یافته های نوین کشاورزی
سال دهم- شماره۲- زمستان ۱۳۹٤

تأثیر کود شیمیایی و زیستی نیتروژن‌دار بر صفات کمی و کیفی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

محمد علی شبانی، دانشجوی کارشناسی ارشد آگرواکولوژی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران
مجید امینی دهقی*، دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد تهران
حسن حبیبی، استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی و دانشگاه شاهد تهران
مهدی عقیقی شاهوردی، دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران

چکیده

جهت بررسی تأثیر کود شیمیایی اوره و زیستی نیتروکسین بر خصوصیات گیاهی نعناع فلفلی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار به اجرا درآمد. عوامل آزمایش شامل کود شیمیایی نیتروژن‌دار در سه سطح صفر(شاهد)، ۱۰۰ و ۲۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار، کود زیستی نیتروکسین در دو سطح عدم تلقیح و تلقیح کود زیستی (٤ لیتر در هکتار) و زمان برداشت در سه سطح برداشت قبل از گلدهی، همزمان با گلدهی و بعد از گلدهی بودند. نتایج نشان داد اثر کود اوره، کود زیستی، زمان برداشت و اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه این تیمارها بر عملکرد ماده تازه و خشک، ارتفاع بوته، درصد و عملکرد اسانس و شاخص برداشت معنی‌دار بود. بیشترین عملکرد ماده خشک (۵۵۰ کیلوگرم در هکتار)، شاخص برداشت (۷۲٪)، درصد و عملکرد اسانس (به ترتیب ۳/۷٪ و ۲۰/۳۵ کیلوگرم در هکتار) در کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم کود اوره به همراه استفاده از کود زیستی نیتروکسین در برداشت همزمان با گلدهی بدست آمد. کاربرد کود زیستی نیتروکسین (٤ کیلوگرم در هکتار) در برداشت همزمان با گلدهی سبب افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه نعناع فلفلی گردید. به‌طور کلی نتایج این تحقیق حاکی از اثرات مثبت کود زیستی نیتروکسین بر گیاه دارویی نعناع فلفلی از طریق تثبیت نیتروژن می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اوره، نیتروکسین، اسانس، نعناع، شاخص برداشت

---

* نویسنده مسئول: E-mail : amini@shahed.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۹٤/٦/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۵/۱/۲۵

مقدمه

گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی در تأمین بهداشت و سلامت جوامع به لحاظ درمان و پیشگیری از بیماری‌ها برخوردار بوده و هستند. در حال حاضر، ۲۵٪ از داروهای موجود منشأ گیاهی دارند و ۱۲٪ داروها از منابع میکروبی ساخته شده‌اند. گرایش عمومی جامعه به استفاده از داروها و درمان‌های گیاهی و به طورکلی فرآورده‌های طبیعی به ویژه در طی سال‌های اخیر رو به افزایش بوده است. مهم‌ترین علل آن، اثبات اثرات مخرب و جانبی داروهای شیمیایی از یک طرف و ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی از طرف دیگر کره زمین را تهدید می‌کنند، می‌بوده است (۲ و ١٤). نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) یکی از مهم‌ترین گونه‌های خانواده نعناع می‌باشد. این گیاه با داشتن اسانس روغنی و ترکیب‌های شیمیایی مهم امروزه یکی از ارزشمندترین گیاهان دارویی جهان محسوب می‌شود.

نعناع فلفلی حاوی روغن‌های فرار است که مهم‌ترین آنها شامل منتول، منتون و متیل استات می‌باشد (٤ و٢٤). سایر ترکیباتی که در اسانس این گیاه یافت می‌شوند، شامل فلاونوئیدها، پلی فنول‌های پلیمریزه شده، کاروتن، توکوفرول، بتائین و کولین می‌باشند (٤). یکی از فرآورده‌های نعناع، اسانس آن است که از تقطیر برگ و سرشاخه‌های گلدار نعناع تحت اثر بخار آب تهیه می‌شود و دارای ۵۰ تا ۷۰٪ منتول می‌باشد. این گیاه دارای حدود ۱٪ اسانس بوده که قسمت عمده آن را کارون، دی هیدروکارون و منتول تشکیل می‌دهد. فلاونوییدهای آن کورسیترین، لوتئولین، (۷-گلوکوزید،۷-روتینوزید، ۷- گلوکورونید)، آپی ژنید، ۷- گلوکورونید اکاستین، ۷- روتینوزید، دیوسیمین، هسپرسدین، اریودیکتیول، ۷- روتنوزید، هدیوسمین می‌باشد (۱۲).

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 (۹). نیتروژن یکی از عناصر مهم برای رشد گیاهان دارویی و افزایش اسانس می‌باشد. با اینکه نیتروژن در ساختمان اسانس وجود ندارد اما کاربرد آن به افزایش غدد ترشحی اسانس در برگ نعناع فلفلی منجر می‌شود (۵). علت افزایش غدد ترشحی اسانس تولید و مصرف قندهای ساده و در نتیجه توسعه بیشتر سطح برگ و تولید ترکیبات اولیه بیشتر جهت تولید اسانس است. همچنین نیتروژن باعث تداوم رشد رویشی، توسعه برگ‌ها و در نتیجه افزایش تولید اسانس می‌شود (۲۳). طی تحقیقاتی نشان داده شد تأثیر کودهای نیتروژن دار و فسفر دار بر روی نعناع فلفلی اثر مثبتی داشته و موجب افزایش سرشاخه‌های گلدار آن شد. هم چنین مقدار اسانس در سرشاخه‌های گلدار بیش از برگ‌ها بود و افزایش کود نیتروژن دار روند مثبتی را هم بر میزان اسانس برگ و هم اسانس سرشاخه‌های گلدار به همراه داشته است (٦). در مطالعه‌ی دیگری تأثیر نیتروژن بر برخی شاخص‌های رشد و میزان اسانس در نعناع فلفلی نشان داده

شد که در شرایط کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار بالاترین درصد اسانس در برگ و کل بوته به ترتیب با میانگین‌های ۲/۲۸۳ و ۲/۰۷٦٪ به دست آمد (۱). برخی محققین نیز با کاربرد سطوح مختلفی از کود نیتروژن روی نعناع فلفلی گزارش دادند کوددهی موجب افزایش میزان منتول اسانس در مقایسه با عدم کوددهی می‌شود (۲۷).

