



The Effect of Different Amounts of Nitrogen, Phosphorus and Potassium Fertilizers on Some Morphological, Physiological and Biochemical Traits of Marjoram

Tahmoures Khazaei Poul¹, Morteza Moballeghi^{*2}, Mojtaba Neshae Moghaddam³ and Ali Eftekhari⁴

¹ PhD Student, Department of Agriculture, Chalous Branch, Islamic Azad University, Chalous, Iran

² Assistant Professor, Department of Agriculture, Chalous Branch, Islamic Azad University, Chalous, Iran

^{3, 4} Department of Agricultural, Chalous Branch, Islamic Azad University, Chalous, Iran

* Corresponding Author's Email: Morteza.moballeghi@yahoo.com

(Received: July. 12, 2025 – Accepted: December. 15, 2025)

ABSTRACT

Objective: This plant is cultivated in various countries, including the northern regions of Iran, and has high economic and industrial importance. Proper nutrition of medicinal plants, along with observing the principles of organic production, while preserving the environment, increases yield. In addition to the fact that nutrients must be easily used by the plant, the balance between their amounts is also of great importance.

Material and methods: To compare the reaction of marjoram to NPK fertilizers, an experiment was conducted at the research farm of Islamic Azad University, Chalous, during the 1398-1397 agricultural year. The experiment was designed as a factorial in a completely randomized block design with three replications. The treatments included nitrogen fertilizer at three levels (0, 50, and 100 kg/ha), potassium at three levels (0, 40, and 80 kg/ha), and phosphorus at two levels (0 and 30 kg/ha).

Results: The results showed that the highest dry leaf weight was obtained in the treatment with 100 kg/ha nitrogen, 30 kg/ha phosphorus, and 40 and 80 kg/ha potassium, reaching 43 grams per square meter. Additionally, the results indicated that the lowest dry leaf weight was about 26.8 grams per square meter in the absence of chemical fertilizers. It was found that applying 100 kg/ha nitrogen along with 40 and 80 kg/ha potassium resulted in the highest total essential oil yield, measuring 1.02 and 1.06 mg per square meter, while no nitrogen and potassium led to the lowest essential oil yield at 0.69 mg per square meter.

Conclusion: The findings demonstrate that nitrogen and potassium have the most significant effect on the total essential oil yield of the plant. Moreover, the combined application of these two elements along with phosphorus had a significant impact on plant height and dry leaf weight. Overall, the application of macronutrients can greatly influence the biomass of marjoram in the studied region.

Keywords: Plant height, Phosphorus, Dry leaf weight, Marjoram, Nitrogen

Cite this article: Khazaei Poul, T., Moballeghi, M., Neshae and Eftekhari, A. 2025. The Effect of Different Amounts of Nitrogen, Phosphorus and Potassium Fertilizers on Some Morphological, Physiological and Biochemical Traits of Marjoram. *Sustainable Agricultural Science Research*, 5(3), 1-17.

DOI: <https://doi.org/10.71667/SARJ.2025.1211730>



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.71667/SARJ.2025.1211730>

Publisher: Islamic Azad University of Kerman Branch Press.

اثر مقادیر مختلف کودهای شیمیایی نیتروژن، فسفر و پتاس بر برخی صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه مرزنجوش

طهمورث خزائی پول^۱، مرتضی مبلغی^{۲*}، مجتبی نشائی مقدم^۳ و علی افتخاری^۴

۱- دانشجوی دکتری گروه زراعت، واحد چالوس، دانشگاه آزاد اسلامی، چالوس، ایران.

۲- استادیار گروه زراعت، واحد چالوس، دانشگاه آزاد اسلامی، چالوس، ایران.

۳ و ۴- گروه زراعت، واحد چالوس، دانشگاه آزاد اسلامی، چالوس، ایران

*ایمیل نویسنده مسئول: Morteza.moballegghi@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۴/۲۱- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۹/۲۴- تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۹/۳۰)

چکیده

هدف: تغذیه صحیح گیاهان دارویی همراه با رعایت اصول تولید ارگانیک، ضمن حفظ محیط زیست سبب افزایش عملکرد می شود. عناصر غذایی علاوه بر اینکه باید به سهولت مورد استفاده گیاه قرار گیرد بلکه تعادل بین مقادیر آنها نیز از اهمیت زیادی برخوردار می باشد.

مواد و روش ها: برای مقایسه واکنش گیاه مرزنجوش به کاربرد کودهای NPK، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس طی سال ۱۳۹۷-۱۳۹۸ انجام شد. این آزمایش بصورت طرح فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل کود نیتروژن در سه سطح (۰، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار)، پتاس در سه سطح (۰، ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم در هکتار) و فسفر در دو سطح (۰ و ۳۰ کیلوگرم در هکتار) بود.

یافته ها: نتایج نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک برگ در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و مصرف ۲۰ کیلوگرم در هکتار فسفر و مصرف ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم در هکتار پتاسیم به میزان ۴۳ گرم بر متر مربع بدست آمد. همچنین نتایج نشان داد با عدم مصرف کودهای شیمیایی کمترین میزان وزن خشک برگ به میزان حدود ۲۶/۸ گرم بر متر مربع بدست آمد. نتایج نشان داد با مصرف ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و مصرف ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم پتاسیم بیشترین اسانس کل گیاه به میزان ۱/۰۲ و ۱/۰۶ میلی گرم بر متر مربع بدست آمد و در حالت عدم مصرف کود نیتروژن و پتاسیم کمترین میزان اسانس ۰/۶۹ میلی گرم بر متر مربع بدست آمد.

نتیجه گیری: نتایج نشان می دهد مصرف نیتروژن و پتاسیم بیشترین تاثیر بر میزان اسانس کل گیاه داشته است. همچنین مصرف توام این دو عنصر همراه با فسفر بر ارتفاع بوته و وزن خشک برگ تاثیر معنی داری داشت. به طور کلی مصرف عناصر پر مصرف می تواند بر زیست توده مرزنجوش در منطقه مورد مطالعه تاثیر فراوانی داشته باشد.

واژه های کلیدی: ارتفاع بوته، فسفر، وزن خشک برگ، مرزنجوش، نیتروژن

استناد:

Khazaei Poul, T., Moballegghi, M., Neshae and Eftekhari, A. 2025. The Effect of Different Amounts of Nitrogen, Phosphorus and Potassium Fertilizers on Some Morphological, Physiological and Biochemical Traits of Marjoram. *Sustainable Agricultural Science Research*, 5(3), 1-17.

