

بررسی پاسخ اکولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه دارویی *Mentha piperita L.* در سطوح مختلف کودهای نیتروژنی در منطقه خوزستان

عادل پشت‌دار^{۱*}، علیرضا ابدالی مشهدی^۲، فواد مرادی^۳، سید عطا‌الله سیادت^۴، عبدالمهدی بخشنده^۵

^۱دانشجوی دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، خوزستان، ایران

^۲استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، خوزستان

^۳استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، البرز، ایران

^۴استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، خوزستان، ایران

^۵استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، خوزستان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۵ : تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۱۵

چکیده

نعناع فلفلی (*Mentha piperita L.*) گیاهی معطر دارویی است که کشت آن به دلیل فقر مواد آلی خاک در خوزستان محدود گشته است. از این رو انتخاب نوع و میزان کود چهت تصمین عملکرد مطلوب ضروری است. بدین منظور در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه رامین خوزستان در سال ۱۳۹۲-۹۳، آزمایشی فاکتوریل بر پایه بلورهای کامل تصادفی اجرا شد. عامل اول شامل سه فرم کود نیتروژنی مایع (اوره آمونیوم نیترات (UAN)، پودری (سولفات آمونیوم) و گرانولی (اوره) و عامل دوم شامل سطوح نیتروژن (صفر، ۷۰، ۱۴۰، ۲۱۰ و ۲۸۰ کیلوگرم بر هکتار) بود. تیمارها در سه تکرار اجرا گردید. برداشت در مرحله غنچه‌دهی صورت گرفت. اسانس برگ‌ها به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) استخراج و چهت شناسایی ترکیبات از دستگاه GC/MS استفاده شد. سطوح و نوع نیتروژن تأثیر معنی‌داری بر صفات رویشی، درصد اسانس و کارایی استفاده از نیتروژن داشت. با افزایش سطوح نیتروژن، صفات رویشی و درصد اسانس به صورت خطی افزایش یافت. تأثیر کود UAN بیشتر از اوره و سولفات آمونیوم بود. با این وجود، روند کارایی استفاده از نیتروژن نزولی بوده و کمترین کارایی را کود سولفات آمونیوم در سطح ۲۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار نشان داد. سطوح و نوع کود نیتروژن بر ترکیبات اسانس نیز تأثیرگذار بود. بیشترین محتوی متول در تیمار شاهد (۳۷/۱۶ درصد) و در سطح ۷۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار (۴۴/۳۸ درصد) بدست آمد. با این وجود کاربرد بیشتر نیتروژن به کاهش محتوی متول انجامید. علاوه بر این، اوره و سولفات آمونیوم به ترتیب بیشترین و کمترین اثر را بر محتوی متول داشتند. همچنین کاربرد UAN نیز کمترین میزان متوفوران (۱/۱۷ درصد) را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: آمونیوم، اسانس، اوره، متول، نعناع فلفلی، نیترات.

*مسئول مکاتبه: adelposhtdar@gmail.com

مقدمه

با به کارگیری فاکتورهای زراعی مناسب می‌توان در راستای افزایش عملکرد کمی و کیفی نعناع فلفلی گام برداشت. یکی از این فاکتورهای زراعی موثر در رشد و عملکرد کمی و کیفی، تغذیه کودی می‌باشد. عوامل بسیاری بر عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی تاثیر دارند که از این عوامل می‌توان به تغذیه گیاه اشاره کرد. نیتروژن یکی از مهمترین عناصری است که در تمام دوره‌های رشد گیاه ضروری بوده و در بسیاری از فرآیندهای متابولیسم گیاهان نقش اساسی دارد (Saxena, 2004). توجه به اثر قابل توجه نیتروژن در افزایش محصول از یک طرف و کاهش میزان آن در خاک از طرف دیگر باعث شده که محققان به طور فزاینده‌ای به مطالعه اثر کودهای نیتروژنی روی آورده و از آنها جهت افزایش تولید استفاده نمایند (Sahhar et al., 2006; Izadi et al., 2010). به طوری که تعدادی از پژوهشگران گزارش کرده‌اند که در نعناع فلفلی، زیست‌توده زیاد و عملکرد انسانس بالا در شرایطی بدست می‌آید که نیتروژن زیاد مصرف شود. همچنین با کاربرد سطوح مختلفی از نیتروژن روی نعناع فلفلی گزارش شده است که افزایش کودهای موجب بالا رفتن میزان انسانس در مقایسه با سطوح کمتر کودی می‌شود (Marotti et al., 2004) و مقادیر بالاتر از ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار را جهت افزایش انسانس و عملکرد در نعناع فلفلی توصیه شده است (Kasual, 1999). از طرفی خاک‌های ایران مشابه خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک از لحاظ میزان مواد آلی و نیتروژن فقیر هستند به همین دلیل مصرف زیاد کودهای شیمیایی نیتروژن‌دار برای دستیابی به عملکرد بالا در بسیاری از محصولات باغی و زراعی، لازم و ضروری است. وجود آهک و pH قلیایی، سنگین بودن بافت و سوء مدیریت در نحوه و مقدار مصرف کود، میزان اتلاف را تشدید می‌کند (Malakouti, 2004). امروزه تاثیر

تولید و پرورش گیاهان انسان‌دار در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری از سابقه بسیار طولانی برخوردار است و در بین گونه‌های انسان‌دار، گیاهان متعلق به سه خانواده گیاهی نعناعیان (نعمان، بادرنجبویه، زوفا، اسطوخودوس، آویشن)، آفتابگردان (بابونه، بومادران، ترخون، آرتیمیزا) و چتریان (گشنیز، بادیان رومی، شوید، زیره) از اهمیت بیشتری برخوردارند (Verma et al., 2010). نعناع فلفلی از جمله گیاهان دارویی است که به واسطه اثرات دارویی و استفاده غذایی، از دیرباز مورد توجه محققان بوده و استفاده گسترده انسان از نعناع فلفلی به ۲۵۰ سال قبل باز می‌گردد. استفاده فراوان از این گیاه در صنایع دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی، شیرینی‌سازی، نوشابه‌سازی و صنایع ادویه‌ای در داخل کشور و همچنین نیاز بازارهای خارجی لزوم کشت انبوه آن را در مناطق مستعد کشور ضروری می‌سازد (Omidbaigi, 2011) (Singh et al., 2011) و با ارزش اقتصادی بالاست که به مقدار زیاد در طعم‌دهنده‌ها و یا افزودنی‌های غذایی، خمیر دندان و دیگر محصولات بهداشتی و فرمولاسیون دارویی به کار می‌رود (Valmorbida and Boaro, 2007) (۰/۱ تا ۲/۵ درصد (با توجه به شرایط متفاوت اقلیمی) و شامل متداول (۲۸-۴۲ درصد)، متلون (۱۸-۲۸ درصد) و متوفوران (۶/۸ درصد) است. متلون و متلون اصلی‌تری اجزای انسان بوده و خواص ضدمیکروبی دارند (Yazdani et al., 2002). بر طبق استاندارد سازمان گیاه درمانی اروپا^۱ مقدار متلون معیار اصلی در تعیین کیفیت انسانس نعناع فلفلی است (Kumar et al., 2004).