کودهای بیولوژیک شامل میکروارگانیسم‌ها و متابولیت آن‌ها می‌باشند که قادر به بالا بردن حاصل خیزی خاک، افزایش رشد گیاه و عملکرد محصول هستند. هم چنین این میکروارگانیسم‌ها قادر به آماده‌سازی عناصر مغذی از حالت غیرقابل جذب به قابل جذب در طی فرآیند بیولوژیکی می‌باشند (۲۸). تحقیقات گسترده‌ای برای شناخت کارایی و نحوه اثر کودهای زیستی در رشد، عملکرد و تولید اسانس گیاهان دارویی آغاز شده است. کوچکی و همکاران (۱۳۸۷) گزارش دادند کاربرد کودهای زیستی مانند نیتروکسین، سوپر نیتروپلاس و باکتری‌های حل کننده فسفات نقش مفید و مؤثری در بهبود ویژگی‌های رشد، عملکرد اندام هوایی و خصوصیات کیفی و اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی دارد (۱۸). عبدالهادی و همکاران (۲۰۰۹) در تحقیقی بر روی سه گونه نعناع گزارش کردند که مصرف کودهای زیستی آزوسپیریلیوم و ازتوباکتر اثرات مثبتی بر رشد و عملکرد کیفی این گیاهان دارند. تأثیر کود شیمیایی و زیستی نیتروژن (نیتروکسین) بر عملکرد کمی و کیفی زعفران مورد بررسی قرار گرفت که با اعمال مقادیر مختلف کود شیمیایی اوره و کود زیستی عملکرد کلاله و خامه افزایش قابل توجهی یافت (۱۵). همچنین در بررسی تأثیر کودهای زیستی بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی بابونه آلمانی اثر کودهای زیستی نیتروکسین (حاوی ازتوباکتر) باکتری‌های حل کننده فسفات، مخلوط کود زیستی نیتروکسین و باکتری‌های حل کننده فسفات و تیمار شاهد بر روی بابونه آلمانی آزمایش شد که تیمارهای مورد بررسی اثر معنی‌داری بر صفات کمی و کیفی داشت (۱۱).

مهر آفرین و همکاران (۱۳۹۰) گزارش نمودند تیمارهای کودی بر ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک ساقه در هکتار، وزن خشک برگ در هکتار و مقدار منتون اسانس، بر تعداد برگ در ساقه، وزن تر و خشک برگ در ساقه، عملکرد اسانس در واحد سطح و مقدار منتول اسانس نعناع فلفلی اثر معنی‌داری داشتند. تغذیه گیاه عامل مهمی در رشد و ترکیبات شیمیایی گیاهان است. کاربرد کودهای طبیعی می‌تواند عملکرد و شاخص‌های دارویی گیاهان را ارتقاء بخشد. کودهای زیستی می‌توانند جایگزین و یا باعث کاهش مصرف کودهای شیمیایی در اکوسیستم‌های زراعی شوند که گامی در راستای به حداقل رسانیدن آلودگی محیط و کشاورزی پایدار است. هدف از اجرای این طرح با توجه به کم کردن کودهای شیمیایی در جهت کشاورزی پایدار است تا بتوان با حداقل استفاده از کودهای شیمیایی به عملکرد کمی و کیفی مطلوب دست یافت.

مواد و روش ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۱ در در روستای اصغر آباد شهرستان خمینی‌شهر اصفهان، که مشخصات مکانی و اقلیمی محل آن در جدول ۱ ارائه شده است، به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۸ تیمار در ۳ تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل کود اوره در سه سطح صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار (۹)، کود زیستی در دو سطح مصرف به صورت سرک همراه با آب آبیاری و عدم مصرف و تاریخ برداشت در سه سطح برداشت قبل از گلدهی، زمان گلدهی و بعد از گلدهی نعناع فلفلی بود.

کود زیستی نیتروژن تلفیقی از دو باکتری ازتوباکتر کروکوکوم[۱] و آزسپیریلیوم برازیلنس[۲] بوده با نام تجاری نیتروکسین به میزان ٤ لیتر در هکتار (دارای 10^8 CFU سلول زنده در هر میلی‌لیتر) به صورت سرک در دو مرحله ۲۰ و ٤۰ روز بعد از کاشت، براساس توصیه شرکت تولید کننده، استفاده شد (۱۸).در اوایل فروردین نشاهای نعناع فلفلی جداسازی شده و به زمین اصلی که خاک آن دارای خصوصیات شیمیایی و فیزیکی ارائه شده در جدول ۲ بود، منتقل و به فاصله ٤۰×٤۰ کاشته شدند. کود اوره به صورت سرک و در سه مرحله یک سوم قبل از کاشت در حین شخم، یک سوم در اواخر اردیبهشت ماه (در مرحله رویشی) و مابقی در اواخر خرداد ماه اعمال شد. عملیات نمونه‌برداری در هر کرت از تعداد ۱۰ بوته و از ارتفاع ۱۵ سانتی‌متری صورت گرفت. نمونه‌های جمع آوری شده در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ٤۸ ساعت قرار داده شدند.

