نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۱، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۶، ص. ۸۳۵-۸۲۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 31, No. 4, Winter 2018, P. 825-835
ISSN: 2008 - 4730

ارزیابی کمی و کیفی اسانس دو اکوتایپ نعناع دشتی (*Mentha spicata* L.) در زمان‌های مختلف برداشت

محمد محمودی سورستانی[1*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۱۵

چکیده

زمان برداشت گیاهان دارویی در ماه‌های مختلف سال باعث تغییر تولید ماده مؤثره گیاهان می‌شوند. در پژوهش حاضر، کمیت و کیفیت دو اکوتایپ نعناع کاشان و شوشتر در پنج زمان مختلف برداشت مورد ارزیابی قرار گرفت. اسانس نمونه‌ها به کمک کلونجر و به مدت سه ساعت استخراج و با دستگاه‌های گازکروماتوگراف و گازکروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج نشان داد که شرایط دمایی و رطوبتی حاکم بر منطقه در فواصل زمانی برداشت اثر معنی‌داری روی رشد گیاهان و نهایتا وزن خشک برگ گیاه، میزان و اجزای اسانس دارد. بیشترین وزن خشک برگ نعناع کاشان و شوشتر به ترتیب در برداشت‌های سوم و پنجم مشاهده شد ولی برداشت پنجم نعناع شوشتر با برداشت سوم اختلاف معنی‌داری نداشت. عملکرد تجمعی برگ خشک نعناع کاشان و شوشتر به ترتیب ۱۰۶۶/۳۷ و ۱۱۹۹/۷۹ گرم در متر مربع بود. بیشترین میزان اسانس نعناع کاشان و شوشتر به ترتیب در برداشت‌های سوم و دوم ثبت گردید. عملکرد تجمعی اسانس نعناع کاشان و شوشتر به ترتیب ۲۷/۵۸ و ۲۱/۸۰ گرم در متر مربع بود. اجزای اصلی نعناع کاشان و شوشتر شامل کاروُن، لیمونن، سیس دی هیدروکاروُن و ترانس کاریوفیلن بودند. روند تغییرات کاروُن و سیس دی هیدروکاروُن عکس یکدیگر بودند. با این وجود، مقدار کاروُن در تمام برداشت‌ها بیش از ۵۰ درصد بود. در مجموع، با توجه به نتایج بازده و کیفیت اسانس، بهترین زمان برداشت دو اکوتایپ، برداشت دوم و سوم بود ولی با مقایسه بازده اسانس و مقدار کاروُن در اسانس پژوهش حاضر با پژوهش‌های قبلی، برداشت دو اکوتایپ در زمان‌های برداشت مورد مطالعه توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: زمان برداشت، سیس دی هیدروکاروُن، کاروُن، لیمونن، نعناع

مقدمه

خانواده نعناع[2] با بیش از ۲۰۰ جنس و ۳۰۰۰ گونه، از نظر اقتصادی و دارویی اهمیت بسیار زیادی دارد. جنس نعناع[3] حاوی ۲۵ تا ۳۰ گونه است که در مناطق مختلف معتدله آسیا، اروپا، استرالیا و آفریقای جنوبی رشد می‌کند. تنوع بسیار زیادی از نظر ترکیب شیمیایی در بین گونه‌های جنس نعناع مشاهده می‌شود (۱۹). اسانس نعناع دشتی[4] غنی از کاروُن[5] است که عطر مخصوص نعناع را تولید می‌کند (۱۰). قیمت بالای کاروُن در بازار، اصلاح‌گران را در جهت اصلاح گونه‌های نعناع با کاروُن بالا سوق داده است. در این راستا ژنوتیپ‌های غنی از کاروُن (۶۰ تا ۷۰٪) در بازار موجود می‌باشد که می‌توان به MSS-1 (۶۰٪ کاروُن)، Punjab Spearmint-1 (۶۸٪ کاروُن) و MSS-5 (۷۰٪ کاروُن) اشاره نمود (۵). گیاه تازه و خشک شده و همچنین اسانس آن در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی و دارویی استفاده می‌شود (۱۲).