DOI: <https://doi.org/10.71667/SARJ.2025.1211730>



© The Author(s).

ناشر: انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان

DOI: <https://doi.org/10.71667/SARJ.2025.1211730>

مقدمه

مرزنجوش (*Origanum majorana*) از خانواده نعنائیان Labiatae و بومی جنوب شرقی ناحیه مدیترانه به شمار می‌رود. این گیاه در کشورهای مختلفی از جمله نواحی شمالی ایران کشت می‌شود و از اهمیت اقتصادی و صنعتی بالایی بهره‌مند است (Cala et al., 2021; Farsi et al., 2020). مرزنجوش در سراسر جهان به عنوان یک گیاه دارویی و طعم‌دهنده محبوب شناخته شده است، حاوی طیف گسترده‌ای از اجزای فعال دارویی از جمله گلوکوزیدهای فنلی، فلاونوئیدها، تانن‌ها، استرول‌ها و مقادیر زیادی ترپنوئید است (Elfiky et al., 2022). مطالعه جنبه‌های مختلف به زراعی از جمله تغییرات کمی و کیفی گیاهان در پاسخ به منابع مختلف تغذیه‌ای، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Mirzaei Heydari et al., 2024). تغذیه صحیح گیاهان دارویی همراه با رعایت اصول تولید ارگانیک، ضمن حفظ محیط زیست سبب افزایش عملکرد می‌شود (Afra et al., 2022).

عناصر غذایی علاوه بر اینکه باید به سهولت مورد استفاده گیاه قرار گیرد بلکه تعادل بین مقادیر آنها نیز از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد (Zamani et al., 2023). مطالعات نشان داده است کاربرد کود شیمیایی باعث بهبود رشد و عملکرد گیاهان دارویی شده است (Hong et al., 2022). نیتروژن مهمترین عنصر غذایی است که در تشکیل پروتئین، نوکلئیک اسیدها، کلروفیل، کوآنزیم‌ها، فتوستتوز و متابولیسم ثانویه گیاهی نقش دارد (Fathi, 2022). ساخت مواد هیدروکربنه با افزایش نیتروژن، بیشتر و مصرف آن برای سوخت پروتئین و تولید متابولیت‌های ثانویه افزایش می‌یابد (Ghadirnezhad Shiade et al., 2023). محققان در بررسی اثر کود نیتروژن بر سرخارگل اظهار داشتند تغذیه گیاه سرخارگل با کودهای نیتروژنی توانست

صفات موفولوژیکی و غلظت فنل کل را افزایش دهد (Pirvash et al., 2021).

از عناصر ضروری که در بسیاری از فرآیندهای حیاتی گیاهان دخالت دارد فسفر می‌باشد. فسفر از اجزای ATP نقش مهمی را در انتقال انرژی بر عهده دارد. فسفر به جذب مواد غذایی از طریق افزایش رشد ریشه‌ها کمک می‌کند، بنابراین تجمع ماده خشک در گیاه افزایش می‌یابد (Fathi & Afra, 2023). علاوه بر آن فسفر نقش مهمی را در انتقال انرژی و تنظیم فعالیت آنزیم‌ها و انتقال سیگنال‌ها بر عهده دارد (Odoom & Ofosu, 2024). رشد بخش هوایی و ریشه گیاهان با کمبود فسفر کند می‌شود و برگ‌ها کوتاه، نازک و باریک می‌شوند. در شرایط کمبود فسفر، جلوگیری از رشد سلول برگ، به ویژه هنگام روز، مشاهده می‌شود که به علت کاهش میزان هدایت آب در ریشه گیاهان مبتلا به کمبود فسفر است (Abbas et al., 2018; Malhotra et al., 2021). محققان اظهار داشتند کمبود فسفر باعث کاهش طول و وزن خشک ریشه و اندام هوایی همچنین محتوای نسبی آب برگ و سطح برگ در اثر کمبود فسفر در مریم‌گلی باغی و پونه آبی شد که میزان کاهش در مریم‌گلی باغی بیشتر بود. همچنین کمبود فسفر باعث افزایش محتوای ترکیبات آلفا- و بتا- پینن، ۸ و ۱ سینئول و آلفا- توژان در اسانس مریم‌گلی باغی و ترکیبات پولگون، لیمونن و لاوندولیل استات در اسانس پونه شد. همچنین باعث سنتز ترکیبات جدید مثل ۳- اکتانول در اسانس پونه آبی و ساینن در مریم‌گلی باغی و حذف برخی از ترکیبات مانند لینالول در پونه آبی و لیدن در مریم‌گلی باغی شد (Kharazmi et al., 2023).

تغذیه بهینه گیاهان با پتاسیم، می‌تواند نقش مثبتی در بهبود روابط آبی، میزان کلروفیل، افزایش سطح برگ، افزایش رشد ریشه و افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه و

در نتیجه افزایش محصول گیاه داشته باشد. همچنین پتاسیم موجود در کود باعث بهبود عملکرد و کیفیت محصول می‌شود (Rawat et al., 2022). پتاسیم تحمل گیاه را نسبت به تنش‌های محیطی بیشتر و تولید نشاسته و کربوهیدرات را افزایش و همچنین استحکام گیاه را افزایش می‌دهد و برای رشد مقدار بهینه آن مورد نیاز می‌باشد (Badalingappanavar et al., 2018). مطالعات نشان می‌دهد که کاربرد ترکیبی کودهای شیمیایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم باعث بهبود وضعیت رشد و جذب عناصر در گیاهان مختلف از جمله ذرت (Barari Tari et al., 2020)، سنبل الطیب (Wu et al., 2024)، افوریا تیروکالی (Farnia et al., 2022) می‌شود.