جهت اسانس‌گیری نمونه‌ها، مقدار ۵۰ گرم از نمونه خشک شده و پودر شده را همراه با ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر درون بالن دستگاه کلونجر ریخته و اسانس گیری انجام شد و در نهایت جهت جداسازی آب از اسانس از Na_2SO_4 استفاده شد (۲۵). عملکرد اسانس از حاصلضرب درصد اسانس در عملکرد اندام هوایی بر اساس رابطه ۱ محاسبه شد (۹). شاخص برداشت از تقسیم عملکرد اقتصادی (برگ) بر عملکرد بیولوژیک (کل اندام گیاه) محاسبه گردید (رابطه ۲) (۱۰). جهت تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از نرم‌افزار آماری SAS و برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد. مقایسه میانگین‌های صفات مورد نظر توسط روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ صورت گرفت.

(رابطه ۱) عملکرد اسانس (کیلوگرم در هکتار) = درصد اسانس× عملکرد اندام هوایی

(رابطه ۲) شاخص برداشت (٪) = (عملکرد اقتصادی/ عملکرد بیولوژیکی)×۱۰۰

۱- *Azethobacter chroococcum*
۲- *Azospirillum brasilense*

جدول ۱: مشخصات مکانی و اقلیمی مزرعه محل آزمایش (سازمان هواشناسی کل کشور ۱۳۹۱)

طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	تعداد روزهای یخبندان	حداقل دما (سانتی‌گراد)	حداکثر دما (سانتی‌گراد)	میانگین دمای سالیانه (سانتی‌گراد)	میانگین بارش سالیانه (میلی‌متر)
"٤١ ٠٠ '٥١	"٣١ ٥١ '٤٥	١٧٠٠	٦٠	-٨	٤١	١٦	١٧٠

جدول ۲: آنالیز فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری

خصوصیات فیزیکی خاک				پتاسیم قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	فسفر قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	نیتروژن کل (٪)	مواد آلی خاک (٪)	pH	EC (دسی زیمنس بر متر)	٪ اشباع
٪ رس	٪ سیلت	٪ شن	مقدار گچ							
٢٤	٢٩	٤٧	٠	٢٩٦	٨/٥٨	٠/٠٩	٠/٨٧	٧/٥٥	٥/٧	٤٦

نتایج و بحث

ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد کاربرد کود اوره، زیستی و زمان برداشت و اثرات متقابل دوگانه (کود زیستی × شیمیایی، کود زیستی × تاریخ برداشت و کود شیمیایی × تاریخ برداشت و سه‌گانه (کود شیمیایی × کود زیستی× تاریخ برداشت) این عوامل بر ارتفاع بوته نعناع فلفلی اثر معنی‌داری داشت (جدول ۳). بیشترین ارتفاع بوته از کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره با تلقیح کود زیستی نیتروکسین و برداشت در قبل و بعد از گلدهی به ترتیب ۵۱ و ۵۰ سانتی‌متر بود (جدول ٤).

محققین گزارش کردند استفاده از کود زیستی نیتروکسین باعث ترشح هورمون‌های رشد در گیاه می‌شود و این موضوع بطور مستقیم یا غیر مستقیم باعث ارتفاع گیاه می‌گردد (١٦). تلقیح با کود زیستی و برداشت در زمان گلدهی بیشترین طول بوته را با ٤٧/٥ سانتی‌متر نشان داد. کمترین ارتفاع بوته از عدم مصرف کود اوره با عدم تلقیح کود زیستی در تاریخ برداشت بعد از گلدهی (۲۹ سانتی‌متر) بود (جدول ٤). گیاهان مواجه با کمبود نیتروژن به کندی رشد می‌کنند و برگ‌های کوچکی دارند که دلیل این امر مربوط به نقش کلیدی عنصر نیتروژن در بسیاری از فعل و انفعالات و ساختارهای شیمیایی گیاهان است. نیتروژن یک عنصر اصلی در تشکیل پروتئین‌ها و آنزیم‌هاست. همچنین کمبود نیتروژن شاخص سطح برگ را کاهش می‌دهد و کارایی مصرف تابش و فعالیت فتوسنتزی گیاهان را کم کرده و از این طریق باعث کاهش رشد و بدنبال آن کاهش ارتفاع بوته نیز می‌گردد (۱۳). از این رو گلدهی یکی از مراحل حساس رشدی گیاه بوده که انرژی بسیاری برای تکمیل این سیکل لازم است و عملاً مواد ذخیره‌ای گیاه که باید صرف تولید و افزایش مواد مؤثره گردد، در تکمیل این مرحله استفاده می‌شود و رشد رویشی گیاه

کاهش می‌یابد، ولی استفاده از کودهای زیستی با توجه به خاصیت تولید هورمون‌های محرک رشد و تثبیت نیتروژن این اثرات منفی را از بین می‌برد. روند افزایشی با تلقیح کود زیستی نیتروکسین در ارتفاع بوته به خصوص در سطح کود شیمیایی ۱۰۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار مشاهده شد. مکی‌زاده تفتی و همکاران (۱۳۹۰) اثر کود شیمیایی اوره و کود زیستی را بر ارتفاع بوته گیاه دارویی شوید[۱] معنی‌دار گزارش کردند و بیان داشتند کاربرد کود شیمیایی به همراه کود زیستی بیشترین ارتفاع بوته را ایجاد کرد. یوسف و همکاران (۲۰۰٤) گزارش کردند کاربرد کود زیستی آزوسپیریلیوم و ازتوباکتر سبب افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه مریم گلی[۲] گردید. باکتری‌های موجود در کود زیستی نیتروکسین علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا و متعادل کردن عناصر پرمصرف و کم‌مصرف مورد نیاز گیاه، ترشح اسید آمینه و انواع آنتی بیوتیک، سیانید هیدروژن و سیدروفور را نیز بر عهده دارند و موجب رشد و توسعه ریشه و قسمت‌های هوایی گیاهان می‌شود (۲).

