

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

عادل پشت‌دار<sup>۱\*</sup>، علیرضا ابدالی مشهدی<sup>۲</sup>، فواد مرادی<sup>۳</sup>، سیدعطاءاله سیادت<sup>۴</sup>، عبدالمهدی بخشنده<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، خوزستان، ایران

<sup>۲</sup> استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، خوزستان

<sup>۳</sup> استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، البرز، ایران

<sup>۴</sup> استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، خوزستان، ایران

<sup>۵</sup> استاد، 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 جهت تضمین عملکرد مطلوب ضروری است. بدین منظور در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه رامین خوزستان در سال ۹۳-۱۳۹۲، آزمایشی فاکتوریل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد. عامل اول شامل سه فرم کود نیتروژنی مایع (اوره آمونیوم نترات (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 جهت 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 منتول در تیمار شاهد (۳۷/۱۶ درصد) و در سطح ۷۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار (۳۸/۴۴ درصد) بدست آمد. با این وجود کاربرد بیشتر نیتروژن به کاهش محتوی منتول انجامید. علاوه بر این، اوره و سولفات آمونیوم به ترتیب بیشترین و کمترین اثر را بر محتوی منتول داشتند. همچنین کاربرد UAN نیز کمترین میزان منتوفوران (۱/۱۷ درصد) را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: آمونیوم، اسانس، اوره، منتول، نعناع فلفلی، نترات.

با به کارگیری فاکتورهای زراعی مناسب می‌توان در راستای افزایش عملکرد کمی و کیفی نعنای 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 به‌طور فزاینده‌ای به مطالعه اثر کودهای نیتروژنی روی آورده و از آنها جهت افزایش تولید استفاده نمایند (Sahhar et al., 2006; Izadi et al., 2010). به‌طوری‌که تعدادی از پژوهشگران گزارش کرده‌اند که در نعنای فلفلی، زیست‌توده زیاد و عملکرد اسانس بالا در شرایطی بدست می‌آید که نیتروژن زیاد مصرف شود. همچنین با کاربرد سطوح مختلفی از نیتروژن روی نعنای فلفلی گزارش شده است که افزایش کوددهی موجب بالا رفتن میزان اسانس در مقایسه با سطوح کمتر کودی می‌شود (Marotti et al., 2004) و مقادیر بالاتر از ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار را جهت افزایش اسانس و عملکرد در نعنای 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 اسانس‌دار در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری از سابقه بسیار طولانی برخوردار است و در بین گونه‌های اسانس‌دار، گیاهان متعلق به سه خانواده گیاهی نعنایان (نعناع، بادرنجبویه، زوفا، اسطوخودوس، آویشن)، آفتابگردان (بابونه، بومادران، ترخون، آرتمیزیا) و چتریان (گشنیز، بادیان رومی، شوید، زیره) از اهمیت بیشتری برخوردارند (Verma et al., 2010). نعنای 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 نعنای 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). اسانس نعنای فلفلی بسیار متنوع (Singh et al., 2011) و با ارزش اقتصادی بالا است 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). میزان اسانس سرشاخه این گیاه بین ۰/۱ تا ۲/۵ درصد (با توجه به شرایط متفاوت اقلیمی) و شامل منتول (۴۲-۲۸ درصد)، منتون (۲۸-۱۸ درصد) و منتوفوران (۶/۸ درصد) است. منتول و منتون اصلی‌تری اجزای اسانس بوده و خواص ضد میکروبی دارند (Yazdani et al., 2002). بر طبق استاندارد سازمان گیاه درمانی اروپا<sup>۱</sup> مقدار منتول معیار اصلی در تعیین کیفیت اسانس نعنای فلفلی است (Kumar et al., 2004).

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 کندرهاشونده، 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 (mg/kg)	پتاسیم در دسترس (mg/kg)	pH	هدایت الکتریکی (ds/m)	کربن آلی (%)	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 روتواتور 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 بلوک‌های مجاور یک جوی آبیاری و یک کانال 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 عمدتاً 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 ۹۳-۱۳۹۲ 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) به‌عنوان عامل اول و نوع کود گرانوله (اوره)، مایع (اوره آمونیوم نترات (UAN<sup>1</sup>)) 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

معادله،  $NUE^1$ : 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) می باشد.