1. European scientific cooperative on phototherapy

تولید مقادیر مناسب اسانس و با کیفیت نعناع فلفلی در اراضی خوزستان به دلیل فراهم بودن آب و تشعشع کافی، یکی از مهمترین اهداف تحقیق حاضر به شمار می‌رود. اراضی استان خوزستان به دلیل فقر شدید مواد آلی، از نظر علم تغذیه گیاهی دچار ضعف می‌باشد. با توجه به این موارد و ذکر این نکته که نعناع فلفلی گیاهی است با مصرف آب بالا و دور آبیاری کم (به دلیل کشت تابستانه)، بدین منظور آزمایشی جهت تعیین مناسب‌ترین سطح و فرم کود نیتروژنی در خاک خوزستان طراحی و اجرا گردید.

منبع و میزان مصرف کود بر میزان اتلاف نیتروژن مورد توجه بسیار قرار گرفته و بسیاری از پژوهشگران نشان داده‌اند که استفاده از کودهای نیتروژن‌دار گندرهاشونده، راندمان مصرف نیتروژن را افزایش و هزینه توزیع کود را کاهش می‌دهد (Kandil et al., 2010). در خاک‌های آهکی و قلیایی جای‌گذاری کودهای آمونیومی و اوره در عمق مناسب منجر به کاهش اتلاف نیتروژن به صورت گاز آمونیاک می‌شود (Malakouti et al., 2008).

جدول ۱: برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

فسفردر دسترس	پتاسیم در دسترس	pH	کربن آلی (ds/m)	هدایت الکتریکی (%)	نیتروژن کل (%)	بافت خاک	عمق خاک
۳/۰۷	۶/۲۷	۷/۵	۲/۲۳	۰/۷۱	۰/۰۷۹	سیلتی-رسی	۰-۳۰

توجه به چند ساله بودن گیاه به میزان ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار قبل از کاشت به خاک داده شد. سپس به کمک روتویاتور عملیات مخلوط کردن کود فسفر و تسطیح انجام گرفت. هر کرت شامل ۶ خط کاشت به عرض ۲ متر و به طول ۲ متر بود. جهت جلوگیری از ورود کود نیتروژن همراه آبیاری از کرتهای مجاور، بین هر کرت و کرت مجاور آن ۲ متر و جهت جلوگیری از ورود کود نیتروژن همراه آبیاری از کاتانال بلوک‌های مجاور یک جوی آبیاری و یک کاتانال زهکشی جداگانه فراهم گردید. با آماده شدن زمین کشت ریزوم‌های نعناع فلفلی به صورت دستی و با فواصل ۳۰ و عمق ۶ سانتی‌متری خاک انجام شد. در طول مدت رشد گیاه با توجه به شرایط محیطی محل آزمایش، آبیاری انجام گردید. در طول فصل رشد مبارزه با علف‌های هرز که عمدها اویار سلام و پیچک صحرایی بود، به صورت دستی انجام شد و از مصرف هر گونه سموم و علف کش خودداری گردید. در این

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۲-۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان اجرا شد. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح نیتروژن (۰، ۷۰، ۱۴۰، ۲۱۰ و ۲۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار) به عنوان عامل اول و نوع کود گرانوله (اوره)، مایع (اوره آمونیوم نیترات (UAN^۱)) و پودری (سولفات آمونیوم) به عنوان عامل دوم اعمال شد. از نظر درصد نیتروژن هر کود اوره، سولفات آمونیوم و UAN به ترتیب حدوداً دارای ۴۶، ۲۱ و ۳۳ درصد نیتروژن هستند. در هر تیمار کودی، ۲۰ درصد کود پس از استقرار گیاه و ما بقی در چهار مرحله به همراه آب آبیاری داده شد. عملیات آماده‌سازی زمین شامل آبیاری اولیه، دیسک عمیق، سپس دوبار دیسک عمود برهم جهت خرد کردن کلوخه‌ها و توزیع کود فسفر با

1. Urea Ammonium sulfate

قبل از انجام تجزیه، آزمون نرمال بودن داده‌ها صورت گرفت. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، عمل تجزیه واریانس صورت گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها بدون سطح صفر انجام شد و میانگین داده‌های کرت شاهد (عدم مصرف کود) در نمودارها لحاظ شد، سپس عمل تجزیه رگرسیون میانگین داده‌ها انجام شد. تمامی محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SAS 9.1 و Minitab صورت پذیرفت.

نتایج

نتایج آنالیز واریانس صفات مورد مطالعه (جدول ۱) نشان داد که سطوح مختلف کود نیتروژن و نوع کود بر کلیه صفات مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نشان دادند و اثر متقابل سطوح نیتروژن و نوع کود بر صفات عملکرد خشک برگ، شاخص سطح برگ، نیتروژن برگ و کارایی جذب و استفاده از نیتروژن در سطح احتمال ۹۹ درصد و عملکرد خشک ساقه، نیتروژن ساقه و درصد انسانس در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی‌دار بود.

عملکرد خشک برگ: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات متقابل منع کود نیتروژن و سطوح نیتروژن بر عملکرد خشک برگ ($P < 0.05$) معنی‌دار بود. منابع نیتروژنی به صورت متفاوتی به سطوح نیتروژن واکنش نشان داده‌اند و با افزایش مقدار نیتروژن ماده خشک برگ افزایش یافت و نمودار پراکنش داده‌ها (عملکرد خشک برگ در مقابل سطوح نیتروژن) نشان می‌دهد که واکنش به سطوح نیتروژن حالت خطی دارد (شکل ۱-الف).

معادله^۱: NUE = کارایی استفاده از نیتروژن (گرم برگ خشک بر گرم نیتروژن)، LYLD_f: عملکرد برگ نعناع فلفلی در کرت کود داده شده (گرم در مترمربع) و N_f : میزان کود نیتروژن استفاده شده (گرم در مترمربع) می‌باشد.

شناسایی ترکیب‌های شیمیایی انسانس: انسانس با استفاده از سولفات سدیم خشک آبغیری گردید و با روش تجزیه دستگاهی توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌نگار جرمی در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه آنالیز گردید. شناسایی و تجزیه ترکیب‌های انسانس با بررسی طیف‌های جرمی حاصل از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سننج جرمی (GC/MS) Agilent (MS 5875 C, GC7890) مدل مقایسه این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد صورت خواهد گرفت. مشخصات دستگاه عبارت است از ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۰۵ میلی‌متر، مد یونیزاسیون EI و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت خواهد بود. برنامه حرارتی آون ۵ دقیقه در ۵۰ درجه سانتی‌گراد، سپس ۵۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با شیب ۳ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد با شیب ۱۵ درجه سانتی‌گراد خواهد بود. دمای محل تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم خواهد شد. گاز هلیوم و سرعت حرکت آن ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه خواهد بود. شناسایی طیف‌ها با مقایسه مؤلفه‌ها با ترکیب‌های استاندارد با استفاده از زمان بازداری ترکیب‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های (RI) و اندیس بازداری (RT) و Adams، اطلاعات موجود در منابع معتبر علمی (2004) صورت گرفت.