شرایط اقلیمی مهمترین عامل مؤثر در رشد گیاهان محسوب می‌شوند و تغییرات اقلیمی تأثیر شگرفی بر مؤلفه‌های رویشی و تولید اقتصادی ماده مؤثره گیاهان دارویی می‌گذارد. زمان برداشت گیاهان دارویی چه در طول روز و چه در مراحل فنولوژیکی مختلف نقش عمده‌ای در تغییر تولید ماده مؤثره گیاهان دارند و این امر به دلیل نوسان فعالیت‌های متابولیکی گیاه تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی در طول رشد گیاه می‌باشد (۱۹). در پژوهش انجام شده توسط سلطانی و همکاران (۲۱) مشخص شد که ترکیب اسانس نعناع فلفلی

۱- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز
(*- نویسنده مسئول: Email: f_mahmoodi2000@yahoo.com)
DOI: 10.22067/jhorts4.v31i4.63776

2- Lamiaceae
3- *Mentha*
4- *Mentha spicata* L.
5- Carvone

در دو مرحله از رشد نعناع با هم متفاوت است. میزان منتول در برداشت اول نسبت به برداشت دوم کمتر و ترکیبات ناخواسته مانند منتوفوران و پولگون در ترکیب اسانس وجود داشت، در حالی‌که در برداشت دوم میزان منتول بیشتر و ترکیبات منتوفوران و پولگن بسیار ناچیز بود. تحقیقات بیشتر در این زمینه نشان داد که افزایش مقدار منتول در برداشت دوم در اثر فعالیت بیشتر آنزیم منتون ردوکتاز است. اکبری نیا و همکاران (۲) نشان دادند که زمان برداشت روی عملکرد سرشاخه هوایی و میزان اسانس آویشن دنایی تأثیر می‌گذارد. نوسانات دمایی و رطوبتی در طول دوره رشد گیاهان در استان خوزستان بسیار زیاد است که می تواند روی کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان اثر بگذارد. نتایج تحقیقات قبلی در ارتباط با اثر اقلیم و زمان برداشت روی کمیت و کیفیت اسانس نعناع دشتی نشان داد که مقدار اسانس و میزان کاروُن به عنوان ترکیب اصلی اسانس به شدت متأثر از شرایط دمایی در منطقه است (۱۵ و ۱۶). تحقیق حاضر با هدف بررسی کمیت و کیفیت اسانس دو اکوتایپ نعناع دشتی منطقه صفی‌آباد دزفول در پنج چین (زمان برداشت) انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در مزرعه گیاهان دارویی شرکت گلکاران واقع در بخش صفی آباد از توابع شهرستان دزفول با محدوده جغرافیایی ۳۲ درجه و ۱۶ دقیقه عرض شمالی از خط استوا و ۴۸ درجه و ۲۵ دقیقه طول شرقی و با ۸۲ متر ارتفاع از سطح دریا طی سال زراعی ۱۳۹۴ اجرا گردید. دو آزمایش جداگانه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار (زمان برداشت) در دو اکوتایپ کاشان و شوشتر (شکل ۱) از نعناع دشتی با سه تکرار انجام شد. اولین برداشت در اواسط اردیبهشت، دومین برداشت در اواسط تیر، سومین برداشت در اوایل شهریور، چهارمین برداشت در اواسط مهر و پنجمین برداشت در اوایل آذر انجام شد.

نعناع کاشان

نعناع شوشتر

شکل ۱- نمایی از دو اکوتایپ نعناع دشتی کاشان و شوشتر در مرحله گلدهی

Figure 1- A view of two ecotypes of spearmint (*Mentha spicata* L.) "Kashan" and "Shushtar"

گیاهان از نظر سن، دوساله و تمام سطح زمین را پوشانده بودند. آبیاری مزرعه بصورت هفتگی یک بار انجام شد. همچنین ۱۵۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار محاسبه و بصورت تقسیط شده بعد از هر چین به زمین داده شد. علف‌های هرز بصورت دستی کنترل گردید. برداشت گیاهان زمانی انجام گرفت که گیاهان از نظر رشد رویشی به حداکثر مقدار رسیده و وارد فاز زایشی شده بودند. نمونه‌گیری بدین صورت بود که سه متر مربع در محل‌های مختلف از هر مزرعه (در هر تکرار یک متر مربع) انتخاب و کل پیکر رویشی گیاهان از ارتفاع ۵ سانتی‌متری از سطح خاک برداشت و به آزمایشگاه منتقل و در سایه خشک شدند. سپس پیکر رویشی خرد و اسانس گیاه با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت استخراج گردید. جهت حذف رطوبت اضافی از نمونه‌های اسانس، مقدار کمی سولفات‌سدیم به آن ها اضافه شد و اسانس‌ها درون ظروف‌های تیره و در دمای یخچال نگهداری شدند. میزان اسانس به صورت درصد وزنی- وزنی محاسبه شد:

$$\text{میزان اسانس (٪)} = \frac{\text{وزن اسانس بدست آمده}}{\text{مقدار وزن خشک گیاه اسانس گیری شده}} \times ۱۰۰ \quad (۱)$$

عملکرد اسانس از حاصل ضرب میزان اسانس در عملکرد پیکر رویشی خشک یک متر مربع حاصل گردید.

جهت شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس‌ها از دستگاه کروماتوگرافی‌گازی[1] و کروماتوگرافی‌گازی متصل به طیف سنج جرمی[2] استفاده شد. اسانس‌ها به دستگاه جرمی تزریق شده و طیف

1- Gas Chromatography (GC)
2- Gas Chromatography- Mass spectrometry (GC/MS)

جرمی ترکیب‌ها بدست آمد. شناسایی طیف‌ها به کمک بانک اطلاعات جرمی، زمان بازداری، مطالعه طیف‌های جرمی هر یک از اجزاء اسانس و بررسی الگوهای شکست آن‌ها، مقایسه آن‌ها با طیف‌های استاندارد و استفاده از منابع معتبر انجام گردید (۱). درصد کمی هر ترکیب بر اساس سطح زیر منحنی و توسط برنامه‌ریزی رایانه‌ای مشخص گردید.

گازکروماتوگرافی مورد استفاده مدل Varian 3800 و ستون استفاده شده CP-Sil8-CB (به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۳۲ میلی‌متر، ضخامت لایهٔ فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر) بود. دمای اولیه ۴۰ درجه سانتی‌گراد (با زمان نگهداری ۱ دقیقه) بود که با ۵ درجه سانتی‌گراد افزایش در هر دقیقه به دمای نهایی ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد رسید. درجه حرارت محفظه تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۸۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. سرعت گاز حامل (هلیوم) ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه بود.

گازکروماتوگراف متصل به طیف‌سنجی جرمی از نوع Agilent مدل ۵۹۷۵ ستون HP-۵ ms (به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایهٔ فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر) بود. درجه حرارت محفظه تزریق و آشکارساز و همچنین برنامه دمایی ستون و گاز حامل مشابه گاز کروماتوگراف بود. زمان اسکن برابر یک ثانیه و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (Ver. 8.2) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سپس میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel (2010) استفاده شد.

نتایج و بحث

وزن خشک برگ

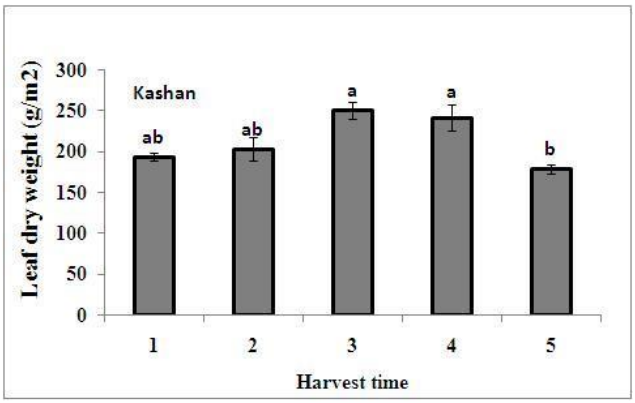
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین زمان‌های برداشت دو اکوتایپ نعناع از نظر وزن خشک برگ، اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود داشت. بیشترین (۲۵۰/۶۷ گرم در متر مربع) و کمترین مقدار (۱۷۷/۹۳ گرم در متر مربع) وزن خشک برگ نعناع کاشان به ترتیب در برداشت‌های سوم و پنجم مشاهده شدند. بین برداشت‌های اول تا چهارم نعناع کاشان از نظر وزن خشک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین (۲۹۰/۲۳ گرم در متر مربع) و کمترین مقدار (۱۸۳/۵۳ گرم در متر مربع) وزن خشک برگ نعناع شوشتر به ترتیب در برداشت‌های پنجم و دوم مشاهده شدند. بین برداشت‌های اول، سوم، چهارم و پنجم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۲). عملکرد تجمعی برگ خشک نعناع کاشان و شوشتر به ترتیب ۱۰۶۶/۳۷ و ۱۱۹۹/۷۹ گرم در متر مربع بود.