**شناسایی ترکیب‌های شیمیایی اسانس:** اسانس‌ها با استفاده از سولفات سدیم خشک آبیگری گردید و با روش تجزیه دستگاهی توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌نگار جرمی در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه آنالیز گردید. شناسایی و تجزیه ترکیب‌های اسانس با بررسی طیف‌های جرمی حاصل از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) مدل (Agilent (MS 5875 C, GC7890) و مقایسه این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد صورت خواهد گرفت. مشخصات دستگاه عبارت است از ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، مد یونیزاسیون EI و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت خواهد بود. برنامه حرارتی آن ۵ دقیقه در ۵۰ درجه سانتی‌گراد، سپس ۵۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با شیب ۳ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه و ۲۴۰ تا 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 اطلاعات موجود در منابع معتبر علمی (Adams, 2004) صورت گرفت.

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 Minitab و SAS 9.1 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 اسانس در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی‌دار بود.

**عملکرد خشک برگ:** نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات متقابل منبع کود نیتروژنه 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).

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

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		عملکرد خشک برگ	عملکرد خشک ساقه	شاخص سطح برگ	نیتروژن برگ	نیتروژن ساقه	درصد اسانس	کارایی جذب کارایی استفاده
بلوک	۲	۳۱۲۸۱**	۳۲۷۱۱**	۱/۶۱**	۳۸/۰۹**	۴/۳۷**	۰/۰۲۹ <sup>ns</sup>	۶/۴۵ <sup>ns</sup>
سطوح نیتروژن	۳	۷۰۷۴۲**	۶۸۱۳۰**	۱۵/۵۵**	۱۵۲/۲۱**	۱۶۷۱**	۵/۲۱**	۳۳۶/۵۲**
منبع نیتروژن	۲	۶۵۳۳*	۲۴۷۵ <sup>ns</sup>	۰/۷۶*	۲۰/۵۲**	۱/۸۳*	۰/۴۷**	۷/۱۵ <sup>ns</sup>
اثر متقابل	۶	۴۹۴۸*	۷۶۱۸*	۰/۸۳**	۸۳۳**	۱/۱۱*	۰/۱۷*	۵۱/۵۴**
اشتباه آزمایشی	۲۲	۱۳۳۰	۵۱۴۹۷	۳/۴۵	۳۲/۴۹	۸/۷۵	۱/۲۷	۵/۸۶
C.V.(%)	-	۱۱/۸	۱۳	۶/۷	۱۲/۳	۱۵/۱۷	۹/۶	۷/۲

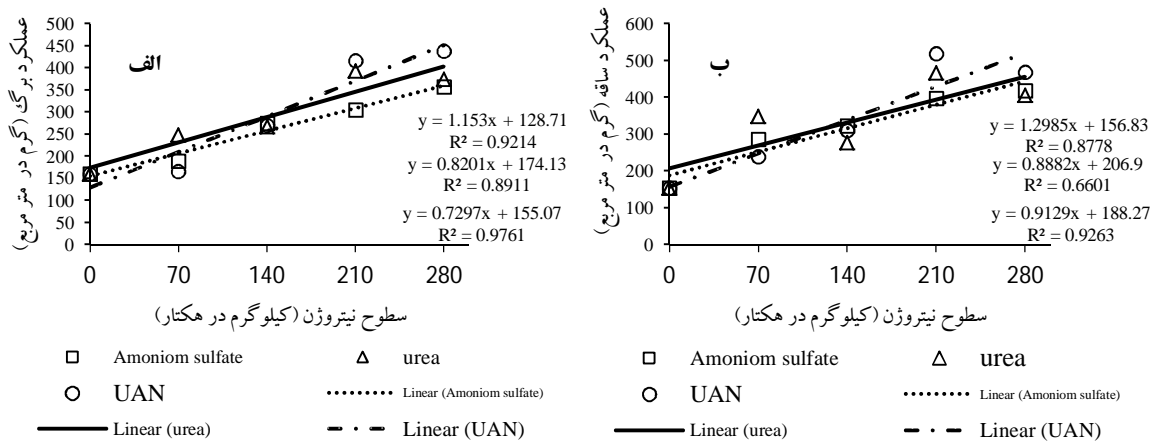
ns، \* و \*\* به ترتیب غیر معنی داری و معنی داری در سطح احتمال ۹۵ و ۹۹ درصد