جدول۳: تجزیه واریانس اثر کود شیمیایی اوره و زیستی نیتروکسین بر صفات نعناع فلفلی در تاریخ‌های مختلف برداشت

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		طول بوته	عملکرد ماده تر	عملکرد سایه خشک	عملکرد آون خشک	شاخص برداشت	درصد اسانس	عملکرد اسانس
بلوک	۲	۹/۵^{ns}	۷۸۳۹/٤^{ns}	۲۳٦^{ns}	۱٤/۸^{ns}	۰/۰۰۰۵^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۰/۵۸^{ns}
کود شیمیایی (Ch)	۲	۲۲۲**	٦٤٤٥۹۰/٤**	۱٤۹٤۸/۳**	۱۲٦۱۲/۲**	۰/۰۹**	۵/٦**	۱۲/۱*
کود زیستی (Bio)	۱	۳۱/۱*	۹۳۰٦/۲^{ns}	۱۰۵۳۹/۲**	٤٤۹۳/٦**	۰/۰۷**	۱/۵**	۹۳**
زمان برداشت (HT)	۲	۱۳۹**	۵۹٦۷۹/۱**	۲٦۸۳٦/۷**	۲۹۱٤۵/۲**	۰/۳**	۳۱/٦**	۳۸۰/٤**
Ch×Bio	۲	٤۹۲/۵**	۱۳۲۵٤٤/۲**	۲۰۸۰٤/۷**	۲۳۹٤٤/۲**	۰/۰۰۲*	۲/٦**	۹٦/۹**
Ch×HT	٤	۵۷/۲**	۳۰۵۱۱/۷**	۲۳۱۰/۹**	٤۳۵۰/۲**	۰/۰۱**	۰/٤**	۵۲/۳**
Bio×HT	۲	۲۰/۱*	۱۵۱۹۷/۹*	۱۳۱۹/۹**	۲۱۳/۵**	۰/۰۰۱**	۱/۱**	۲۵/۱**
Ch×Bio×HT	٤	۱۷/۳*	۷٦۷۵٤/۳**	۸۸۲۰/۲**	۵۸٤٦/۵**	۰/۰۱**	۱/۱**	۲۳**
اشتباه آزمایشی	۳٤	٤/۵	۳٦۸۲/۳	۱٦۹/۱	۹۰/٦	۰/۰۰۰٦	۰/۰٦	۳/۳
ضریب تغییرات (٪)		٤/۹	٤/٦	۳	۲/٤	٤/۵	٤/۸	٦/۹

**، * و ns: به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ ، ۵٪ و غیر معنی‌دار

۱- *Anethum graveolens* L.
۲- *Salvia officinalis*

جدول ٤: مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه نعناع فلفلی در تاریخ‌های مختلف برداشت

کود بیولوژیک نیتروکسین	تاریخ برداشت	کود شیمیایی اوره ($Kg.ha^{-1}$)	ارتفاع بوته cm	عملکرد ماده تر $Kg.ha^{-1}$	عملکرد سایه خشک $Kg.ha^{-1}$	عملکرد آون خشک $Kg.ha^{-1}$	شاخص برداشت (٪)	درصد اسانس (٪)	عملکرد اسانس $Lit.ha^{-1}$
عدم تلقیح	قبل از گلدهی	صفر(شاهد)	۳۰ e	۱۱۰۰ef	۳۵۰g	۲۹۵g	۵۵cd	۱/۲d	٤/۲۰f
		۱۰۰	٤۲c	۱۲۲۳e	۳۵۱g	۳۳۰ef	۵۱d	۲/٦b	۹/۱۲cd
		۲۰۰	٤۷b	۱۳۹۰d	۳۹۰f	۳۸۰d	٦۰bc	۱/۷d	٦/٦۳de
	حین گلدهی	صفر(شاهد)	٤۰d	۱۰۵۰f	۳۸٤f	۳۱۰fg	۵٦cd	۱/۵d	۵/۷٦def
		۱۰۰	٤٤bc	۱۲۰۳e	٤۰۰ef	٤۱۰c	٦٤b	۲/۵b	۱۰/۰۰bcd
		۲۰۰	٤٦b	۱۵۲۰c	٤۵۰d	٤۳۰bc	٦۳b	۳/۳ab	۱٤/۸۵b
	بعد از گلدهی	صفر(شاهد)	۲۹e	۱۰۰۰f	۳۷۱fg	۳۱۵f	۲۸f	۰/٤e	۱/٤۸g
		۱۰۰	٤۲c	۱۳۲۰e	٤٦۸c	۳۵۰e	۳۸ef	۰/۳e	۱/٤۰g
		۲۰۰	۳۹d	۱۵٦۰b	٤٤۹b	٤٦۸c	۵٤d	۰/٤e	۱/۸۷g
تلقیح	قبل از گلدهی	صفر(شاهد)	٤۵bc	۸۰۰g	۳۷۰fg	۳۰۵fg	۵۸c	۲/۱c	۷/۷۷d
		۱۰۰	٤٦b	۱۵۵۸b	٤٦۸c	٤۰۰cd	٦۷ab	۰/۹ de	٤/۲۱f
		۲۰۰	۵۱a	۱٤۰۰d	٤۱۰e	۳۸۵d	٦٤b	۳/۱ab	۱۲/۷۱bc
	حین گلدهی	صفر(شاهد)	٤۵bc	۱۲۰۰e	٤۷۵bc	٤۱۰c	٦۰bc	۲/۵b	۱۱/۸۷bc
		۱۰۰	٤۵bc	۱۵۵۰b	٤۵۰d	٤۱۹c	۷۰a	۲/۹ab	۱۷/۹۵ab
		۲۰۰	٤۹ab	۱٦۰۰a	۵۵۰a	۵۱۵a	۷۲a	۳/۷a	۲۰/۳۵a
	بعد از گلدهی	صفر(شاهد)	٤۳c	۱۲۰۵e	٤۸٦b	٤٤۵b	۳۹ef	۰/٦e	۲/۹۱fg
		۱۰۰	٤٦b	۱۳۸۰d	٤۸۰b	٤۰۰cd	٤۲e	۰/۵e	۲/٤۰fg
		۲۰۰	۵۰a	۱۳۸۰d	٤۵۱b	٤٦۸c	۵٦cd	۱/۳d	٦/۰۸de