1. Nitrogen Use Efficiency

جدول ۲: تجزیه واریانس (میانگین مربعات) پارامترهای اکولوژیکی نعناع فلفلی (*Mentha piperita L.*) در سطوح انواع کود نیتروژنی

میانگین مربعات	درجه آزادی	منابع تغییر	بلوک				
عملکرد خشک برگ	عملکرد خشک ساقه	شاخص سطح برگ	نیتروژن ساقه	نیتروژن اسانس	کارایی جذب نیتروژن	درصد استفاده اسانس	کارایی استفاده اسانس
۳۱۲۸۱**	۳۲۷۱۲**	۱/۶۲**	۴/۳۷**	۰/۰۲۹**	۱۵۰/۹۶۹**	۶/۴۵**	۶/۴۵**
۷۰۷۴۲**	۶۸۱۳۰**	۱۵/۰۵**	۱۶۷۱**	۰/۲۱**	۵۹۲/۶۶**	۱۳۳/۷۵۲**	۱۳۳/۷۵۲**
۶۵۳۳*	۲۴۷۵**	۰/۰۷۶*	۱/۸۳*	۰/۰۴۷**	۳۳۱/۰۸*	۷/۱۵**	۷/۱۵**
۴۹۴۸*	۷۶۱۸*	۰/۰۸۳**	۲۰/۰۵**	۰/۱۱*	۵۱۸/۸۵**	۵۱/۵۴**	۵۱/۵۴**
۱۳۳۰	۵۱۴۹۷	۳/۴۵	۳۲/۴۹	۸/۷۵	۱/۲۷	۸۵/۰۳	۵/۸۶
-	۱۱/۸	۱۳	۶/۷	۱۵/۱۷	۹/۶	۱۵/۲	۷/۲

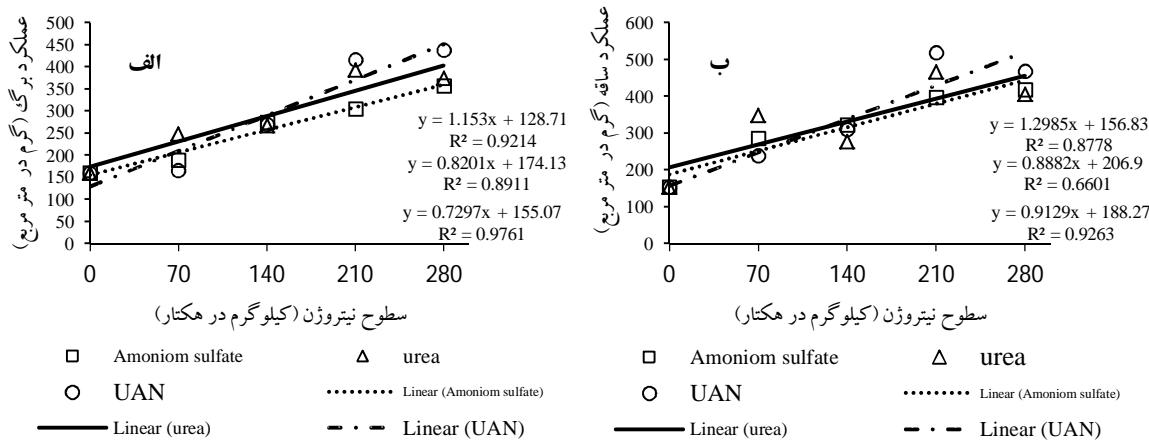
ms و ** به ترتیب غیر معنی داری و معنی داری در سطح احتمال ۹۵ و ۹۹ درصد

آمونیوم (۰/۹۱ گرم در مترمربع) گردید (شکل ۱-ب). به طوری که بیشترین عملکرد خشک ساقه در سطح ۲۱۰ کیلوگرم حاصل شد و با مصرف بیشتر نیتروژن مصرفی، وزن خشک ساقه در سه فرم نیتروژن کاهش یافت اما میزان کاهش آن در کود اوره بیشتر از سولفات آمونیوم مشاهده شد.

محتوی نیتروژن برگ: طبق جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر متقابل سطوح نیتروژن و کودهای نیتروژنی بر نیتروژن برگ در سطح احتمال خطای ۱ درصد معنی دار بود. تجزیه رگرسیون اثارت متقابل نشان داد واکنش نیتروژن برگ به سطوح نیتروژن در کود UAN، اوره و سولفات آمونیوم (با ضریب اطمینان ۹۷ و ۹۸ درصد) با یک منحنی خطی قابل توصیف است. در ابتدا عملکرد نیتروژن برگ اوره و سولفات آمونیوم، بیشتر از UAN بود اما با افزایش مقدار نیتروژن شیب افزایش UAN بیشتر بوده (شکل ۲-الف) به طوری که حداقل نیتروژن برگ در UAN (۱۶/۶۷ گرم در مترمربع)، اوره (۱۴ گرم در مترمربع) و سولفات آمونیوم (۱۱/۶۴ گرم در مترمربع) از سطح ۲۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار آنها بدست آمد و روند افزایش نیتروژن برگ همواره در هر سه فرم کودی، روندی افزایشی بود.

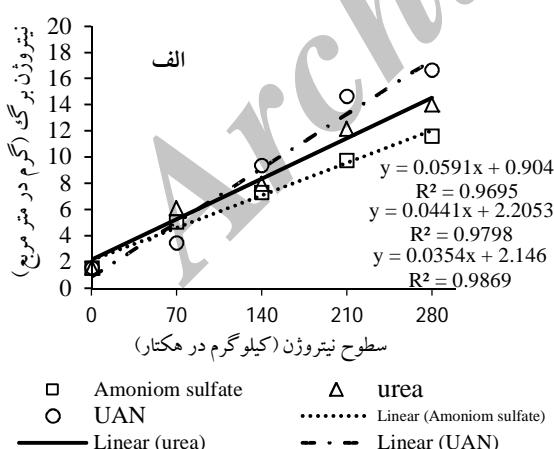
طبق معادله خطی برآشش یافته در سطح ۷۰ کیلوگرم، کودهای اوره و UAN واکنش بهتری نشان دادند و نسبت به سولفات آمونیوم به ترتیب رشد ۱۲/۳۹ و ۱/۴۵ درصدی داشتند، اما از سطح ۷۰ Kg/ha نیتروژن به بعد نرخ رشد هر سه نوع کود تغییر کرد و کود UAN به ازاء هر کیلوگرم نیتروژن مصرفی در هکتار، ۱/۱۵۳ گرم وزن خشک در مترمربع به عملکرد خشک برگ اضافه کرد، در صورتی که این مقدار برای اوره (۸۲ گرم در مترمربع) و سولفات آمونیوم (۷۲ گرم در مترمربع) کمتر بود و حداقل عملکرد خشک برگ از سطح ۲۱۰ Kg/ha نیتروژن بدلست آمد. با افزایش مصرف کود بیش از ۲۱۰ Kg/ha نیتروژن، در کود UAN ماده خشک برگ ثابت ماند اما در کود اوره و سولفات آمونیوم به ترتیب کاهش و افزایش یافت.