گیاهان دارویی برای تولید مواد مؤثره دارویی نیازمند یک سیستم تغذیه‌ای متعادل و کارآمد هستند که شامل طیف گسترده‌ای از عناصر غذایی ضروری باشد. افزایش حاصل‌خیزی خاک نه تنها موجب بهبود بهره‌وری نهاده‌های کشاورزی می‌شود، بلکه نقش مهمی در ارتقای کمیت و کیفیت ترکیبات دارویی این

گیاهان ایفا می‌کند. با توجه به افزایش تقاضا برای گیاهان دارویی و تأثیر مستقیم کودهای کشاورزی بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آنها، تعیین میزان بهینه مصرف کودها با در نظر گرفتن شرایط منطقه‌ای، امری ضروری است. بنابراین، بررسی عملکرد، مقدار تولید و اسانس این گیاهان تحت کاربرد کودهای شیمیایی، می‌تواند اطلاعات ارزشمندی برای افزایش بهره‌وری و بهینه‌سازی تولید ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال‌های زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس، دارای عرض جغرافیایی ۱۲ درجه و ۳۹ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۵ درجه و ۳۵ دقیقه شرقی و ارتفاع ۳۱ متر از سطح دریا به اجرا درآمد. جهت تعیین خصوصیات خاک آزمایش قبل از اجرا، نمونه‌گیری از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری انجام و نتایج آن در جدول ۱ گزارش شده است.

جدول ۱- نتایج ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

بافت خاک	pH	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)	ماده آلی (درصد)	نیتروژن کل (درصد)	فسفر قابل جذب (قسمت در میلیون)	پتاسیم قابل جذب (قسمت در میلیون)
لوم رسی شنی	۷/۴	۰/۵۲	۰/۹۲	۰/۱۳	۱۴/۳	۷۶

این آزمایش بصورت طرح فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. کود نیتروژن در سه سطح (۰، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) به شکل اوره خالص (۴۶٪) و در دو مرحله قبل از کشت و ۲ هفته بعد از کاشت و ریشه زایی گیاهان به کرت‌ها اضافه شدند. پتاس نیز در سه سطح (۰، ۴۰ و

۸۰ کیلوگرم در هکتار) از منبع پتاس گرانوله ۲۰ درصد و فسفر در دو سطح (۰ و ۳۰ کیلو گرم در هکتار) از منبع سوپرفسفات تریپل قبل از کشت در زمان انجام روتاری (اول بهار) به کرت‌ها اضافه شد. بذره‌های مرزنجوش (توده محلی) از موسسه تحقیقات، آموزش و توسعه کشاورزی کرج تهیه شدند. بذرها در

اوایل اسفندماه در گلخانه درجعه‌های چوبی کشت شدند. ابتدا بستر بذر خیس، سپس بذرها روی بستر کشت شده و با ۰/۵ سانتیمتر خاک سبک روی آنها پوشیده شد. آبیاری بذرها با آبفشان به صورت مه پاشی صورت گرفت. پس از رشد و در مرحله پنج برگی نهال‌ها به مزرعه انتقال یافت. زمین مورد نظر در اواخر آبان ماه با استفاده از گاو آهن برگردان دار به عمق ۳۰- ۲۵ سانتیمتر شخم و سپس دو بار دیسک زده شد. سپس کرت بندی زمین در اوایل فروردین انجام شد. کل کرت‌های آزمایش ۵۴ کرت و هر بلوک آزمایش شامل ۱۸ کرت به ابعاد ۳/۵۰×۲/۵۰ متر بود. فاصله بین بلوک‌ها ۳ متر و فاصله بین کرت‌ها ۱ متر در نظر گرفته شد. نشاء کاری در اوایل خردادماه بصورت دستی انجام شد. فاصله بین ردیف کشت ۵۰ سانتیمتر و فاصله بین بوته‌ها ۳۰ سانتیمتر در نظر گرفته شد. آبیاری کرت‌ها بطور منظم و هر هفته صورت گرفت. کنترل علف هرز بصورت دستی انجام شد. برداشت در مرحله شکوفه پر انجام گردید (بیشترین میزان اسانس

در اندام‌های هوایی گیاه مرزنگوش در زمان پر گلی می باشد). بعد از برداشت وزن تر برگ تعیین و پس از خشک کردن تحت شرایط طبیعی (سایه و هوای خشک) وزن خشک برگ اندازه گیری شد. میزان کربوهیدرات به روش اسپیگل اندازه گیری شد (Schlegel, 1956).

نمونه‌گیری از برگ‌های جوان جهت اندازه‌گیری کلروفیل بر طبق روش Arnon (۱۹۴۹) انجام گرفت. در این روش ابتدا مقدار ۰/۵ گرم برگ تازه (نگهداری شده در نیتروژن مایع) را با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد درهاون چینی کاملاً ساییده تا عصاره برگ خارج و بافت بی‌رنگ گردد. عصاره‌ی به‌دست آمده به فالكون منتقل و بعد به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. یک میلی‌لیتر از مایع رویی را برداشته و با استون ۸۰ درصد به حجم نهایی ۱۰ میلی‌لیتر رسید. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر طول موج جذبی در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر قرائت شد.

$$\text{Chlorophyll a} = [12.7 \times (A663) - 2.69 \times (A645)] \times V / (100 \times W) \quad \text{معادله (۱)}$$

$$\text{Chlorophyll b} = [22.9 \times (A645) - 4.68 \times (A663)] \times V / (100 \times W) \quad \text{معادله (۲)}$$

$$\text{Carotenoid} = [1000 \times (A470) - 1.8 \text{chl a} - 85.02 \text{chl b}] / 198 \quad \text{معادله (۳)}$$

در این معادلات A645 و A663 به‌ترتیب طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر، V حجم نهایی نمونه ۱۰ میلی‌لیتر و W وزن تر برگ ۰/۵ گرم است. در نهایت داده‌ها بر اساس میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ ثبت شدند.

پس از جمع آوری داده‌ها، تجزیه داده‌ها و آزمون مقایسه میانگین آن‌ها با روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد با نرم افزار SAS نسخه

۹/۲ انجام گردید. رسم نمودارها در اکسل انجام شد.