در هر ستون، حروف مشابه از لحاظ آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار آماری ندارند

عملکرد ماده تازه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد کاربرد کود شیمیایی، زمان برداشت و اثرات متقابل کود شیمیایی× کود زیستی، کود زیستی × زمان برداشت، کود شیمیایی × زمان برداشت و کود شیمیایی× کود زیستی× زمان برداشت بر روی عملکرد ماده تر در هکتار تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۳). بیشترین عملکرد ماده تازه در تیمار۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره در شرایط تلقیح با نیتروکسین و برداشت همزمان با گلدهی (۱٦۰۰ کیلوگرم در هکتار) به‌دست آمد (جدول ٤). با توجه به اینکه زمین مورد آزمایش از درصد نیتروژن بسیاری پایینی برخوردار بود، بنابراین کاهش مصرف کود شیمیایی با استفاده از کود زیستی نیتروکسین که مورد انتظار بود، حاصل نشد، ولی اثرات کود زیستی مبنی بر افزایش عملکرد و اجزای عملکرد نعناع فلفلی قابل توجه بود. کود زیستی همانطور که جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد به

تنهایی اثر معنی‌دار بر عملکرد ماده تازه نداشته و در تلفیق با سایر تیمارها روند افزایشی را در میانگین این صفت نشان می دهد. مهر آفرین و همکاران (۱۳۹۰) در نتایج تحقیق خود نشان دادند که کاربرد کودهای زیستی و کود اوره باعث افزایش قابل توجه و معنی‌دار وزن تازه و خشک برگ و ساقه گیاه نعناع فلفلی نسبت به تیمار شاهد (بدون کود) شده است. این نتایج می‌تواند ناشی از اثر کاربرد باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن باشد که با تولید مقادیر مناسب مواد تنظیم کننده‌ی رشد گیاه مانند اکسین، جیبرلین و سیتوکنین و ویتامین‌های گروه B ظرفیت ریشه‌زایی گیاه و جذب مواد غذایی از خاک را بهبود بخشیده و در نتیجه میزان نیتروژن و فسفر را در برگ‌ها افزایش داده است. این امر موجب رشد و توسعه بیشتر گیاه شده که نهایتاً بر عملکرد تأثیر می‌گذارد (۱۸).

عملکرد در شرایط سایه خشک

نتایج نشان داد کاربرد کود شیمیایی اوره، کود زیستی و زمان برداشت و اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه این عوامل با هم بر روی عملکرد وزن ماده خشک اثر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) داشتند (جدول۳). بیشترین عملکرد وزن ماده خشک در کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره به همراه تلقیح با کود زیستی نیتروکسین در برداشت همزمان با گلدهی با میانگین ۵۵۰ کیلوگرم در هکتار بود (جدول ٤). کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره نسبت به ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار در برداشت حین گلدهی، افزایش ۱۳/٦۳ درصدی، ولی برعکس در برداشت قبل از گلدهی باعث کاهش ۸/۹ درصدی عملکرد ماده خشک شد و این امر نشان دهنده این نکته می‌باشد که زمان برداشت عامل بسیار مهمی هم از نظر تغذیه گیاهی و هم از نظر عملکرد تولیدی است. فراهم بودن آب و عناصر غذایی، رشد رویشی مطلوب گیاه را به دنبال داشته شرط اساسی جهت تولید عملکرد بالا، تولید ماده خشک بیشتر در واحد سطح می‌باشد. چنین به نظر می‌رسد استفاده از کودهای زیستی از طریق بهبود فعالیت‌های میکروبی خاک و توسعه سیستم ریشه‌ای باعث بهبود دسترسی و افزایش جذب عناصر غذایی و در نتیجه سبب افزایش تولید مواد فتوسنتزی و بهبود ماده خشک گیاهی در گیاه گردیده که این مسئله در نهایت باعث افزایش عملکرد زیستی شده است (۷). رضوانی مقدم و همکاران (۱۳۹۲) در پژوهش خود مشاهده نمودند مصرف کودهای زیستی نیتراژین و نیتروکسین سبب افزایش عملکرد زیستی در گیاه مرزه شد.