عملکرد خشک ساقه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات متقابل منع کود نیتروژن و سطوح نیتروژن بر عملکرد خشک ساقه معنی دار ($P < 0.05$) بود. عملکرد خشک ساقه نعناع با کاربرد کود UAN، اوره و سولفات آمونیوم در سطوح نیتروژن افزایش یافت اما کود UAN با شیب بیشتری (۱/۳۰ گرم در مترمربع) سبب افزایش صفت عملکرد خشک ساقه نعناع فلفلی نسبت به اوره (۰/۸۸ گرم در مترمربع) و سولفات

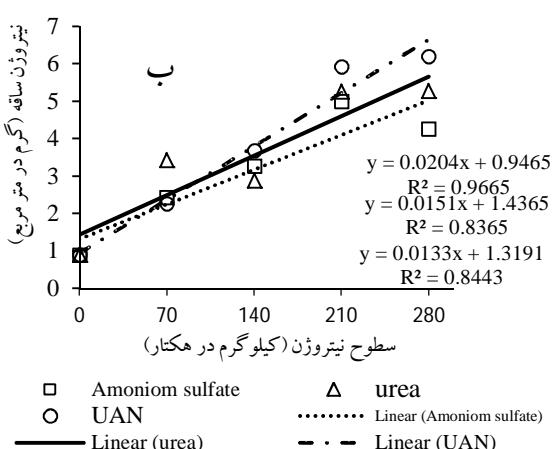


شکل ۱: تاثیر سطوح انواع کود نیتروژنی بر عملکرد خشک برگ (الف) و ساقه (ب) نعناع فلفلی

افزایش یافت و این مقدار برای کود اوره (۰/۰۱۵ گرم در مترمربع) و UAN (۰/۰۲۰ گرم در مترمربع) به ازای هر کیلوگرم نیتروژن مصرفی بود (شکل ۲-ب). حداقل میزان نیتروژن ساقه در سطح ۲۱۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بدست آمد و با مصرف نیتروژن بیشتر از ۲۱۰ تا سطح ۲۸۰ کیلوگرم در هکتار، میزان نیتروژن ساقه در کودهای اوره و UAN ثابت ماند در حالی که در کود سولفات آمونیوم نیتروژن ساقه کاهش یافت.



محتوی نیتروژن ساقه: طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲)، تاثیر سطوح نیتروژن، انواع کودی بر محتوی نیتروژن ساقه نعناع فلفلی در سطح احتمال خطای ۱ درصد و اثر متقابل آنها در سطح احتمال خطای ۵ درصد معنی دار بود. با افزایش سطوح نیتروژن از منبع هر سه کود، نیتروژن ساقه در کود سولفات آمونیوم کمتر از اوره و UAN افزایش یافت. طبق معادله خطی نیتروژن ساقه با مصرف کود سولفات آمونیوم با شیب ۰/۰۱۳ گرم در متر مربع



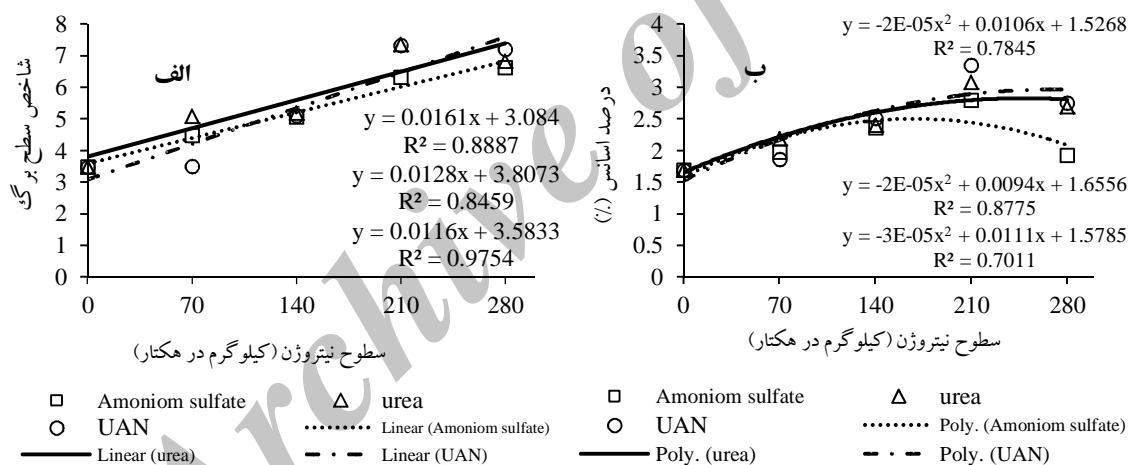
شکل ۲: تاثیر سطوح انواع کود نیتروژنی بر نیتروژن برگ (الف) و نیتروژن ساقه (ب) نعناع فلفلی

سطح برگ نعناع فلفلی در سطح احتمال خطای ۱ درصد و اثر متقابل آنها در سطح احتمال خطای ۵

شاخص سطح برگ: نتایج تجزیه واریانس نشان داد تاثیر سطوح نیتروژن و انواع کود نیتروژنی بر شاخص

درصد اسانس برگ: بر اساس جدول تجزیه واریانس اثر متقابل سطوح نیتروژن و نوع کود بر درصد اسانس برگ، درصد اسانس برگ نعناع فلفلی تحت تاثیر اثرات متقابل سطوح نیتروژن و منبع کود قرار گرفت ($P < 0.05$). بر اساس تابع واکنش درصد اسانس به UAN سطوح نیتروژن، حداقل درصد اسانس برگ در ۰/۹۲ (درصد)، اوره (۳ درصد) و سولفات آمونیوم (۵ درصد) به ترتیب از سطح ۲۵۰، ۲۳۵ و ۱۸۵ کیلوگرم نیتروژن در هکتار آنها بدست آمد و پس از این مقدار نیتروژن درصد اسانس آنها شروع به کاهش نمود. بنابراین سطوح بالای کود سولفات آمونیوم شدیدتر از کود اوره و UAN، درصد اسانس نعناع فلفلی را کاهش داد.

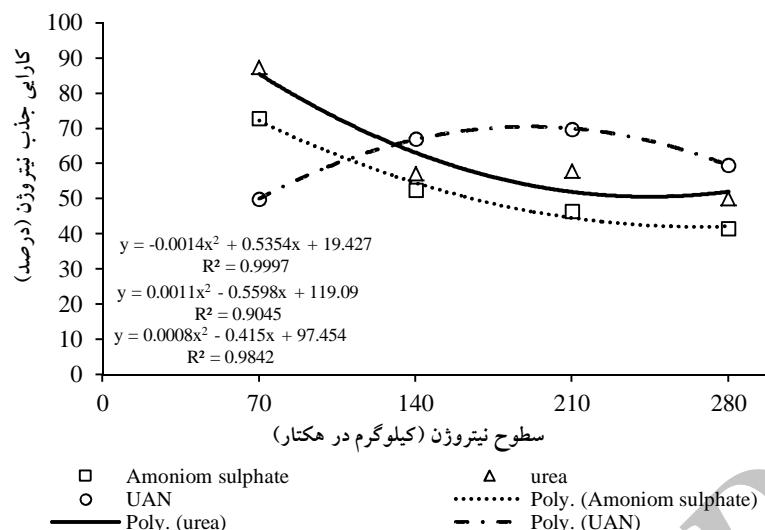
درصد معنی دار بود (جدول ۲). با افزایش مقدار کود هر سه نوع کود شاخص سطح برگ بصورت خطی افزایش یافت. اوره و سولفات آمونیوم با شبیه تقریباً یکسان (به ترتیب ۱۱/۰ و ۱۲/۰) به ازای هر کیلوگرم نیتروژن، شاخص سطح برگ نعناع فلفلی را افزایش دادند ولی در سطوح پایین نیتروژن، کود UAN سطح برگ کمی تولید کرده و با افزایش مقدار نیتروژن، شاخص سطح برگ و تولید برگ آن با شدت و شبیه بیشتری نسبت به اوره و سولفات آمونیوم افزایش یافت (شکل ۳-الف). حداقل شاخص سطح برگ از سطح ۱۰/۲ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بدست آمد. مصرف نیتروژن بیش از آن در سه فرم کود نیتروژنی، تغییری در شاخص سطح برگ ایجاد نکرد و ثابت ماند.