نتایج و بحث

جدول شماره ۲، نتایج تجزیه واریانس اثر نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر تیمارهای مورد بررسی در گیاه مرزنجوش را نشان می دهد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر تیمارهای مورد بررسی در گیاه مرزنجوش

S.O.V	df	تعداد شاخه اصلی بوته	ارتفاع بوته	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	اسانس کل گیاه	کلروفیل a	کلروفیل b	کربوهیدرات
بلوک	۲	۱۸/۶۱ ^{ns}	۱۵/۹۵ ^{ns}	۶/۵۹ ^{ns}	۹/۶۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۱۵ ^{ns}
نیتروژن	۲	۶۶۲/۵۷ ^{**}	۲۳۴۵/۶۷ [*]	۵۵۳۳/۶ [*]	۴۴۸/۸۰ ^{**}	۰/۳۷۸ ^{**}	۰/۰۱۱۰ ^{**}	۰/۰۰۶۶ ^{**}	۴۳/۵۷ ^{**}
فسفر	۱	۳/۷۴ ^{ns}	۱۵/۰۸ [*]	۴۳/۶۹ ^{ns}	۳/۰۲ ^{**}	۰/۰۰۰۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ [*]	۰/۳۶ [*]
پتاسیم	۲	۱۶/۰۷ ^{ns}	۴۹/۰۸ [*]	۱۰۱/۸۴ [*]	۲۰/۴۳ ^{**}	۰/۰۲۵ ^{**}	۰/۰۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۴ ^{ns}	۲/۲۸ [*]
نیتروژن × فسفر	۲	۰/۸۸ ^{ns}	۰/۶۳ ^{ns}	۰/۳۸ ^{ns}	۷/۷۰ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}
نیتروژن × پتاسیم	۴	۲/۵۴ ^{ns}	۱۳/۱۱ ^{ns}	۵/۱۲ ^{ns}	۴/۳۱ ^{ns}	۰/۰۰۶ ^{**}	۰/۰۰۱۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}
فسفر × پتاسیم	۲	۰/۷۹ ^{ns}	۰/۶۲ ^{ns}	۳/۸۷ ^{ns}	۱/۸۳ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۱۳ ^{ns}
نیتروژن × فسفر × پتاسیم	۴	۰/۳۵ ^{ns}	۱/۳۰ ^{**}	۲/۴۲ ^{ns}	۳/۵۷ [*]	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}
خطا	۳۴	۱۰/۰۰	۲۱/۶۷	۲۱/۳۵	۱۷/۱۷	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۴۸	۰/۰۰۰۵	۲/۱۲
ضریب تغییرات	-	۱۷/۲	۸/۴	۳/۸	۱۰/۹	۴/۶	۶/۴	۱۰/۵	۱۲

ns، * و ** به ترتیب عدم معناداری و معناداری در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱ را نشان می‌دهد.

تعداد شاخه اصلی بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی نیتروژن بر تعداد شاخه اصلی بوته در سطح پنج درصد معنی دار بود اما دیگر اثرات ساده و متقابل بر این صفت معنی دار نبود (جدول ۲). نتایج نشان داد که بیشترین میزان تعداد شاخه اصلی در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به میزان ۲۳/۴۵ بدست آمد و کمترین در تیمار

شاهد به میزان ۱۱/۶۱ بدست آمد (شکل ۱). عنصر نیتروژن بیشترین تاثیر را بر رشد اندام‌های هوایی دارد و با افزایش سرعت جذب مواد خالص فتوسنتزی می‌توان تولید زیست توده گیاه را افزایش داد. زیست توده به صورت افزایش شاخه و ارتفاع گیاه افزایش می‌یابد (Ghobadi et al., 2022).



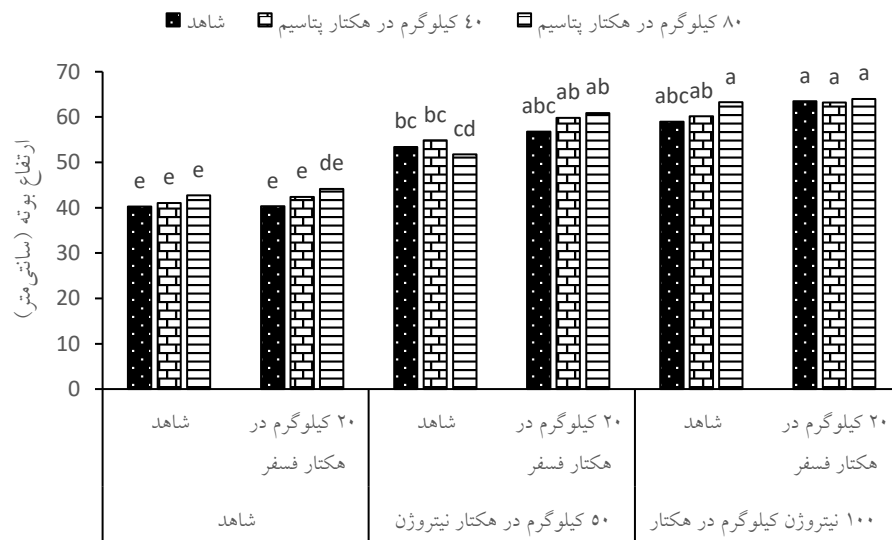
شکل ۱- اثر ساده نیتروژن بر تعداد شاخه اصلی بوته

ارتفاع بوته

مواد فتوسنتزی فراهم کرده است که در نهایت منجر به افزایش قابل توجه ارتفاع گیاه شده است (Yahaya *et al.*, 2023). محققان بر این باورند که فسفر کافی باعث بلندتر شدن گیاهان و داشتن ریشه‌های پهن تر می‌شود. به این ترتیب گیاهان می‌توانند از خاک بیشتری برای جذب مواد مغذی و رطوبت استفاده کنند که به نوبه خود باعث افزایش راندمان جذب و استفاده بیشتر عناصر غذایی می‌شود. به عبارت دیگر، فسفر می‌تواند از طریق افزایش رشد و جذب رطوبت مهم باشد (Yahaya *et al.*, 2023). پتاسیم نیز به دلیل نقش‌های فراوانی که در گیاهان به ویژه نقش‌های آنزیمی دارد، تأثیر بسزایی در رشد رویشی و ارتفاع گیاه دارد و با افزایش مقادیر کود پتاسیمی، ارتفاع گیاه افزایش می‌یابد.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی نیتروژن، فسفر و پتاسیم در صفت ارتفاع بوته در سطح پنج درصد معنی دار بود همچنین اثر متقابل نیتروژن در فسفر و اثر متقابل سه گانه آنها بر ارتفاع بوته در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲).