عملکرد در شرایط کاربرد آون خشک

نتایج نشان داد کاربرد کود شیمیایی، کود زیستی، زمان برداشت و برهمکنش این عوامل با هم بر عملکرد آون خشک تأثیر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) داشتند (جدول۳). مقایسه میانگین اثر سه‌گانه کود شیمیایی× کود زیستی× زمان برداشت نشان داد (جدول ٤) بیشترین عملکرد آون خشک در کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم کود

اوره به همراه تلقیح با کود زیستی نیتروکسین و برداشت همزمان با گلدهی با میانگین ۵۱۵ کیلوگرم در هکتار بود. کمترین عملکرد آون خشک نیز در تیمار عدم کاربرد کود شیمیایی و زیستی در برداشت قبل از گلدهی با میانگین ۲۹۵ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. زینلی و همکاران (۱۳۹۳) بیشترین عملکرد اندام هوایی در هکتار را در مصرف ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن و در زمان شروع غنچه‌دهی گیاه نعناع فلفلی گزارش کردند. ژنجیاکو و واسیل (۲۰۰۹) با بررسی اثر نیتروژن و مرحله رشد و چین بر روی گیاه نعناع فلفلی گزارش کردند عملکرد بیوماس و اسانس در چین اول بالاتر از چین دوم بوده و به طور کلی کود نیتروژن باعث افزایش بیوماس و عملکرد اسانس شده است.

شاخص برداشت

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد کاربرد کود اوره، کود نیتروکسین، زمان برداشت کود اوره × کود نیتروکسین، کود اوره × زمان برداشت، کود نیتروکسین × زمان برداشت و اثر کود اوره × کود نیتروکسین × زمان برداشت بر شاخص برداشت نعناع فلفلی تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۳). بطوریکه با کاربرد ۲۰۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره به همراه تلقیح با کود زیستی نیتروکسین و در برداشت در حین گلدهی بیشترین شاخص برداشت را به ترتیب با میانگین ۷۲ و ۷۰٪ داشتند (جدول ٤). کمترین شاخص برداشت مربوط به عدم استفاده از کود شیمیایی و زیستی و زمان برداشت بعد از گلدهی (۲۸٪) بود (جدول ٤). مکی‌زاده و همکاران (۱۳۹۰) اثر کود شیمیایی و زیستی را بر شاخص برداشت گیاه دارویی شوید معنی‌دار گزارش کردند بالاترین شاخص برداشت مربوط به تلفیق کود زیستی و شیمیایی اوره بود. حاجی آقائی کامرانی (۱۳۹۲) اثر کود نیتروژن را بر شاخص برداشت نعناع فلفلی معنی‌دار گزارش کرد و بیشترین شاخص برداشت در استفاده از ۸۰ میلی‌گرم اوره در هر گلدان بود. تاخیر در زمان برداشت، ریزش برگ‌ها را به دلیل سایه‌اندازی بوته‌ها روی هم افزایش داده و موجب افت شدید در شاخص برداشت گیاه خواهد شد (۹).

درصد اسانس

کاربرد کود شیمیایی، کود زیستی و اثر متقابل این دو و همچنین زمان برداشت و برهمکنش این سه عامل با هم بر درصد اسانس تأثیر معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) داشتند (جدول۳). به طوری که بیشترین درصد اسانس در کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره به همراه کاربرد ٤ کیلوگرم کود نیتروکسین در هکتار و برداشت حین گلدهی با میانگین ۳/۷٪ بود (جدول ٤). کمترین درصد اسانس نیز در عدم کاربرد کود اوره و نیتروکسین در برداشت بعد از گلدهی به‌دست آمد (جدول ٤).

شناسایی و مطالعه عوامل تأثیرگذار محیطی و زراعی بر بهبود کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی بسیار حائز اهمیت است. از آنجا که اسانس‌ها ترکیب‌هایی ترپنوئیدی هستند، واحدهای سازنده آنها نیاز مبرم بهNADPH وATP دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری مانند نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های اخیر ضروری می‌باشد (۲٦) لذا مصرف کودهای شیمیایی و زیستی موجب افزایش اسانس گیاه می‌شود. ویسانی و همکاران (۱۳۹۱) گزارش کردند بیشترین میزان اسانس ریحان از تیمار نیتروکسین + فسفاته بارور۲ حاصل شد. منابع مختلف نیز به نقش مثبت کودهای شیمیایی و میکروارگانیسم‌ها در بهبود درصد و عملکرد اسانس گیاهان دارویی اشاره داشته‌اند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. براساس پژوهش‌های انجام شده عناصر معدنی و مواد آلی علاوه بر تحریک رشد و نمو سبب تغییر در فعالیت‌های متابولیکی گیاهان دارویی می‌شود. از بین این عوامل نیتروژن به شکل اوره علاوه بر افزایش تولید برگ، وزن خشک برگ، و کربوهیدرات‌ها افزایش سنتز اسانس را نیز در گیاهان تیره‌ی نعناع به دنبال دارد. وینوتا (۲۰۰۵) گزارش کرد کاربرد باکتری باسیلوس روی گیاه ریحان سبب افزایش عملکرد اسانس و زیست توده ریحان شد و میزان اسانس گیاه را دو برابر افزایش داد. افلاطونی (۲۰۰۵) گزارش نمود مقدار و ترکیب اسانس به مقدار زیاد به مرحله نموی گیاه، زمان برداشت و تغذیه گیاه نعناع فلفلی بستگی دارد. همچنین بیان کرد برداشت زودهنگام و دیرهنگام منجر به کاهش عملکرد برگ‌ها و عملکرد اسانس خواهد شد. کمترین کیفیت اسانس زمانی بدست می‌آید که گیاه در مرحله پیش از گل‌دهی و از بخش‌های جوان گیاه به‌دست آید (۹).