آمونیم (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 آمونیم 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 اثرات متقابل نشان داد واکنش نیتروژن برگ به سطوح نیتروژن در کود UAN، اوره و سولفات آمونیم (با ضریب اطمینان ۹۷، ۹۷ و ۹۸ درصد) با یک منحنی خطی قابل توصیف است. در ابتدا عملکرد نیتروژن برگ اوره و سولفات آمونیم، بیشتر از UAN بود اما با افزایش مقدار نیتروژن شیب افزایش UAN بیشتر بوده (شکل ۲-الف) به طوری که حداکثر نیتروژن برگ در UAN (۱۶/۶۷ گرم در مترمربع)، اوره (۱۴ گرم در مترمربع) و سولفات آمونیم (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 برازش یافته در سطح ۷۰ کیلوگرم، کودهای اوره و UAN واکنش بهتری نشان دادند و نسبت به سولفات آمونیم 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 آمونیم (۷۲ گرم در مترمربع) کمتر بود و حداکثر عملکرد خشک برگ از سطح ۲۱۰ Kg/ha نیتروژن بدست 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 آمونیم به ترتیب کاهش و افزایش یافت.

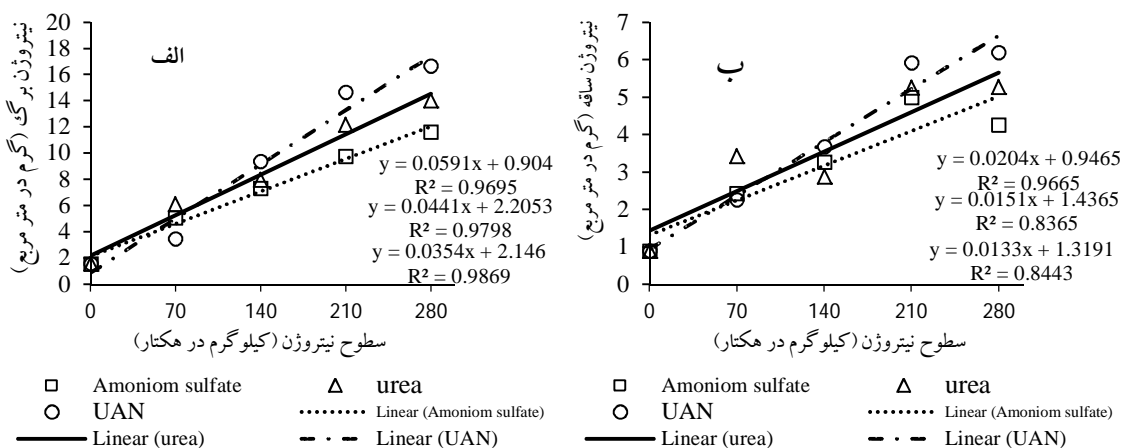
**عملکرد خشک ساقه:** نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات متقابل منبع کود نیتروژنه و سطوح نیتروژن بر عملکرد خشک ساقه معنی دار ( $P < 0/05$ ) بود. عملکرد خشک ساقه نعنای با کاربرد کود UAN، اوره و سولفات آمونیم در سطوح نیتروژن افزایش یافت اما کود UAN با شیب بیشتری (۱/۳۰ گرم در مترمربع) سبب افزایش صفت عملکرد خشک ساقه نعنای 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) نعنای 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). حداکثر 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 نعنای 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