نتایج نشان داد که بیشترین میزان ارتفاع بوته در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و مصرف ۲۰ کیلوگرم در هکتار فسفر و در تمام سطوح تیمار پتاسیم به میزان ۶۳ سانتیمتر بدست آمد. همچنین نتایج نشان داد با عدم مصرف کودهای شیمیایی کمترین میزان ارتفاع بوته به میزان حدود ۴۱ سانتیمتر بدست آمد (شکل ۲). به نظر می‌رسد افزایش مصرف نیتروژن از طریق افزایش طول عمر و شاخص سطح برگ، شرایط مساعدتری را برای استفاده از نور خورشید و تولید



شکل ۲- اثر متقابل سه گانه نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر ارتفاع بوته

وزن تر برگ

گیاه نظیر آمینواسیدها، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و نوکلئیک اسیدها مورد استفاده قرار می‌گیرد، از آنجایی که آنزیم‌ها و آمینواسیدها نقش مهمی در بیوسنتز اسانس گیاهان بر عهده دارند (Ghadirnezhad Shiade *et al.*, 2024)، در این مطالعه نیز به نظر می‌رسد استفاده از کودهای شیمیایی بویژه نیتروژن با تداوم فعالیت سطح برگ، شرکت در ساختار کلروفیل و آنزیم‌های درگیر در متابولیسم کربن فتوسنتزی موجب افزایش وزن تر برگ شده است.

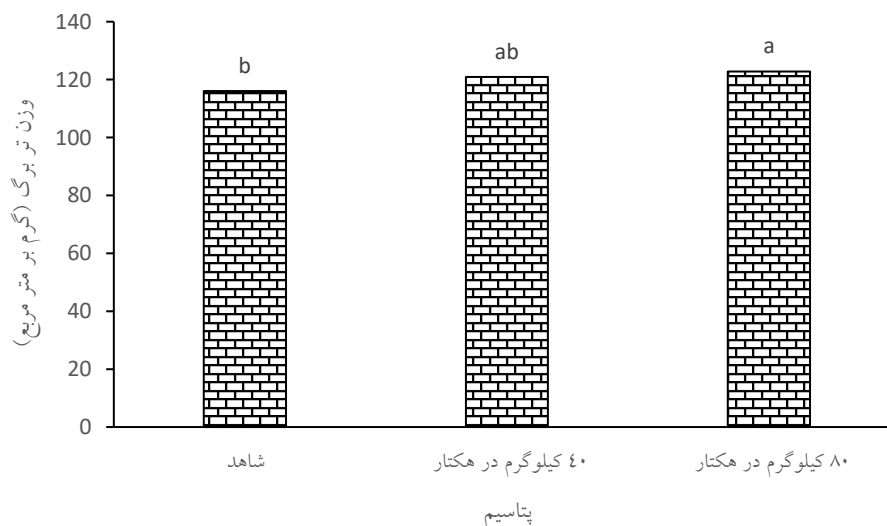
نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی نیتروژن و پتاسیم بر وزن تر برگ در سطح پنج درصد معنی دار بود اما دیگر اثرات ساده و متقابل بر این صفت معنی دار نبود (جدول ۲). نتایج نشان می‌دهد که بیشترین وزن تر برگ در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به میزان ۱۳۶/۸ گرم بر متر مربع بدست آمد که نسبت به حالت عدم مصرف ۳۴/۱ درصد افزایش نشان داد (شکل ۳). نیتروژن یکی از عناصر غذایی ضروری در گیاهان است که برای سنتز بسیاری از ترکیبات آلی در



شکل ۳- اثر ساده نیتروژن بر وزن تر برگ

در بهبود رشد و عملکرد دارد. مطالعات نشان داده‌اند که افزایش سطح پتاسیم می‌تواند تأثیر مثبتی بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه داشته باشد (Ahmad et al., 2018).

بیشترین وزن تر برگ در تیمار ۸۰ کیلوگرم در هکتار پتاسیم میزان ۱۳۶/۸ گرم بر متر مربع بدست آمد که نسبت به حالت عدم مصرف ۵/۸ درصد افزایش نشان داد (شکل ۴). مصرف پتاسیم در گیاهان نقش مهمی



شکل ۴- اثر ساده پتاسیم بر وزن تر برگ

وزن خشک برگ

فرعی در گیاه می شود، گیاهانی که با سطوح پایین نیتروژن کوددهی می شوند، معمولاً دارای ارتفاع کوتاه، شاخ و برگ کم و دارای برگ‌های زرد رنگ هستند و پوشش گیاهی نازک و ضعیف دارند که در نهایت منجر به کاهش عملکرد در گیاهان می گردد (Fathi, 2022). در این مطالعه مشاهده شد عدم کاربرد کود شیمیایی بویژه نیتروژن منجر به عدم توسعه برگ‌ها و ریزش برگ‌ها در مرزنجوش شده است. کمبود عناصر غذایی با تاثیر بر فعالیت فتوسنتزی گیاه و افزایش تنفس منجر به کم شدن مواد هیدروکربنی شده در نتیجه کاهش رشد و عملکرد می‌گردد. حضور عناصر غذایی در غلظت‌های بهینه باعث افزایش میزان فتوسنتز گیاه می‌گردد که این عمل منجر به توسعه سطح برگ و تعداد شاخه‌های فرعی می‌شود. در نتیجه وزن گیاه با افزایش غلظت عناصر افزایش می‌یابد (Yahaya *et al.*, 2023).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر وزن خشک برگ در سطح یک درصد معنی دار بود. همچنین اثر متقابل سه گانه بر این صفت معنی دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک برگ در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و مصرف ۲۰ کیلوگرم در هکتار فسفر و مصرف ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم در هکتار پتاسیم به میزان ۴۳ گرم بر متر مربع بدست آمد. همچنین نتایج نشان داد با عدم مصرف کودهای شیمیایی کمترین میزان وزن خشک برگ به میزان حدود ۲۶/۸ گرم بر متر مربع بدست آمد (شکل ۵). با افزایش مصرف کود نیتروژن، فسفر و پتاس و وزن خشک برگ افزایش یافته است. گزارش شده است کمبود نیتروژن باعث ریزش برگ از قسمت پایینی گیاه می‌گردد (Fathi, 2022). نیتروژن نقش مؤثری در نمو یاخسته‌های جدید دارد و باعث افزایش رشد رویشی و تعداد شاخساره‌های

