافته و در نتیجه این امر بر میزان تولید مواد مؤثره گیاه تأثیر معنی‌دار می‌گذارد (۳).

نتیجه‌گیری کلی

کشت و اهلی کردن گیاهان دارویی نیازمند دانستن تمامی نیازهای گیاه و همچنین کاربرد روش‌هایی برای افزایش میزان عملکرد ماده مؤثره این گیاهان می‌باشد. در پژوهش حاضر در نهایت چنین نتیجه‌ای به دست آمد که تراکم ۱۸ بوته در مترمربع پونه معطر به همراه کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در برداشت اول می‌تواند برای برنامه‌های کاشت گیاه پونه معطر و دستیابی به عملکرد و مقدار اسانس بالا نویدبخش باشد.

در مکان‌های کشت مختلف را بیش از پیش نمایان می‌کند (۳۳ و ۳۷).

کشت یک گیاه دارویی از نظر اقتصادی زمانی توجیه اقتصادی دارد که تولید متابولیت‌های ثانویه آن به حد بهینه‌ای برسد. مطالعات قبلی نیز نشان داده است که استفاده از کود نیتروژنی می‌تواند باعث افزایش میزان اسانس و مواد مؤثره در گیاهان دارویی ریحان (۳۵) و نعنای فلفلی (۱۴) شود.

افزایش میزان کود نیتروژنی می‌تواند باعث افزایش رشد و نمو گیاهان گردد. با توجه به نقش نیتروژن در ساختمان کلروفیل و نیز ساخت ترکیبات پروتئینی، افزایش مقدار نیتروژن تا حد مشخصی می‌تواند باعث افزایش میزان پروتئین‌های گیاهی شود. چنین می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش میزان پروتئین‌ها، گیاه به توسعه برگ و تعداد شاخه اصلی و فرعی پرداخته که این امر می‌تواند افزایش تولید مواد فتوسنتزی از جمله متابولیت‌های ثانویه و اسانس‌ها را در پی داشته باشد (۲۳).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات دوگانه کود نیتروژن و تراکم کاشت بر برخی صفات عملکردی و بیوشیمیایی گیاه پونه معطر.

Table 4. Mean comparison of nitrogen fertilizer and plant density interactions on yield and some physiological traits of pennyroyal.

اسانس (%) Essential Oil (%)	کلسیم (%) Ca (%)	کلروفیل Chlorophyll	فنل کل Total phenol	سطح برگ (سانتی‌مترمربع) Leaf area (cm ²)	عملکرد تر (کیلوگرم در هکتار) Fresh yield (kg ha ⁻¹)	تراکم (بوته در مترمربع) Density (plant m ⁻²)	نیتروژن (کیلوگرم در هکتار) Nitrogen (kg ha ⁻¹)
0.67 ^h	0.67 ^h	0.323 ^f	99.63 ^f	32.15 ^f	1720 ⁱ	10	0
0.79 ^g	0.79 ^g	0.286 ^h	86.4 ^h	28.93 ^f	2102 ^h	14	0
0.793 ^g	0.793 ^g	0.241 ⁱ	81.49 ⁱ	28.37 ^f	2919 ^g	18	0
0.86 ^f	0.86 ^f	0.399 ^d	105.69 ^d	72.09 ^d	2869 ^g	10	50
0.89 ^{ef}	0.89 ^{ef}	0.366 ^c	99.73 ^{ef}	57.86 ^c	3515 ^f	14	50
0.93 ^c	0.93 ^c	0.296 ^{gh}	94.44 ^j	49.69 ^c	3948 ^e	18	50
0.98 ^d	0.98 ^d	0.407 ^d	114.67 ^b	111.13 ^b	3925 ^e	10	100
1.05 ^{cd}	1.05 ^{cd}	0.357 ^e	109.18 ^c	89.08 ^c	5179 ^d	14	100
1.058 ^{bcd}	1.058 ^{bcd}	0.314 ^{fg}	102.77 ^{dc}	76.16 ^d	5814 ^c	18	100
1.073 ^{bc}	1.073 ^{bc}	0.672 ^a	119.7 ^a	133.04 ^a	5414 ^d	10	150
1.108 ^b	1.108 ^b	0.583 ^b	112.92 ^b	115.15 ^b	6596 ^b	14	150
1.21 ^a	1.21 ^a	0.509 ^c	104.82 ^b	112.63 ^b	8071 ^a	18	150