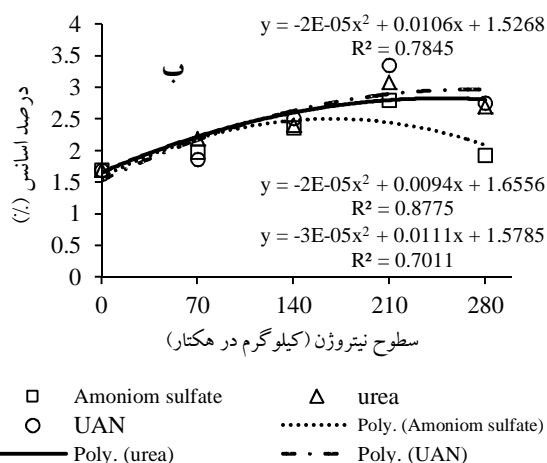
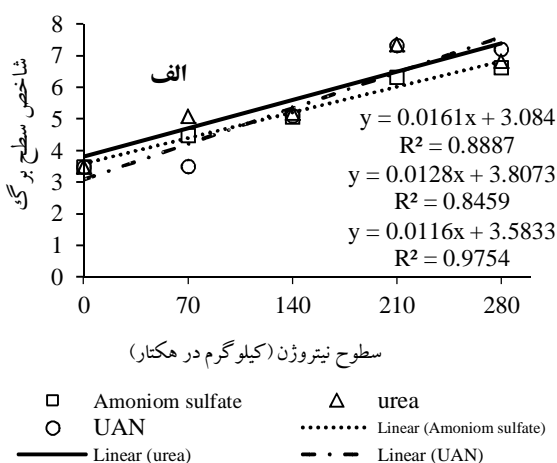


شکل ۲: تاثیر سطوح انواع کود نیتروژنی بر نیتروژن برگ (الف) و نیتروژن ساقه (ب) نعنای فلفلی

سطح برگ نعنای 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

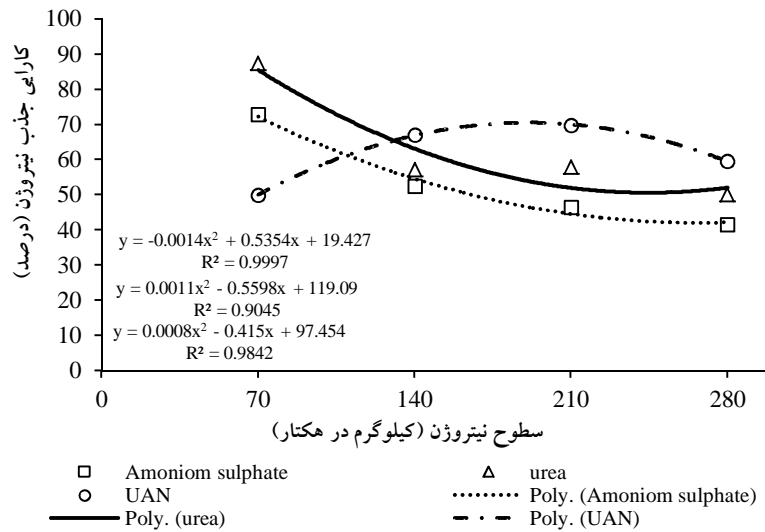
درصد معنی دار بود (جدول ۲). با افزایش مقدار کود هر سه نوع کود شاخص سطح برگ بصورت خطی افزایش یافت. اوره و سولفات آمونیوم با شیب تقریباً یکسان (به ترتیب ۰/۰۱۱ و ۰/۰۱۲) به ازای هر کیلوگرم نیتروژن، شاخص سطح برگ نعناع فلفلی را افزایش دادند ولی در سطوح پایین نیتروژن، کود UAN سطح برگ کمی تولید کرده و با افزایش مقدار نیتروژن، شاخص سطح برگ و تولید برگ آن با شدت و شیب بیشتری نسبت به اوره و سولفات آمونیوم افزایش یافت (شکل ۳- الف). حداکثر شاخص سطح برگ از سطح ۲۱۰ 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 شیب 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.