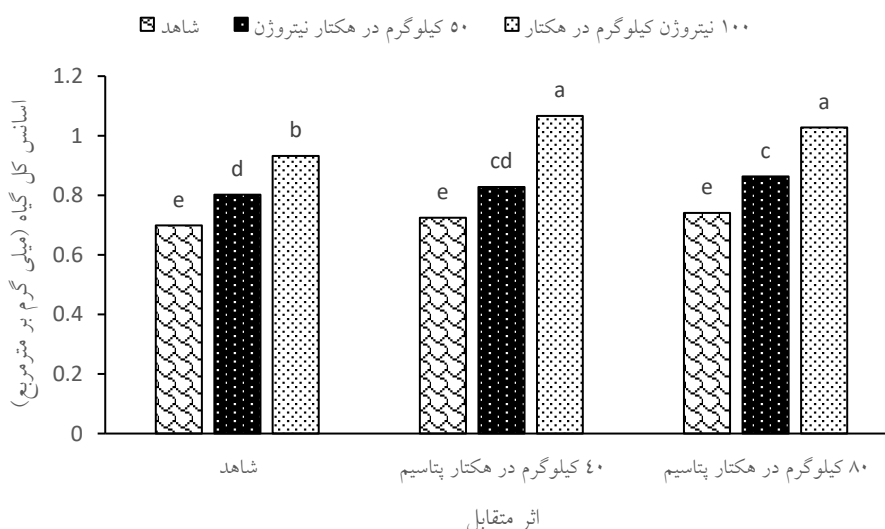


شکل ۵- اثر متقابل سه گانه نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر وزن خشک برگ

اسانس کل گیاه

واحد سازنده آنها (ایزونوئیدها) مانند ایزوپنتنیل پیروفسفات و دی متیل آلیل پیروفسفات، نیاز مبرم به ATP و NADPH دارند و باتوجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر نیتروژن و پتاسیم برای تشکیل ترکیبات اخیر ضروری می باشد، در نهایت بهبود عملکرد اسانس در پی افزایش عناصر غذایی در گیاهان مشاهده شد. در شرایط مصرف کم یا عدم کاربرد کود شیمیایی میزان درصد اسانس برگهای مرزنجوش کاهش یافت. افزایش محتوای اسانس گیاهان با افزایش غلظت عناصر غذایی در مطالعات قبلی نیز گزارش شده است (Sifola & Babieri, 2006).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی نیتروژن و پتاسیم و اثر متقابل نیتروژن در پتاسیم بر اسانس کل گیاه در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد با مصرف ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و مصرف ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم پتاسیم بیشترین اسانس کل گیاه به میزان ۱/۰۲ و ۱/۰۶ میلی گرم بر متر مربع بدست آمد و در حالت عدم مصرف کود نیتروژن و پتاسیم کمترین میزان اسانس ۰/۶۹ میلی گرم بر متر مربع بدست آمد (شکل ۶). Gharib و همکاران (2008) گزارش کردند که با افزایش غلظت نیتروژن کل فراهم شده درصد وزنی اسانس در گیاه مرزنجوش افزایش پیدا کرد. اسانس ها ترکیباتی ترپنوئیدی بوده که



شکل ۶- اثر متقابل دوگانه گانه نیتروژن و پتاسیم بر اسانس کل گیاه

کلروفیل a

(جدول ۲). نتایج نشان می دهد که بیشترین کلروفیل a در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به میزان ۰/۳۵ میلی گرم بر گرم وزن تر بدست آمد که نسبت

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی نیتروژن در کلروفیل a در سطح یک درصد معنی دار بود اما دیگر اثرات ساده و متقابل بر این صفت معنی دار نبود

شرایط کمبود نیتروژن، گیاهان دچار زردی برگ‌ها می‌شوند که ناشی از کاهش تولید کلروفیل است. همچنین، نیتروژن بر شاخص سبزیگی و فلورسانس کلروفیل تأثیر دارد، به‌طوری‌که کمبود آن می‌تواند عملکرد کوانتومی فتوسیستم II را کاهش دهد (Chen *et al.*, 2024).

به حالت عدم مصرف ۱۲/۹ درصد افزایش نشان داد (شکل ۷). کلروفیل a فراوان‌ترین نوع کلروفیل در گیاهان است و در واکنش‌های مرکزی فتوسنتز نقش دارد. مطالعات نشان داده‌اند که افزایش نیتروژن باعث افزایش غلظت کلروفیل a در برگ‌ها می‌شود، زیرا نیتروژن یکی از اجزای اصلی ساختار کلروفیل است (Ghadirnezhad Shiade *et al.*, 2023).



شکل ۷- اثر ساده نیتروژن بر کلروفیل a

کلروفیل b

داد (شکل ۸). نیتروژن علاوه بر تأثیر مستقیم بر کلروفیل b، در تنظیم فعالیت آنزیم‌های مرتبط با فتوسنتز نیز نقش دارد. افزایش نیتروژن می‌تواند موجب بهبود جذب نور و افزایش کارایی فتوسنتز شود، در حالی که کمبود آن باعث کاهش سرعت فتوسنتز و کاهش تولید زیست‌توده گیاه می‌شود (Muhammad *et al.*, 2022).

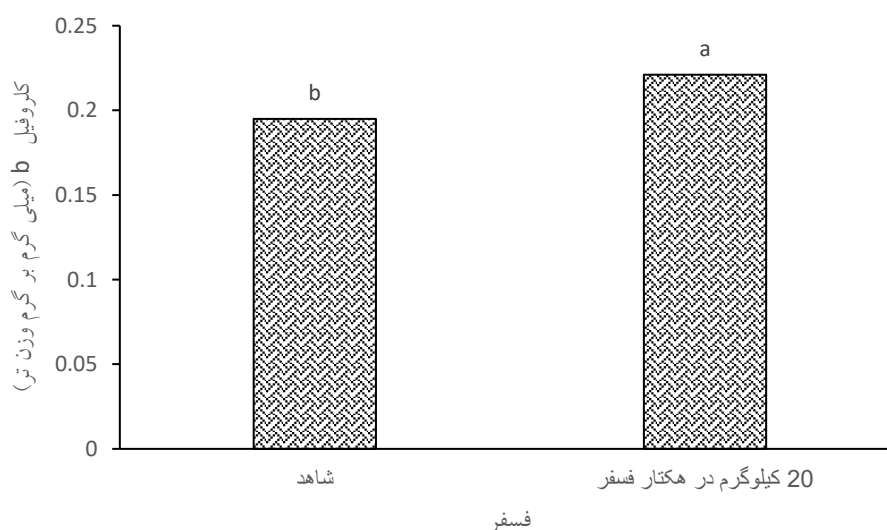
نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی نیتروژن و فسفر در کلروفیل b در سطح یک درصد معنی دار بود اما دیگر اثرات ساده و متقابل بر این صفت معنی دار نبود (جدول ۲). نتایج نشان می‌دهد که بیشترین کلروفیل b در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به میزان ۰/۳۵ میلی گرم بر گرم وزن تر بدست آمد که نسبت به حالت عدم مصرف ۱۲/۹ درصد افزایش نشان



شکل ۸- اثر ساده نیتروژن بر کلروفیل b

افزایش فسفر در خاک می تواند موجب افزایش غلظت کلروفیل در برگ ها شود، زیرا فسفر در سنتز پروتئین ها و آنزیم های مرتبط با فتوسنتز نقش دارد (Khan *et al.*, 2023).