عملکرد اسانس

اثر کود شیمیایی، کود زیستی، زمان برداشت، اثر متقابل کود شیمیایی × کود زیستی، کود شیمیایی×زمان برداشت، کود زیستی× زمان برداشت و کود شیمیایی×کود زیستی×زمان برداشت بر عملکرد اسانس معنی‌داری بودند (جدول۳). بیشترین عملکرد اسانس در کاربرد ۲۰۰ و ۱۰۰ کیلوگرم کود اوره به همراه استفاده از کود زیستی نیتروکسین و برداشت حین گلدهی (به ترتیب ۲۰/۳۵ و ۱۸/۲٤ کیلوگرم در هکتار) بود (جدول ٤). این امر نشان داد افزایش کود نیتروژن‌دار همراه با تلقیح کود زیستی باعث افزایش اسانس در پیکره رویشی نعناع فلفلی می‌شود. در پژوهش انجام شده توسط فلاحی و همکاران (۱۳۸۸) مشخص شد بیشترین عملکرد اسانس گیاه دارویی بابونه آلمانی[۱] در تیمار باکتری حل کننده فسفات و نیتروکسین (تلفیق ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم) تولید شد. شکرانی و همکاران (۲۰۱۲) نیز دریافتند کود زیستی نیتروکسین (تلفیق ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم) سبب افزایش معنی‌دار عملکرد اسانس در گل همیشه بهار[۲] شد. رضایی چیانه و همکاران (۱۳۹۳) نشان داد کاربرد کودهای زیستی منجر به افزایش معنی‌دار اسانس

۱- *Matricaria Chamomilla* L.
۲- *Calendula officinalis*

گردید و بیشترین عملکرد اسانس در تیمار ترکیبی سه‌گانه ازتو بارور+ فسفاته بارور۲ + بیوسولفور مشاهده شد. عملکرد اسانس از حاصل‌ضرب درصد اسانس در عملکرد زیستی به‌دست می‌آید و چون هر دو این عوامل در تیمار مورد نظر بالاترین مقدار بود به همین دلیل بیشترین عملکرد اسانس را نیز داشت. زینلی و همکاران (۱۳۹۳) نیز بهترین تاریخ برداشت جهت حصول حداکثر عملکرد اندام هوایی و اسانس در گیاه نعناع فلفلی را زمان شروع غنچه دهی و میزان مصرف ۲۰۰ کیلوگرم کود نیتروژن در هکتار گزارش کردند با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد استفاده از کودهای شیمیایی اوره و زیستی نیتروکسین می‌تواند عملکرد پیکره رویشی و تولید اسانس گیاه نعناع فلفلی را افزایش دهد.

بهترین زمان برای برداشت گیاه دارویی نعناع فلفلی، برداشت همزمان با گلدهی است که هم عملکرد رویشی و هم عملکرد اسانس در بالاترین میزان می‌باشد. همچنین کاربرد کودهای بیولوژیک نقش مفید و مؤثری در بهبود ویژگی‌های رشد و عملکرد گیاه و خصوصیات کیفی گیاه دارویی نعناع فلفلی دارد. بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از کودهای زیستی می‌تواند اثرات سودمندی از جنبه‌های اقتصادی، اجتماعی و زیست محیطی داشته باشد و به عنوان گزینه‌ای مناسب در راستای نیل به اهداف کشاورزی پایدار در تولید گیاهان دارویی مدنظر قرار گیرد.

منابع

۱- ایزدی، ز.، احمدوند، گ.، اثنی عشری، م. و پیری، خ. ۱۳۸۷. تأثیر نیتروژن بر برخی شاخص‌های رشد و میزان اسانس در نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.). سومین همایش منطقه‌ای یافته‌های پژوهشی کشاورزی و منابع طبیعی (غرب ایران). دانشگاه کردستان.

۲- آقاعلیخانی، م.، ایرانپور، آ. و نقدی بادی، ح. ۱۳۹۲. تغییرات عملکرد زراعی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* L. Moench) تحت تأثیر اوره و کود زیستی. فصلنامه گیاهان دارویی. ۱۲ (۲):۱۳٦-۱۲۱.

۳- حاجی آقائی کامرانی، م.، پاکنیا، م.، خوشوقتی، ح. و حاجی آقائی کامرانی، س. ۱۳۹۲. بررسی اثر کود نیتروژن بر صفات و اسانس در نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.). همایش ملی گیاهان دارویی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات آیت‌الله آملی.

٤- حیدری، ف.۱۳۹۰. ریزازدیادی سه گونه‌ی نعناع و تعیین ثبات ژنتیکی آنها. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی. ص: ۱۰۵.

۵- حیدری، ف.، زهتاب سلماسی، س.، جوانشیر، ع. و دادپور، م. ۱۳۸۷. تأثیر تراکم بوته بر عملکرد و تولید اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ۱۲ (٤۵):۵۱۰-۵۰۱.

٦- **رضایی، م. ۱۳۸٦.** اثر باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن بر جوانه‌زنی زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.). پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا. ص:۹۸.

۷- **رضائی‌چیانه، ا.، پیرزاد، ع. و فرجامی، ا. ۱۳۹۳.** اثر باکتری‌های تأمین کننده نیتروژن، فسفر و گوگرد بر عملکرد دانه و اسانس زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.). نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار. (۲٤) ٤: ۸۳-۷۱.

۸- **رضوانی مقدم، پ.، امین غفوری، ا.، بخشائی، س. و جعفری، ل.۱۳۹۲.** بررسی اثر کودهای زیستی و آلی بر برخی صفات کمی و مقدار اسانس گیاه دارویی مرزه. نشریه بوم‌شناسی کشاورزی. ۵ (۲):۱۱۲-۱۰۵.

۹- **زینلی، ح.، حسینی، ح. و شیرزادی، م. ح. ۱۳۹۳.** بررسی اثرات کود نیتروژن و زمان برداشت بر روی صفات زراعی، اسانس و منتول نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.). فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران،۳۰ (۳): ٤۹۵-٤۸٦.