منابع

1. Abdelli, M., Moghrani, H., Aboun, A. and Maachi, R. 2016. Algerian *Mentha pulegium* L. leaves essential oil: Chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities. *Ind. Crop P.* 94: 197-205.
2. Abedi, M.H., Seghatoleslami, M.J. and Mousavi, S.G.R. 2014. Effects of irrigation intervals and nitrogen fertilizer levels on vegetative and reproductive yields of basil (*Ocimum basilicum* L.) under Birjand conditions. *Agroecol.* 5: 4. 342-349.
3. Aflatuni, A. 2005. The yield and essential oil content of mint (*Mentha* spp) in Northern Ostrobothnia. Faculty Sci. Dep. Biology, Uni. Oulu. 52p.
4. Akbarpour, V., Ashnavar, M. and Bahmanyar, M.A. 2016. Effect of manure and chemical fertilizer on physiological and phytochemical properties of coneflower. *Agric. Crop Manage.* 18: 3. 701-711.
5. Alsuhaybani, A.M., Alkehayez, N.M., Alshawi, A.H. and Al-Faris, N.A. 2017. Effects of chlorophyll on body functioning and blood glucose levels. *Asian J. Clin. Nut.* 9: 64-70.
6. Amari, G., Alizadeh, A., Alizadeh, O. and Zare, M. 2008. Effects of harvesting time on essential oil composition of *Thymus daenensis* Celak. *J. Invest. Appl. Med. Plants.* 1: 3. 47-56.
7. Ashraf, M., Qasim, A. and Zafar, I. 2006. Effect of nitrogen application rate on the content and composition of oil, essential oil and minerals in black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds. *J. Sci. Food Agric.* 86: 871-876.
8. Bouyahya, A., Et-Touys, A., Bakri, Y., Talbau, A., Fellah, H., Abrini, J. and Dakka, N. 2017. Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. *Micro Pathogen.* 111: 41-49.
9. Dadkhah, A., Kafi, M. and Rasam, G. 2009. The effect of planting date and plant density on growth traits, yield quality and quantity of *Matricaria (Matricaria chamomilla)*. *J. Hort. Sci.* 23: 2. 100-107.
10. Delfin, S., Tognetti, R., Dsiderio, E. and Alvino, A. 2005. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. *Agro. Sustainable Devel.* 25: 183-191.
11. Dordas, C.A. and Sioulas, C. 2007. Safflower yield, chlorophyll content, photosynthesis and water use efficiency response to nitrogen fertilization under rain fed conditions. *In. Crop P.* 27: 75-85.
12. Draycott, A.T. and Webb, D.J. 1973. Effects of nitrogen fertilizer, plant population and irrigation on sugarbeet. *J. Agri. Sci.* 76: 52-54.
13. Heidari, M. and Jahantighi, H. 2013. Evaluate effect of water stress and different amounts of nitrogen fertilizer on seed quality of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Iran. J. Field Crop. Res.* 11: 4. 640-647.
14. Hokmalipour, S. 2017. Evaluate the effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and nitrogen fertilizer on yield and some agronomic and physiological traits of medicinal plant of peppermint (*Mentha piperita* L.). *J. Plant Eco.* 9: 28. 133-144.
15. Izadi, Z., Ahmadvand, G., Asna Ashri, M. and Piri, J. 2010. Effect of nitrogen and plant density on some growth characteristic, yield and essence in peppermint. *Iran. J. Field. Crops Res.* Pp: 824-836. (In Persian with English Abstract)
16. Jabarpour, S., Zehtab-Salmasi, S., Alyari, H., Javanshir, A. and Shakiba, M.R. 2013. Effects of sowing time and plant density on yield and essential oil production of medicinal plant, peppermint (*Mentha piperita* L.). *Agroecol.* 5: 4. 416-423.
17. Jacobo-Velázquez, D.A. and Cisneros-Zevallos, L. 2017. Recent advances in plant phenolics. *Molecules.* 22: 1249.
18. Jafari, S. and Sharei, F. 2015. The survey of female gametophyte development and effect of Sodium Chloride stress on ontogeny of flower's components in *Mentha Pulegium* L. *J. Plant Res.* (Iran. J. Biol.). 28: 2. 276-284.