بیشترین کلروفیل b در تیمار ۲۰ کیلوگرم در هکتار فسفر به میزان ۰/۲۲ میلی گرم بر گرم وزن تر بدست آمد که نسبت به حالت عدم مصرف ۱۵/۷ درصد افزایش نشان داد (شکل ۹). مطالعات نشان داده اند که



شکل ۹- اثر ساده فسفر بر کلروفیل b

کربوهیدرات

افزایش می‌دهد. با این حال، مصرف بیش از حد نیتروژن ممکن است منجر به افزایش رشد رویشی و کاهش تخصیص کربوهیدرات‌ها به اندام‌های ذخیره‌ای شود (Yaakob *et al.*, 2021). مطالعات نشان داده‌اند که افزایش فسفر می‌تواند موجب بهبود فتوسنتز و افزایش ذخیره‌سازی کربوهیدرات‌ها در اندام‌های ذخیره‌ای شود (Iqbal *et al.*, 2023). پتاسیم عنصر تأثیر مستقیمی بر انتقال کربوهیدرات‌ها از برگ‌ها به اندام‌های ذخیره‌ای مانند ریشه و دانه دارد. پتاسیم همچنین در تنظیم فعالیت آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم کربوهیدرات‌ها نقش دارد و کمبود آن می‌تواند منجر به کاهش انتقال و ذخیره‌سازی کربوهیدرات‌ها شود (Johnson *et al.*, 2022).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر کربوهیدرات در سطح یک درصد معنی دار بود همچنین اثر متقابل آنها بر این صفت معنی دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک برگ در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و مصرف ۲۰ کیلوگرم در هکتار فسفر و ۸۰ کیلوگرم در هکتار پتاسیم به میزان ۱۴/۰۳ میکروگرم بر گلوکز در گرم وزن تر بدست آمد. همچنین نتایج نشان داد با عدم مصرف کودهای شیمیایی کمترین میزان وزن خشک برگ به میزان ۸/۳۱ میکروگرم بر گلوکز در گرم وزن تر بدست آمد (شکل ۱۰). افزایش نیتروژن باعث افزایش تولید کربوهیدرات‌ها می‌شود، زیرا فتوسنتز را تقویت کرده و میزان جذب نور را



شکل ۱۰- اثر متقابل سه گانه نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر کربوهیدرات

نتیجه گیری

برای بهبود عملکرد کمی و کیفی این گیاه دارویی در شرایط منطقه مورد مطالعه به کار گرفته شود. با توجه به الگوی پاسخ گیاه، پیشنهاد می شود در تحقیقات آینده سطوح کودی در قالب تیمارهای ساده تر (مانند مقایسه شاهد و نیتروژن یا پتاسیم) نیز بررسی شود تا ضمن کاهش پیچیدگی طرح، امکان تبیین دقیق تر نقش عناصر اصلی در بهبود ویژگی های رشدی و فیزیولوژیکی مرزنجوش فراهم گردد.

نتایج این پژوهش نشان داد که عناصر پرمصرف، به ویژه نیتروژن و پتاسیم، نقش برجسته ای در افزایش تولید اسانس و بهبود صفات رشدی و فیزیولوژیکی گیاه مرزنجوش دارند. کاربرد این عناصر باعث افزایش تعداد شاخه ها، ارتفاع گیاه و بیوماس برگ شد و همچنین غلظت رنگیزه های فتوسنتزی و کربوهیدرات مرزنجوش را تحت تأثیر مثبت و معناداری قرار داد. به طور کلی، مدیریت صحیح تغذیه با کودهای NPK می تواند به عنوان یک راهکار مؤثر

REFERENCES

- Abbas, S., Javed, M. T., Ali, Q., Azeem, M., & Ali, S. (2021). Nutrient deficiency stress and relation with plant growth and development. In *Engineering tolerance in crop plants against abiotic stress* (pp. 239-262). CRC Press.
- Afra, J. M., Habibi, E., Fathi, A., Saleem, A., Ghadimi, F., Khazainezhad, S., Rezazadeh, R., Danafar, T., Kheyri, Y., Nozari, F., & Avish, Z. (2022). Influence of Chemical Fertilizers and Animal Manure on Morphological Traits of Medicinal Plants in Northern Iran. *Research On Crop Ecophysiology*, 17(2), 86-101.
- Ahmad, Z., Anjum, S., Waraich, E. A., Ayub, M. A., Ahmad, T., Tariq, R. M. S., ... & Iqbal, M. A. (2018). Growth, physiology, and biochemical activities of plant responses with foliar potassium application under drought stress—a review. *Journal of Plant Nutrition*, 41(13), 1734-1743.
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-5.
- Badalingappanavar, R., Hanumanthappa, M., Veeranna, H. K., Kolakar, S., & Khidrapure, G. (2018). Organic fertilizer management in cultivation of medicinal and aromatic crops: a review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(3S), 126-129.
- Barari Tari, D., Fathi, A., Fallah, H. and Nicknejad, Y. (2020). Effect of tillage systems and fertilization (NPK) on quantitative and qualitative traits of corn (*Zea mays* L.). *Journal of Plant Ecophysiology*, 12(40): 102-115.
- Cala, A., Salcedo, J. R., Torres, A., Varela, R. M., Molinillo, J. M., & Macías, F. A. (2021). A study on the phytotoxic potential of the seasoning herb marjoram (*Origanum majorana* L.) leaves. *Molecules*, 26(11), 3356. doi:10.3390/molecules26113356
- Chen, L. H., Xu, M., Cheng, Z., & Yang, L. T. (2024). Effects of nitrogen deficiency on the photosynthesis, chlorophyll a fluorescence, antioxidant system, and sulfur compounds in *Oryza sativa*. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19), 10409.
- Elfiky, A. M., Shawky, E., Khattab, A. R., & Ibrahim, R. S. (2022). Integration of NIR