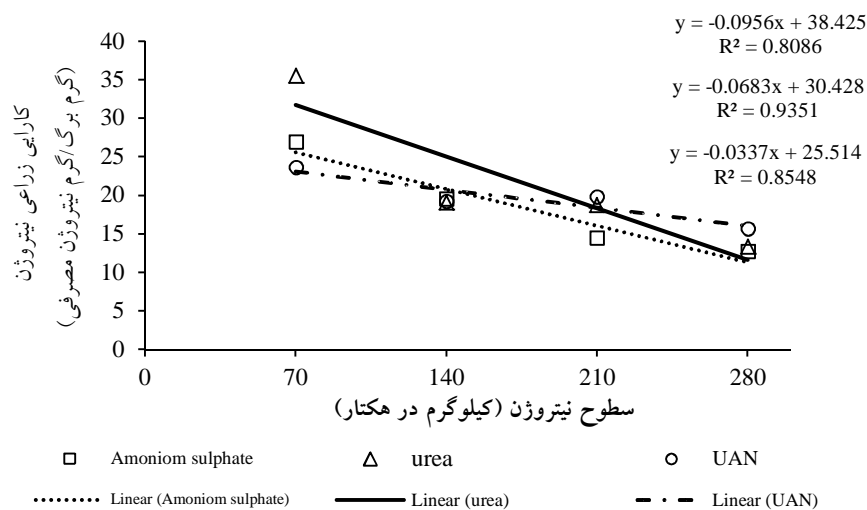
کارایی جذب نیتروژن: نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر سطوح نیتروژن و منابع کود بر کارایی جذب نیتروژن به ترتیب در سطح احتمال خطای ۱ و ۵ درصد و اثر متقابل آنها در سطح احتمال خطای ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد واکنش سه نوع کود نیتروژنی متفاوت بود به طوری که در کود UAN بر خلاف اوره و سولفات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



شکل ۴: تاثیر سطوح کود نیتروژنی بر کارایی جذب نیتروژن در نعنای 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 شیب کاهش آن برای اوره و سولفات آمونیوم بیشتر بود (به ترتیب  $-0/068$  و  $-0/095$ -گرم برگ بر گرم نیتروژن مصرفی) اما UAN با شیب کمتر ( $-0/033$ -گرم برگ بر گرم نیتروژن مصرفی) کارایی را کاهش داد (شکل ۵).

کارایی استفاده نیتروژن: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر سطوح نیتروژن و اثر متقابل 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 نعنای 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 نعنای فلفلی



یافتند، به طوری که حداکثر 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، سابینن، بتا پینن، لیمونن و سینئول نسبت به UAN و سولفات آمونیوم واکنش بهتری داشت. در کود سولفات آمونیوم درصد ترکیبات اسانس پایین تر 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.