شکل ۳- تاثیر سطوح انواع کود نیتروژنی بر شاخص سطح برگ (الف) و درصد اسانس برگ (ب) نعناع فلفلی

کارایی مصرف نیز با شبیه ملایم افزایش یافت و سپس کاهش یافت، اما در اوره و سولفات آمونیوم با افزایش میزان نیتروژن مصرفی، کارایی جذب نیتروژن همواره روندی کاهشی نشان داد (شکل ۴). این وضعیت ممکن است به دلیل عملکرد بسیار پایین UAN در سطح ۷۰ کیلوگرم نیتروژن و سپس عملکرد خشک بالای آن در سطح بالاتر نیتروژن به وجود آمده باشد.

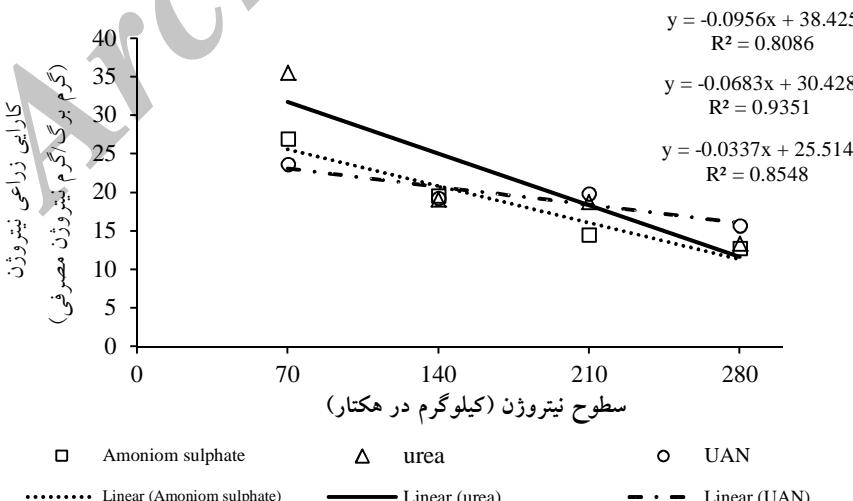
کارایی جذب نیتروژن: نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر سطوح نیتروژن و منابع کود بر کارایی جذب نیتروژن به ترتیب در سطح احتمال خطای ۱ و ۵ درصد و اثر متقابل آنها در سطح احتمال خطای ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد واکنش سه نوع کود نیتروژنی متفاوت بود به طوری که در کود UAN برخلاف اوره و سولفات آمونیوم ابتدا کارایی جذب نیتروژن پایین بوده و با افزایش میزان نیتروژن



شکل ۴: تاثیر سطوح کود نیتروژنی بر کارایی جذب نیتروژن در نعناع فلفلی

کارایی استفاده نیتروژن بالاتری نشان دادند اما با افزایش مصرف نیتروژن، کود UAN کارایی استفاده نیتروژن بهتری نسبت به اوره و سولفات آمونیوم نشان داد به طوری که شبکه کاهش آن برای اوره و سولفات آمونیوم بیشتر بود (به ترتیب 0.068 و 0.095 -گرم بر گرم نیتروژن مصرفی) اما UAN با شبکه کمتر (0.033 -گرم بر گرم نیتروژن مصرفی) کارایی را کاهش داد (شکل ۵).

کارایی استفاده نیتروژن: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر سطوح نیتروژن و اثر مقابله سطوح نیتروژن و نوع کود بر کارایی استفاده نیتروژن در سطح احتمال خطای ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). توابع رگرسیونی نشان داد افزایش سطح نیتروژن در هر سه نوع کود بصورت خطی کارایی استفاده نیتروژن را در نعناع فلفلی کاهش می‌دهد. در سطوح پایین نیتروژن کود اوره و سولفات آمونیوم نسبت به کود UAN



شکل ۵: تاثیر سطوح انواع کود نیتروژنی بر کارایی استفاده از نیتروژن در نعناع فلفلی

یافتند، به طوری که حداقل محتوی ترکیبات اسانس در سطح عدم مصرف و نیز ۷۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و کمترین مقدار آنها در سطح ۲۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار مشاهده شد. در مقایسه سطح ۲۱۰ کیلو گرم هر سه نوع کود نیز مشاهده شد کود اوره در ترکیباتی مانند پیریتون، سابین، بتا پینن، لیمونن و سینئول نسبت به UAN و سولفات آمونیوم واکنش بهتری داشت. در کود سولفات آمونیوم درصد ترکیبات اسانس پایین‌تر از کودهای اوره و UAN مشاهده شد و میزان پولگون در کود سولفات آمونیوم کمتر از سایر کودها در سطح ۲۱۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بود. سایر نتایج ترکیبات اسانس در جدول ۳ ارائه شده است.

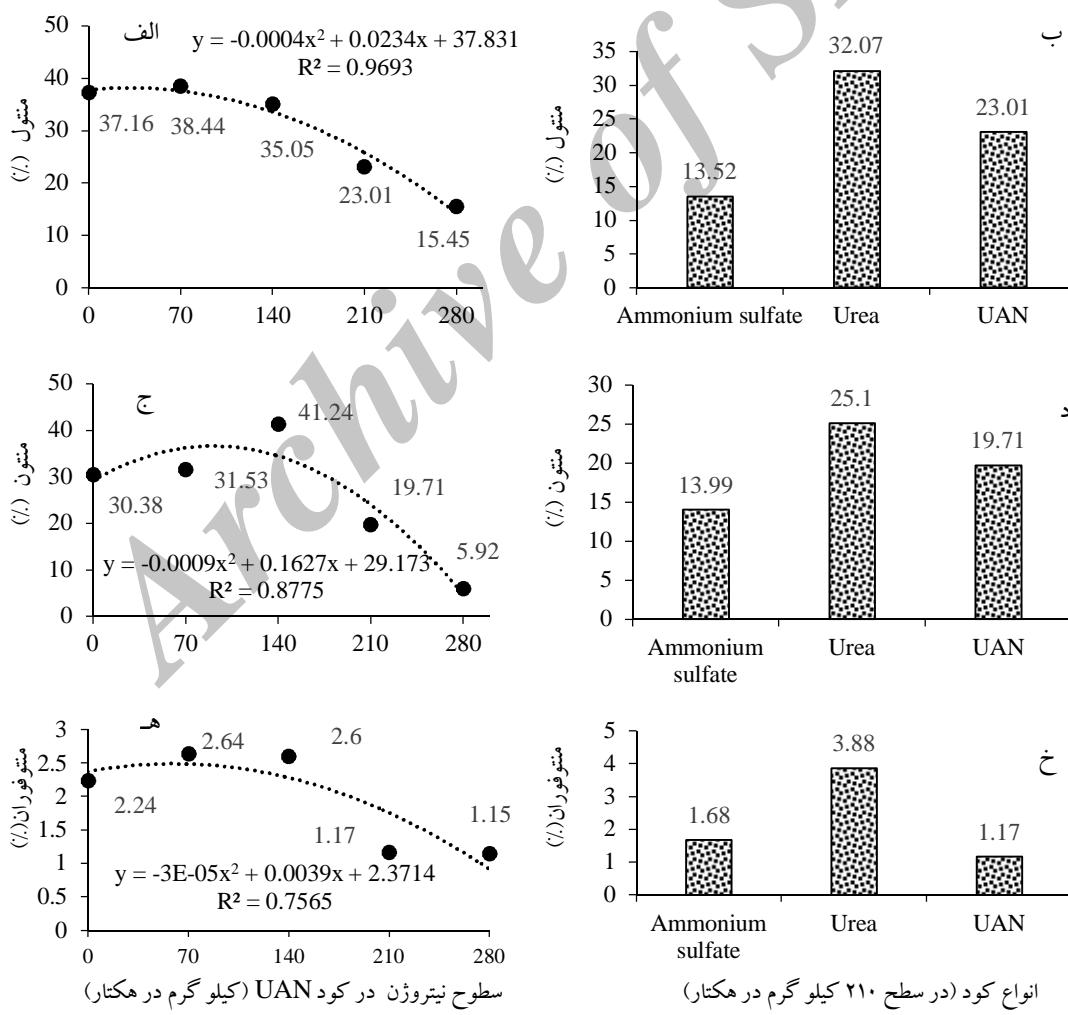
با توجه به نتایج ذکر شده و برتری نسبی کود UAN نسبت به اوره و سولفات آمونیوم، تمامی سطوح کود UAN و همچنین جهت مقایسه بهترین سطح هر سه نوع کود (۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار) از لحاظ ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، خصوصاً ترکیبات اصلی آن یعنی میزان متول، متوفوران و متون نعناع فلفلی، پاسخ فیتوشیمیایی این سطوح مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۳). با توجه به اهمیت متول، متوفوران و متون نسبت به سایر ترکیبات اسانس، تغییرات این سه ترکیب تجزیه و نمودار آنها رسم گردید (شکل ۶). براساس نتایج تجزیه ترکیبات اسانس با افزایش میزان نیتروژن در هکتار، میزان ترکیبات اسانس در کود UAN کاهش