19. Jones, J. and Benton, J. 2012. Plant nutrition and soil fertility manual, 2nd Edition, CRC Press Inc., Boca Raton, FL. 304p.
20. Jones, J. 2001. Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis. CRC Press, Boca Raton. USA. 384p.
21. Lichtenthaler, H.K. and Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. Curr. Protocol. Food Anal. Chem. F4.3.1-F4.3.8.
22. Lu, N., Bernardo, E.L., Tippayadarapanich, C., Takagaki, M., Kagawa, N. and Yamori, W. 2017. Growth and accumulation of secondary metabolites in perilla as affected by photosynthetic photon flux density and electrical conductivity of the nutrient solution. Plant Sci. 8: 708.
23. Madadi Bonab, S., Zehtab Salmasi, S. and Ghassemi Golezani, K. 2012. The effect of irrigation and nitrogen fertilizer on morphological characteristics and essential oil percentage and yield of dill (*Anethum graveolens* L.). J. Agric. Sci. Sust. Prod. 22: 2. 91-100.
24. Maffei, J. and Mucciarelli, M. 2003. Essential oil yield in pepper mint-soybean strip-cropping. Field Crop. Res. 84: 229-240.
25. Marschner, P. 2012. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, Waltham, MA, USA.
26. Muller, V., Lankes, C., Zimmermann, B.F., Noga, G. and Hunsche, M. 2013. Centelloside accumulation in leaves of centella asiatica is determined by resource partitioning between primary and secondary metabolism while influenced by supply levels of either nitrogen, phosphorus or potassium. J. Plant Physio. 170: 13. 1165-1175.
27. Munene, R., Changamu, E., Korir, N. and Joseph, G.O. 2017. Effects of different nitrogen forms on growth, phenolics, flavonoids and antioxidant activity in amaranth species. Trop. Plant Res. 4: 1. 81-89.
28. Omidbaigi, R., Fattahi, F., Fattahi, F. and Karimzadeh, G.h. 2010. Harvest time affect on the herb yield and essential oil content of lemon thyme (*Thymus × citriodorus* (Pers.) Schreb). Iran. J. Med. Aromt. Plants. 26: 3. 317-325.
29. Ouakouak, H., Chohra, M. and Denane, M. 2015. Chemical composition, antioxidant activities of the essential oil of *Mentha pulegium* L. South East of Algeria. In. L. Natur. Sci. 39: 49-55.
30. Poshtdar, A., Abdali Mashhadie, A.R., Moradi, F., Siadat, S.A. and Bakhshandeh, A. 2016. Effect of source and rate of nitrogen fertilizer on yield and water and nitrogen use efficiency of peppermint (*Mentha piperita* L.). Iran. J. Crop Sci. 18: 1. 13-31.
31. Pouryousef, M., Mazaheri, D., Chaiechi, M.R., Rahimi, A. and Tavakoli, A. 2010. Effect of different soil fertilizing treatments on some of agro morphological traits and mucilage of isabgol (*Plantago ovata* Forsk). Sci. J. Crop P. 3: 193-213.
32. Ren, B., Liu, W., Zhang, J., Dong, S., Liu, P. and Zhao, B. 2017. Effects of plant density on the photosynthetic and chloroplast characteristics of maize under high-yielding conditions. Natur Wiss. 104: 3-4. 12.
33. Saeb, K. and Gholamrezaee, S. 2012. Variation of essential oil composition of *Melissa officinalis* L: leaves during different stages of plant growth. Asian Pac J. Trop Biomed. 2: 2. 547-549.
34. Saidi Goraghani, H., Yazdani Biouki, R., Saidi Goraghani, N. and Sodaeezadeh, H. 2014. Effect of different nitrogen sources and levels on quantitative and qualitative characteristics of parsley (*Petroselinum crispum* Mill.) in Jiroft Region. Iran. J. Field Crop. Res. 12: 2. 316-327.
35. Sifola, M.I. and Barbieri, G. 2006. yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. Sci. Hort. 108: 408-413.
36. Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.S. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Method. Enzymol. A. 299: 152-178.

37. Soni, U., Brar, S. and Gauttam, V.K. 2015. Effect of seasonal variation on secondary metabolites of medicinal plants. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 6: 9. 3654-3652.
38. Tabrizi, L., Zavvari, A. and Yazdani, D. 2017. Response of growth and yield of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) to planting space and harvesting time. *Iran. J. Hort. Sci.* 48: 2. 317-327.
39. Tazeh, K., Piri, E. and Mostafavirad, M. 2016. Effects of plant density on flower and essential oil yield and some important agronomic indices in Borage (*Borago officinalis* L.). *J. Plant Prod. Res.* 22: 4. 87-100.
40. Zantar, S., E.I. Garrouj, D., Pagán, R., Chabi, M., Laglaoui, A., Bakkali, M. and Zerrouk, M.H. 2015. Effect of harvest time on yield, chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* essential oils. *Europ. J. Med. Plants.* 8: 2. 69-77.
41. Zeinali, H., Hosseini, H. and Shirzadi, M.H. 2014. Effects of nitrogen fertilizer and harvest time on agronomy, essential oil and menthol of *Mentha piperita* L. *Iran. J. Med. Aromat. Plants.* 30: 3. 486-495.
42. Zhao, J. 2006. The effect of nitrogen fertilization on spearmint. *J. E. Res.* 18: 452-455.
43. Zlatic, N.M. and Stanković, M.S. 2017. Variability of secondary metabolites of the species *Cichorium intybus* L. from different habitats. *Plants.* 6: 38.