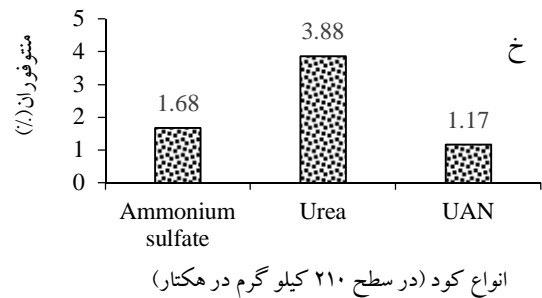
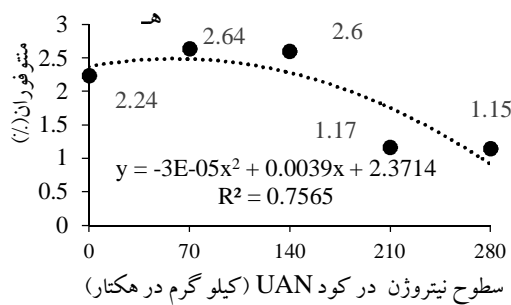
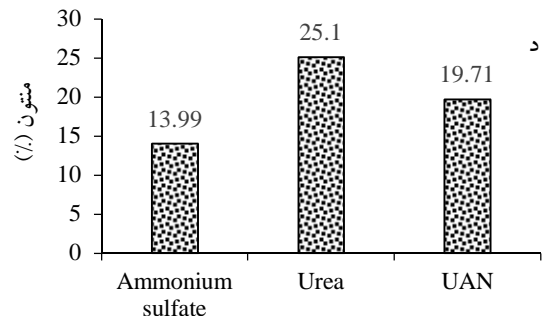
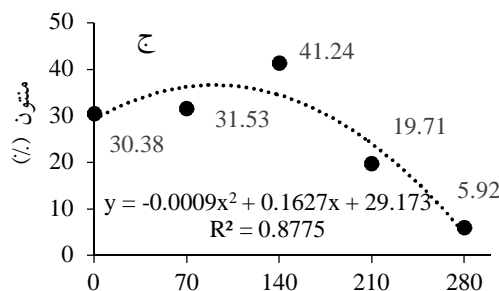
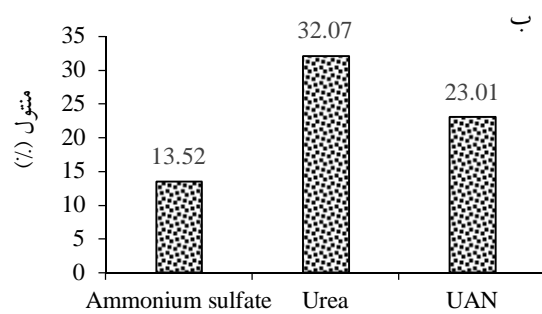
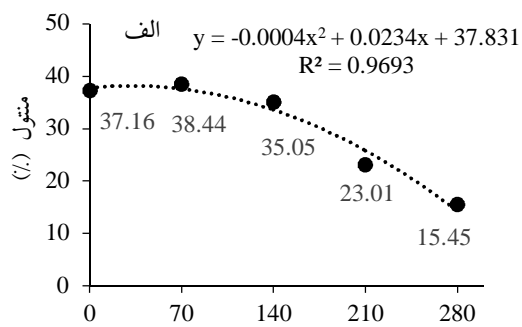
با توجه به نتایج ذکر شده و برتری نسبی کود UAN نسبت به اوره و سولفات آمونیوم، تمامی سطوح کود UAN و همچنین جهت مقایسه بهترین سطح هر سه نوع کود (۲۱۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار) از لحاظ ترکیبات تشکیل دهنده اسانس خصوصاً ترکیبات اصلی آن یعنی میزان منتول، متوفوران و منتون نعنای فلفلی، پاسخ فیتوشیمیایی این سطوح مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۳). با توجه به اهمیت منتول، متوفوران و منتون 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 تشکیل دهنده اسانس نعنای فلفلی (*Mentha piperita L.*) در سطوح مختلف انواع کود نیتروژنی

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری RI	عدم مصرف نیتروژن	سطح ۷۰	سطح ۱۴۰	سطح ۲۱۰	سطح ۲۸۰	سطح ۲۱۰	سطح ۲۱۰
				UAN	UAN	UAN	UAN	Urea	A.sulfat
۱	$\alpha$ -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	$\beta$ -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	$\beta$ - 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	۶/۷۲	۶/۸۶	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	$\delta$ - 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	pipertone	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 منتول در نعنای همانند منتول در تیمار اوهره (۲۵/۱) بیشتر از UAN (۱۳/۹۹) و سولفات آمونیوم (۱۳/۹۹) مشاهده شد (شکل ۶-د). میزان متفوران در نعنای فلفلی با افزایش سطوح نیتروژن کود UAN بصورت معادله درجه دو کاهش یافت و حداکثر 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 اوهره (۳/۸۸ درصد) نسبت به UAN (۲/۶۴) و سولفات آمونیوم (۱/۶۸) درصد متفوران بیشتری را در نعنای فلفلی سبب شد (شکل ۶-خ).

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



شکل ۶: تاثیر سطوح نیتروژن (الف، ج و ه) و انواع کود (ب، د و خ) بر درصد منتول (RI=1172)، منتول (RI=1153) و متفوران (RI=1164) در نعنای فلفلی

بحث

کاربرد صحیح و مناسب عناصر و مواد غذایی در طول مراحل کاشت، داشت و برداشت گیاهان دارویی، نه تنها نقش عمده‌ای 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 به دلیل 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، به دلیل جبران 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 اسانس، 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 به دلیل تحریک بیشتر رشد رویشی و افزایش شاخساره، روند تولید ماده خشک، محتوی اسانس 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 (Zainali 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