جدول ۳: ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita L.*) در سطوح مختلف انواع کود نیتروژنی

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری RI	عدم مصرف نیتروژن UAN	سطح ۷۰ UAN	سطح ۱۴۰ UAN	سطح ۲۱۰ UAN	سطح ۲۸۰ UAN	سطح ۲۱۰ Urea	سطح ۲۱۰ A.sulfat
۱	α -pinene	۹۳۹	۰/۰۷	۰/۱۹	۰/۱۲	۰/۱۵	–	۰/۱۳	۰/۱
۲	sabinene	۹۷۵	۰/۰۷	۰/۱۶	۰/۱۳	۰/۱۲	–	۰/۱۳	۰/۱۵
۳	β -pinene	۹۷۹	۰/۱۴	۰/۳۴	۰/۲۵	۰/۲۴	–	۰/۲۴	۰/۲۹
۴	myrcene	۹۹۱	۰/۰۵	۰/۰۸	۰/۰۷	۰/۰۷	–	۰/۰۶	–
۵	octanol 3-	۹۹۱	۰/۱	۰/۱۱	۰/۱	۰/۰۵	–	۰/۰۶	–
۶	limonene	۱۰۲۹	۰/۴۲	۰/۶۷	۰/۷۷	۰/۸۸	۰/۵۵	۰/۶۳	۰/۲۹
۷	cineole 1,8	۱۰۳۱	۲/۱۵	۳/۵	۳/۱۲	۰/۱۵	۱/۶	۲/۴۸	۱/۴
۸	β - ocimene (z)	۱۰۳۷	۰/۰۳	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۱۳	–	۰/۰۳	–
۹	sabinene hydrate cis	۱۰۷۰	۰/۶۸	۱	۰/۸۶	۰/۳۴	–	۰/۷۷	۰/۴۶
۱۰	terpinolene	۱۰۸۹	۰/۰۶	۰/۲۳	۰/۰۴	–	–	۰/۰۴	۰/۱۴
۱۱	sabinene hydrate trans	۱۰۹۰	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۷	۰/۰۵	–	۰/۰۳	–
۱۲	linalool	۱۰۹۷	۰/۲۳	–	۰/۲۱	۰/۱۲	۰/۹۷	۰/۱۸	۰/۱۴
۱۳	menthone	۱۱۵۳	۳۰/۳۸	۳۱/۵۳	۴۱/۲۴	۱۹/۷۱	۵/۹۲	۲۵/۱	۱۳/۹۹
۱۴	iso-menthone	۱۱۶۳	۷/۷۲	۷/۸۶	۷/۸	۵/۱۶	۲/۰۷	۵/۶۷	۲/۵۶
۱۵	menthofuran	۱۱۶۴	۲/۲۴	۲/۶۴	۲/۶	۱/۱۷	۱/۱۵	۳/۸۸	۱/۶۸
۱۶	δ - terpineol	۱۱۶۶	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲	–	۰/۲۳	–
۱۷	menthol	۱۱۷۲	۳۷/۱۶	۳۸/۴۴	۳۵/۰۵	۲۳/۰۱	۱۵/۴۵	۳۲/۰۷	۱۳/۵۲
۱۸	terpinen-4-ol	۱۱۷۷	۰/۷۹	۰/۷	۰/۸۷	۰/۹۷	–	۰/۱۸	۰/۲۹
۱۹	pulegone	۱۲۳۷	۱/۹	۱/۰۲	۱/۲	۰/۸۲	–	۱/۱۴	۰/۴۵
۲۰	piperitone	۱۲۵۳	۰/۵۸	۰/۵۲	۰/۶۱	۰/۳	–	۰/۳۳	۰/۱۶
۲۱	menthyl acetate	۱۲۹۵	۳/۴۵	۲/۳۵	۲/۲۸	۲/۴۷	۱/۴۸	۲/۳۸	۱/۱۸
۲۲	germacrene d	۱۴۸۵	۳/۶۴	۲/۴۷	۲/۳	۱/۵۲	۰/۴۴	۲/۵	۰/۷۸

کاهش نمود (شکل ۶-ج) و در مقایسه سطح ۲۱۰ کیلوگرم سه نوع کود مشاهده شد که درصد متنون در نعناع همانند متنول در تیمار اوره (۲۵/۱) بیشتر از UAN (۱۹/۷) درصد و سولفات آمونیوم (۱۳/۹۹) مشاهده شد (شکل ۶-د). میزان متنوفوران در نعناع فلفلی با افزایش سطوح نیتروژن کود UAN بصورت معادله درجه دو کاهش یافت و حداقل در سطح ۷۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بدست آمد و پس از آن ثابت ماند، سپس کاهش یافت (شکل ۶-ه). از طرفی سطح ۲۱۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره (۳/۸۸ درصد) نسبت به UAN (۲/۶۴) و سولفات آمونیوم (۱/۶۸) درصد متنوفوران بیشتری را در نعناع فلفلی سبب شد (شکل ۶-خ).