- spectroscopy and chemometrics for authentication and quantitation of adulteration in sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Microchemical Journal*, 183, 108125. doi:10.1016/j.microc.2022.108125
- Farnia, R., Sateei, A., Ebadi, M., & Ahmadi Golsefidi, M. (2022). The effect of sulfur fertilizers in intensifying or modulating the stressful effects of NPK fertilizer on the ornamental-medicinal plant *Euphorbia tirucalli* L. in potted conditions. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 17(68), 123-139.
- Farsi, M., Abdollahi, F., Salehi, A., & Ghasemi, S. (2020). Effect of methyl jasmonate on growth and essential oil content of marjoram (*Origanum majorana* L.) under drought stress conditions. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 33(3), 698-712. doi:20.1001.1.23832592.1399.33.3.14.8
- Fathi, A. (2022). Role of nitrogen (N) in plant growth, photosynthesis pigments, and N use efficiency: A. *Agrisost*, 28, 1-8.
- Fathi, A., & Afra, J. M. (2023). Plant growth and development in relation to phosphorus: A review. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Agriculture*, 80(1), 1-7.
- Ghadirnezhad Shiade, S. R., Fathi, A., Kardoni, F., Pandey, R., & Pessarakli, M. (2024). Nitrogen contribution in plants: recent agronomic approaches to improve nitrogen use efficiency. *Journal of Plant Nutrition*, 47(2), 314-331.
- Gharib, F. A., Moussa, L. A., & Massoud, O. N. (2008). Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Majorana hortensis*) plant. *International Journal of Agriculture and Biology*, 10(4), 381-387.
- Ghobadi, F., Hosseini, N. M., Oveisi, M., & Akbari, G. (2022). Effect of different levels of irrigation and nitrogen fertilizer on yield and yield components of some safflower cultivars in Alborz province.
- Hong, J., Xu, F., Chen, G., Huang, X., Wang, S., Du, L., & Ding, G. (2022). Evaluation of the effects of nitrogen, phosphorus, and potassium applications on the growth, yield, and quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Agronomy*, 12(10), 2477.
- Iqbal, A., Qiang, D., Xiangru, W., Huiping, G., Hengheng, Z., Xiling, Z., & Meizhen, S. (2023). Phosphorus and carbohydrate metabolism contributes to low phosphorus tolerance in cotton. *BMC Plant Biology*, 23(1), 97.
- Johnson, R., Vishwakarma, K., Hossen, M. S., Kumar, V., Shackira, A. M., Puthur, J. T., ... & Hasanuzzaman, M. (2022). Potassium in plants: Growth regulation, signaling, and environmental stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 172, 56-69.
- Khan, F., Siddique, A. B., Shabala, S., Zhou, M., & Zhao, C. (2023). Phosphorus plays key roles in regulating plants' physiological responses to abiotic stresses. *Plants*, 12(15), 2861.
- Kharazmi, M., Mohammadkhani, N., & Servati, M. (2023). Effect of phosphorus deficiency on growth properties and essential oil of *Salvia officinalis* L. and *Mentha aquatica* L. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 36(1), 1-15.
- Malhotra, H., Vandana, Sharma, S., & Pandey, R. (2018). Phosphorus nutrition: plant growth in response to deficiency and excess. *Plant nutrients and abiotic stress tolerance*, 171-190.

- Mirzaei Heydari, M., Fathi, A., & Atashpikar, R. (2024). The effect of chemical and biofertilizer on the nutrient concentration of root, shoot and seed of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under drought stress. *Crop Science Research in Arid Regions*, 5(3), 539-554.
- Muhammad, I., Yang, L., Ahmad, S., Farooq, S., Al-Ghamdi, A. A., Khan, A., ... & Zhou, X. B. (2022). Nitrogen fertilizer modulates plant growth, chlorophyll pigments and enzymatic activities under different irrigation regimes. *Agronomy*, 12(4), 845.
- Odoom, A., & Ofosu, W. (2024). Role of phosphorus in the photosynthetic dark phase biochemical pathways. In *Phosphorus in soils and plants*. IntechOpen.
- Pirvash, A., Sheikh-Mohseni, M. A., & Nejadhabibvash, F. (2021). Morphological characteristics and total phenol concentration in hydroalcoholic extract of *Echinacea purpurea* L. influenced by different nitrogen sources. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 37(3), 457-474.
- Rajput, P., Kumar, P., Priya, A. K., Kumari, S., Shiade, S. R. G., Rajput, V. D., ... & Rensing, C. (2024). Nanomaterials and biochar mediated remediation of emerging contaminants. *Science of The Total Environment*, 916, 170064.
- Rawat, J., Pandey, N., & Saxena, J. (2022). Role of potassium in plant photosynthesis, transport, growth and yield. *Role of potassium in abiotic stress*, 1-14.
- Schlegel, H. G. (1956). Die verwertung organischer säuren durch *Chlorella* im licht. *Planta*, 47, 510-526.
- Sifola, M. I., & Barbieri, G. (2006). Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. *Scientia Horticulturae*, 108(4), 408-413.
- Wu, J., Leng, D., Huo, J., Zhang, R., & Du, X. (2024). Topping and NPK fertilization alter seed germination, plant growth and active components of *Valeriana amurensis*. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1430507.
- Yaakob, M. A., Mohamed, R. M. S. R., Al-Gheethi, A., Aswathnarayana Gokare, R., & Ambati, R. R. (2021). Influence of nitrogen and phosphorus on microalgal growth, biomass, lipid, and fatty acid production: an overview. *Cells*, 10(2), 393.
- Yahaya, S. M., Mahmud, A. A., Abdullahi, M., & Haruna, A. (2023). Recent advances in the chemistry of nitrogen, phosphorus and potassium as fertilizers in soil: A review. *Pedosphere*, 33(3), 385-406.
- Zamani, Z., Zeidali, E., Alizadeh, H. A., & Fathi, A. (2023). Effect of drought stress and nitrogen chemical fertilizer on root properties and yield in three quinoa cultivars (*Chenopodium quinoa* Willd). *Crop Science Research in Arid Regions*, 5(2), 487-500.