آمد و سطوح اوره از بین تمام منابع کودی، افزایش کمتری را باعث گردید (Saiedi gragani et al., 2014). در آزمایشی با کاربرد کودهای نیتروژنه، 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 افزایش نیتروژن در تعداد برگ به نقش نیتروژن در متابولیسم گیاه مربوط می‌شود و موجب افزایش فرآورده‌های فتوسنتزی 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 کانوپی گیاهی به عنوان یک مزیت در افزایش عملکرد بیان شده است (Wilson and Teare, 1972). محققان بیان معتقدند که در تولید نعناع فلفلی، زیست‌توده زیاد و عملکرد اسانس بالا در شرایطی به دست خواهد آمد که نیتروژن زیاد مصرف شود و افزایش کوددهی موجب بالارفتن میزان اسانس در مقایسه با سطوح کمتر کودی می‌شود (Marotti et al., 2004). عملکرد اسانس 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 (Gerdon et al., 1993). عامری و همکاران (Ameri 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

کمترین عملکرد نعنای فلفلی در سطح ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن بدست آمد. همچنین کاربرد مقادیر مختلف نیتروژن را روی میزان و نوع ترکیب‌های اسانس در نعنای فلفلی نشان داد. افزایش اسانس با کاربرد بیشتر کود نیتروژن همسویی داشته است و ترکیب‌هایی همانند آلفا-تریپنول، منتون، لیمونن، آلفا-پینن، بتا-پینن و سابینن تحت تأثیر کوددازت قرار نگرفته، در حالی که مقدار منتول و ایزومنتول با افزایش کود نیتروژن افزایش یافته و ترکیب‌هایی همانند پولگون، لینالون، منتول با افزایش کود نیتروژن، روند نزولی رادربی 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 نعنای فلفلی، در اراضی فقیر از ماده آلی، داشته است. همان‌طور که مشاهده شد، عملکرد خشک، درصد اسانس و منتول نعنای فلفلی در منطقه مورد آزمایش بالا بوده به منظور حصول عملکرد اقتصادی مناسب به نظر می‌رسد چنانچه میزان ۱۴۰ تا ۲۱۰ کیلوگرم درهکتار از کوداوره آمونیوم نیترات (UAN) در طی فصل رشد مصرف گردد، بالاترین میزان تولید خشک و اسانس حاصل خواهد شد.

#### References

1. Adams, R.P. 2004. Identification of essential oil components by gas-chromatography mass spectroscopy. Allured Publishing, Carol Stream, USA, 456p.
2. 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).
3. 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 ۱۴ گرم گل خشک بر گرم نیتروژن در سطح ۵۰ به ۶ گرم گل خشک در گرم نیتروژن در سطح ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار کاهش یافت.

از اهداف کشت گیاه نعنای فلفلی، تولید اسانس و به‌ویژه منتول آن به‌منظور مصارف مختلف دارویی و بهداشتی می‌باشد، بنابراین اندازه‌گیری صفات کیفی در این گیاه در اولویت قرار دارد. در این آزمایش از بین ترکیبات اسانس نعنای فلفلی، منتول، منتون و متوفوران مهمترین ترکیبات اسانس آن بوده به‌طوری‌که در سطوح پایین نیتروژن بین ۷۰ تا ۸۰ درصد از مجموع ترکیبات اسانس را این سه ترکیب شامل می‌شدند و با افزایش نیتروژن در سطح ۲۸۰ کیلوگرم بین ۲۰ تا ۴۰ درصد از مجموع ترکیبات اسانس نعنای 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 منتول و منتون ترکیبات اصلی اسانس نعنای هستند، که در مجموع، منتون، متوفوران، ایزومنتون، پولگون، ۸ و ۱ سینئول و لیمونن با افزایش کود نیتروژنی افزایش می‌یابد، اما در مورد منتول، سیس کاروان اکساید، ترانس پیریتول استات و دی گرماکرن برعکس گزارش شده است (Duhan et al., 1977; Hornok, 1983). البته محققان دیگری در بررسی تاثیر سطوح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بر درصد منتول نعنای فلفلی مشاهده شد که با افزایش مصرف نیتروژن تا ۳۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار، درصد اسانس و درصد منتول 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 Ghamr 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., Lotfolahi, 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., Craufutd, 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).