بر اساس نتایج می‌توان گفت با افزایش میزان نیتروژن کود UAN، درصد متنول بصورت یک معادله درجه دو کاهش یافت که طبق معادله، حداقل آن (۲۹/۲۵ درصد) از حدود ۳۸ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار بدست می‌آید و با مصرف نیتروژن بیشتر، میزان متنول کاهش یافت (شکل ۶-الف). در مقایسه سه نوع کود نیتروژنی در سطح ۲۱۰ کیلوگرم در هکتار، بیشترین درصد متنول را کود اوره (۳۲/۰۷ درصد) و پس از آن UAN (۲۳/۰۱ درصد) داشت (شکل ۶-ب). با افزایش سطوح نیتروژن کود UAN، میزان متنون در نعناع فلفلی تا سطح ۱۴۰ کیلوگرم در هکتار روندی افزایشی داشته و پس از آن با افزایش نیتروژن مصرفی کود UAN، درصد متنون شروع به



شکل ۶: تاثیر سطوح نیتروژن (الف، ج و ه) و انواع کود (ب، د و خ) بر درصد متنول (RI=1172)، متنون (RI=1153) و متنوفوران (RI=1164) در نعناع فلفلی

آمد و سطوح اوره از بین تمام منابع کودی، افزایش کمتری را باعث گردید (Saiedi gragani et al., 2014). در آزمایشی با کاربرد کودهای نیتروژن، جذب نیتروژن به صورت معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت و از لحاظ غلظت نیتروژن، بیشترین مقدار مربوط به نیترات آمونیوم بود که با تیمارهای اوره و اوره با پوشش گوگردی اختلاف معنی‌دار نشان داد (Noor gholi pour et al., 2008) در آزمایشی بیشترین سطح برگ و تعداد برگ نعناع فلفلی مربوط به تیمار ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بود که با تیمارهای ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم اختلاف آماری معنی‌داری نشان داد. در واقع اثر افزایشی نیتروژن در تعداد برگ به نقش نیتروژن در متابولیسم گیاه مربوط می‌شود و موجب افزایش فرآورده‌های فتوستمزی و در نتیجه افزایش رشد رویشی مانند تعداد و سطح برگ می‌شود (Izadi et al., 2010). از طرفی افزایش شاخص سطح برگ و توزیع مناسب برگ‌ها در کانونی گیاهی به عنوان یک مزیت در افزایش عملکرد بیان شده است (Wilson and Teare, 1972).

بررسی معتقدند که در تولید نعناع فلفلی، زیست‌توده زیاد و عملکرد انسانس بالا در شرایطی به دست خواهد آمد که نیتروژن زیاد مصرف شود و افزایش کوددهی موجب بالارفتن میزان انسانس در مقایسه با سطوح کمتر کودی می‌شود (Marotti et al., 2004). عملکرد انسانس در گونه‌های نعناع فلفلی به طور معنی‌داری وقتی ازت بیشتر از ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار مصرف شود، افزایش خواهد یافت (Singh et al., 2003). به نظر می‌رسد که با افزایش جذب نیتروژن، از کارایی هر واحد نیتروژن برای تولید گیاه کاسته شده باشد (Ameri et al., 1993). عامری و همکاران (Gerdon et al., 2007) گزارش کردند با افزایش سطوح نیتروژن، کارایی بازیافت نیتروژن کاهش یافت و از ۷۷ درصد در سطح ۵۰ کیلوگرم نیتروژن به ۵۵ درصد

بحث

کاربرد صحیح و مناسب عناصر و موادغذایی در طول مراحل کاشت، داشت و برداشت گیاهان دارویی، نه تنها نقش عمدہ‌ای در افزایش عملکرد دارد، بلکه در کمیت و کیفیت مواد مؤثره آنها نیز مؤثر است. در این آزمایش نتایج نشان داد رفتار سه فرم کود نیتروژنی در عملکرد کمی و کیفی نعناع فلفلی متفاوت بود، در سطوح پایین نیتروژن کود اوره و سولفات آمونیوم بهدلیل فرم تامین نیتروژن و از طرفی آبشویی کمتر آنها، عملکرد خشک برگ، ساقه، شاخص سطح برگ و محتوی نیتروژن بالاتری نسبت به UAN نشان دادند اما با افزایش نیتروژن مصرفی در کود UAN، بهدلیل جراثم آبشویی نیتروژن نسبت به اوره و سولفات آمونیوم واکنش بهتری نشان داد. به طوری که کارایی جذب و استفاده از نیتروژن آن بیش از اوره و سولفات آمونیوم مشاهده شد. با افزایش نیتروژن تا سطح ۲۱۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، ماده خشک برگ، ساقه، درصد انسانس، محتوی نیتروژن گیاه و کارایی جذب و استفاده از نیتروژن نعناع فلفلی را افزایش داد اما از سطح ۲۱۰ تا سطح ۲۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، احتمالاً بهدلیل تحریک بیشتر رشد رویشی و افزایش شاخصاره، روند تولید ماده خشک، محتوی انسانس و کارایی جذب و استفاده از نیتروژن ثابت ماند و یا کاهش یافت. در بررسی تاثیر سطوح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بر عملکرد اندام هوایی نعناع فلفلی گزارش شده است با افزایش مصرف نیتروژن تا ۳۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار، عملکرد افزایش یافت و کمترین عملکرد در سطح ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن بدست خواهد آمد (Zeinali et al., 2014). همچنین در واکنش گیاه جعفری به مقادیر صفر، ۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰ کیلوگرم منابع نیتروژن بیشترین عملکرد بوته در سطح ۱۵۰ و از منبع نیترات کلسیم بدست

کمترین عملکرد نعناع فلفلی در سطح ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن بدست آمد. همچنین کاربرد مقادیر مختلف نیتروژن را روی میزان و نوع ترکیب‌های اسانس در نعناع فلفلی نشان داد. افزایش اسانس با کاربرد بیشتر کود نیتروژن همسوی داشته است و ترکیب‌هایی همانند آلفا-تریپینول، متون، لیمونن، آلفا-پین، بتا-پینو سایینن تحت تأثیر کوادازت قرار نگرفته، در حالی که مقدار متول واژومتول با افزایش کود نیتروژن افزایش یافته و ترکیب‌هایی همانند پولگون، لیمالولونومتول با افزایش کود نیتروژن، روندنزولی رادرپی داشته است (Zeinali et al., 2014).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این حقیقت بیان کرد که هر سه منبع نیتروژنی نقش ارزنده‌ای بر صفات عملکردی و ترکیبات اسانس نعناع فلفلی، در اراضی فقیر از ماده آلی، داشته است. همان‌طور که مشاهده شد، عملکرد خشک، درصد اسانس و متول نعناع فلفلی در منطقه مورد آزمایش بالا بوده به منظور حصول عملکرد اقتصادی مناسب به نظر می‌رسد چنان‌چه میزان ۱۴۰ تا ۲۱۰ کیلوگرم در هکتار از کوداوره آمونیوم نیترات (UAN) در طی فصل رشد مصرف گردد، بالاترین میزان تولید خشک و اسانس حاصل خواهد شد.

References

- Adams, R.P. 2004. Identification of essential oil components by gas-chromatography mass spectroscopy. Allured Publishing, Carol Stream, USA, 456p.
- Ameri, A., Nassiri, M., Rezvani, P. 2007. Effects of different nitrogen levels and plant density on flower, essential oils and extract production and nitrogen use efficiency of Marigold (*Calendula officinalis*). Iranian Journal of Field Crops Research. 5(2):15-325. (In Persian).
- Duhan, S.P.S., Bhattacharya, A.K., Husain, A. 1977. Effect of N and its

در سطح ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار کاهش یافت. همچنین بیان داشتند که با افزایش مقدار نیتروژن، کارایی زراعی نیتروژن کاهش می‌یابد و از ۶۴ گرم گل خشک بر گرم نیتروژن در سطح ۶۰ به ۱۵۰ گرم گل خشک در گرم نیتروژن در سطح ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار کاهش یافت.