۱۰- **سرمدنیا، غ. و کوچکی، ع. ۱۳۸۸.** فیزیولوژی گیاهان زراعی (ترجمه) انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ص:٤۰۰.

۱۱- **فلاحی، ج.، کوچکی، ع. و رضوانی مقدم، پ. ۱۳۸۸.** بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی بابونه آلمانی. مجله پژوهش‌های زراعی ایران ۷: ۱۳۵-۱۲۷.

۱۲- **قهرمان، ر. ۱۳۸۲.** فارماکوپه ایران، انتشارات جنگل‌ها و مراتع. ص:۳۲۸.

۱۳- **کامکار، ب.، صفاهانی لنگرودی، ع. و محمدی، ر. ۱۳۹۰.** کاربرد مواد معدنی در تغذیه گیاهان زراعی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ص:۵۰۰.

۱٤- **کوچکی، ع.، تبریزی، ل. و قربانی، ر. ۱۳۸۷.** ارزیابی آثار کودهای بیولوژیکی بر ویژگی‌های رشد، عملکرد و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا*Hyssopus officinalis* . مجله پژوهش‌های زراعی ایران. ٦(۸):۱۳۷-۱۲۷.

۱۵- **گلزاد، ع. و امیدی، ح. ۱۳۸۸.** تأثیر کود شیمیایی و زیستی نیتروژن بر عملکرد کمی و کیفی زعفران (*Crocus sativus* L.). پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد تهران. ص:۱۱٤.

۱٦- **مقیمی، ف. و یوسفی‌راد، م. ۱۳۹۲.** اثرات شیوه مصرف کود بیولوژیک نیتروکسین بر عملکرد و اجزاء عملکرد گلرنگ رقم گلدشت در حضور EDTA. اکوفیزیولوژی گیاهی، ۵(۱۳): ٤۷-۳۹.

۱۷- **مکی‌زاده تفتی، م.، چایی‌چی، م. ر.، نصراله‌زاده، ص. و خاوازی، ک. ۱۳۹۰.** ارزیابی اثر کودهای زیستی و شیمیایی نیتروژن بر رشد، عملکرد و ترکیب اسانس گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.). نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار، ۲۱(٤):٦۲-۵۱.

۱۸- **مهرآفرین، ع.، نقدی بادی، ح.، پورهادی، م.، هادوی، ا.، قوامی، ن. و کدخدا، ز. ۱۳۹۰.** پاسخ فیتوشیمیایی و زراعی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) به کاربرد کودهای زیستی و کود اوره. فصلنامه گیاهان دارویی، ۳: ۳۳۵-۳۳۲.

۱۹- **نجات‌زاده، ف. ۱۳۹٤.** اثر کودهای زیستی و شیمیایی نیتروژن‌دار بر رشد، عملکرد و ترکیب اسانس گیاه شوید (*Anethum gravelens* L.). تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی، ۵(۱۹): ۸٤-۷۷.

۲۰- **ویسانی، و.، رحیم‌زاده خویی، ف. و سهرابی، ی.۱۳۹۱.** تأثیر کودهای بیولوژیک بر صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و میزان اسانس گیاه دارویی ریحان. فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۸-۷۳.

21-Abd El-Hadi, N. I. M., Abo El-Ala, H. K. and Abd El-Azim, W. M. 2009. Response of some *Mentha* species to plant growth promoting bacteria (PGPB) isolated from soil rhizosphere. Australian J. Basic and applied Sci. 3 (4): 4437 – 48.

22- Aflatuni, A. 2005. The yield and essential oil content of Mint (*Mentha* spp.) In Northern Ostrobothnia. Ph.D. Thesis of Faculty of Science, Oulu University, Finland, 50p.

23- Brown, B. 2003. Mint soil fertility research in the PNW. Western Nutrient Management Conf 5(3): 54-60.

24- Bupesh, G., Amutha, C., Nandagopal, S., Ganeshumar, A., Sureshkumar, P. and Murali, K. S. 2007. Antibacterial activity of *Mentha piperita* L. (Peppermint) from leaf extracts – a medicinal plant. Acta Agriculturae Slovenica, 89 (1): 73 – 9.
25- Firas, A. and Al-Bayati, A. 2008. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oil and methanol extracts. Journal of Ethnopharmacology116:403-406.
26- Loomis, W. D. and Corteau, R. 1972. Essential oil biosynthesis. Recently Advance Phytochem 6: 147-185.
27- Marotti, M., Piccaglia, R. and Deans, S. 2004. Effect of planting time and mineral fertilization on peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil composition and its biological activity. Flavor and ragrance Journal 9(3): 125-129.
28- Sharma, A. K. 2002. A handbook of organic farming. Agrobios, India.
29- Shokrani, F., Pirzad, A., Zardoshti, M. R. and Darvishzadeh, R. 2012. Effect of biological nitrogen on the yield of dried flower and essential oil of *Calendula officinalis* L. under end season water deficit condition. International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 3 (1): 24-34.
30- Vinutha, T. 2005. Biochemical studies on *Ocimum* sp. Inoculated with microbial inoculants. M.Sc,(Agri.) Thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India.
31- Youssef, A. A., Edri, A. E. and Maa, A. M. 2004. A comparative study between some plant growth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of *Salvia officinalis* L. Plant Annals of Agricultural Science 49: 299-311.
32- Zheijaiko, V. D. and Vasile, C. 2009. Effect of nitrogen, location, and harvesting stage of peppermint productivity, oil content and oil composition. Horticultural Science, 44(5): 1267-1270.