از اهداف کشت گیاه نعناع فلفلی، تولید اسانس و بهویژه متول آن به منظور مصارف مختلف دارویی و بهداشتی می‌باشد، بنابراین انداره‌گیری صفات کیفی در این گیاه در اولویت قرار دارد. در این آزمایش از بین ترکیبات اسانس نعناع فلفلی، متول، متون و متوفوران مهمترین ترکیبات اسانس آن بوده به طوری که در سطوح پایین نیتروژن بین ۷۰ تا ۸۰ درصد از مجموع ترکیبات اسانس را این سه ترکیب شامل می‌شوند و با افزایش نیتروژن در سطح ۲۸۰ کیلوگرم بین ۲۰ تا ۴۰ درصد از مجموع ترکیبات اسانس نعناع فلفلی را تشکیل دادند. به عبارتی با افزایش مصرف کودهای نیتروژنی تولید ترکیبات اصلی اسانس کمتر شد و احتمالاً دلیل آن مصرف بیشتر فرآورده‌های گیاهی در مسیر رشد و نمو گیاه باشد و کمتر صرف تولید متابولیت‌های ثانویه و اجزای اصلی اسانس شود. محققان گزارش کردند که متول و متون ترکیبات اصلی اسانس نعناع هستند، که در مجموع، متون، متوفوران، ایزو متون، پولگون، او ۸ سیتوول و لیمونن با افزایش کود نیتروژنی افزایش می‌یابد، اما در مورد متول، سیس کاروان اکساید، ترانس پیپریتول استات و دی گرم اکردن بر عکس گزارش شده است (Duhan et al., 1977; Hornok, 1983). البته محققان دیگری در بررسی تأثیر سطوح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بر درصد متول نعناع فلفلی مشاهده شد که با افزایش مصرف نیتروژن تا ۳۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار، درصد اسانس و درصد متول افزایش یافت و

- methods of application on the herb and quality of corn mint. Indian Perfume. 21: 135–138.
4. Gerdon, W.B., Whitney, B.A., Raney, R.J. 1993. Nitrogen management in furrow irrigated, ridge- tilled corn. Journal of Product Agriculture. (6): 213-217.
 5. Hornok, L. 1983. Influence of nutrition on the yield and content of active compounds in some essential oil plants. Acta Horticulturae. 132: 239–247.
 6. Izadi, Z., Ahmadvand, G., Asna Ashri, M., Piri, J. 2010. Effect of nitrogen and plant density on some growth characteristic, yield and essence in peppermint. Iranian Journal of Field Crops Research. 824-836. (in Persian).
 7. Kandil, E.A., Fawzi, M.I.F., Shahin, M.F.M. 2010. The effect of some slow release nitrogen fertilizers on growth, nutrient status and fruiting of Mit Ghavr peach trees. Journal of American Science, 6(12):195-201.
 8. Kasual, S. 1999. The effect of nitrogen fertilizer in peppermint. Journal of Essential oil Research 7: 279-289.
 9. Kumar, A., Samarth, R.M., Yasmeen, S. 2004. Anticancer and radio protective potentials of *Mentha piperita* L. Bio Factors. 22(1-4): 87-91.
 10. Malakouti, M.J. 2004. Fertilizer use by crops in Iran. Report prepared for FAO. Soil and Water Research Institute. Tehran, Iran. (In Persian).
 11. Malakouti, M.J., Lotfollahi, M., Shahabi, A.A., Siavoshi, K., Vakil, R., Ghaderi, J., Shahabifar, J., Majidi, A., Jafarnajadi, A., Dehghani, F., Keshavarz, M.H., Ghasemzadah, M., Ghanbarpouri, R., Dashadi, M., Babaakbari, M., Zaynalifard, N. 2008. Comparison of complete and sulfur coated urea fertilizers with pre-plant urea in increasing grain yield and nitrogen use efficiency in wheat. Journal of Agricultural Science Technology. 10:173-183.
 12. Marotti, M.R., Piccaglia, W., Crout, K., Craufurd, A., Deans, S. 2004. Effect of planting time and mineral fertilization on peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil composition and its biological activity. Flavor and Fragrance Journal, 9(3): 125-129.
 13. Mir-Hosseini, M. 2007. Effective extraction methods and devices, pharmaceutical and food industries, Zahedan Branch, Islamic Azad University Press, 170 p.
 14. Noor gholi poor, F., Bagheri, Y.R., Lotfolahi, M. 2008. Effect of nitrogen sources on wheat yield and quality. Research Agriculture science. 14(2): 120-129.
 15. Omidbaigi, R. 2011. Production and processing of medicinal plants. Behnashr (Astan Quds Razavi Publication). Pp 347. (In Persian).
 16. Sahhar, E.L., Fahamy, G.E., Fero, D.B., Zanati, E.L. 2006. Effect of different rates of nitrogen, phosphorus and potassium fertilizer on (*Mentha piperita* L.). Agricultural Research 95: 119-130.
 17. Saiedi gragani, H., Yazdani Bloki, R., Saiedi gragani, N., Sodaie zadeh, H. 2014. Effect of sources and levels of nitrogen fertilizer on *Petroselinum crispum* Mill. at Jiroft. Iranian Journal of Field Crops Research. 12(2): 316-327. (In Persian).
 18. Saxena, A. 2004. Effect of nitrogen levels and harvesting management on quality of essential oil in peppermint cultivars. Indian Performer, 33(3): 182-185.
 19. Singh, R., Shushni, A.M., Belkheir, A. 2011. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. Arabian Journal of Chemistry, 1: 1-5.
 20. Singh, V.P., Chatterjee, B.N., Singh, P. 2003. Response of mint species to nitrogen fertilization. Journal of Agricultural Science 113(2): 267-271.
 21. Timsina, J.U., Singh, M., Badaruddin, C., Meisner, R., Amin, M.R. 2001. Cultivar, nitrogen, and water effects on productivity, and nitrogen-use efficiency and balance for rice-wheat sequences of Bangladesh. Field Crops Research. 72: 43-161.
 22. Valmorbida, J., Boaro, C.S.F. 2007. Growth and development of *Mentha piperita* L. in nutrient solution as affected by rates of potassium. Brazilian

- Archives of Biology and Technol, 50(3): 379-84.
- 23.Verma, R.S., Rahman, L., Verma, R.K., Chauhan, A., Yadav, A.K., Singh, A. 2010. Essential oil composition of Menthol mint (*Mentha arvensis* L.) and Peppermint (*Mentha piperita* L.) cultivars at different stages of plant growth from Kumaon Region of Western Himalaya. J. Medicinal and Aromatic Plants; 1(1): 13-8.
- 24.Wilson, V.E., Teare, I.D. 1972. Effects of between and within row spacing on components of lentil yield. Crop Science. 12: 557-585.
- 25.Yazdani, D., Jamshidi, A., Mojab, F. 2002. Comparison on menthol content of cultivated Peppermint at different regions of Iran. Journal of Medicinal Plants. 3(3): 73-77.
- 26.Zeinali, H., Hosseini, H., Shirzadi, M.H. 2014. Effects of nitrogen fertilizer and harvest time on agronomy, essential oil and menthol of *Mentha piperita* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 30(3): 486-495. (In Persian).