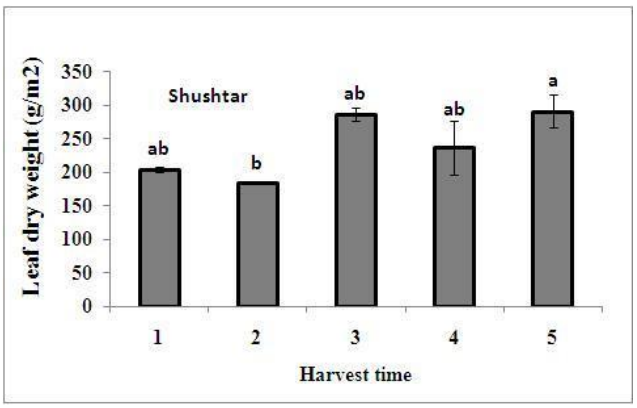
زلجاسکوف[1] و همکاران (۲۶) نعناع را در شش زمان مختلف برداشت نمودند و نتیجه گرفتند که برداشت آخر (ششم) بیشترین عملکرد بیوماس تر و خشک را دارا می‌باشد. روش انجام آزمایش، دلیل تناقض در نتایج پژوهش آنها و نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. در آزمایش مذکور آنها فقط یکبار در زمان‌های مشخص در طول سال از ژوئن (۵۳ روز پس از کاشت نعناع) تا سپتامبر (۱۲۳ روز پس از کاشت نعناع) گیاهان را برداشت نمودند در حالی‌که در پژوهش حاضر هر اکوتایپ نعناع پنج بار برداشت گردید. بنابراین از نظر بیوماس نتایج دو تحقیق قابل قیاس نمی‌باشد. در مطالعه دیگری زلجاسکوف و همکاران (۲۸) اظهار داشتند که گیاه ریحان در برداشت اول در حال استقرار سیستم ریشه است و ساقه کمتری تولید می‌نماید ولی با برداشت گیاه، نسبت ریشه به ساقه تغییر و گیاه شروع به تولید شاخه و برگ بیشتری می‌نماید و عملکرد گیاه در برداشت های بعدی افزایش می‌یابد. در پژوهش حاضر، مزرعه نعناع های مورد مطالعه دوساله بودند و گیاهان تمام سطح مزرعه را پوشانده بودند و استدلال فوق برای نتایج بدست آمده در این تحقیق کارایی ندارد و عمده تغییرات وزن خشک برگ تابع اثر شرایط اقلیمی بر رشد گیاهان در طول برداشت‌های مختلف بود. علاوه بر این، شرایط محیطی به ویژه دما، رطوبت خاک و تغذیه گیاه ممکن است روی شاخص‌های فتوسنتزی گیاهان تأثیر داشته باشد و منجر به کاهش یا افزایش عملکرد تجمعی پیکر رویشی گیاه گردد (۱۳، ۱۴ و ۱۷).

میزان اسانس

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین زمان‌های برداشت از نظر میزان اسانس اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت. بیشترین میزان اسانس (۳/۳۳ درصد) نعناع کاشان در برداشت سوم ثبت گردید و با برداشت چهارم اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان اسانس (۱/۷۲درصد) در برداشت اول مشاهده شد و با برداشت دوم و پنجم اختلاف معنی‌داری نداشت. بیشترین میزان اسانس نعناع شوشتر (۲/۵۳ درصد) آن در برداشت دوم و کمترین مقدار نیز در برداشت اول ثبت گردید که با برداشت‌های سوم و پنجم اختلاف معنی‌داری نداشت. میزان اسانس برداشت چهارم در گروه جداگانه‌ای قرار داشت (شکل ۳). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که درصد اسانس بسته به ژنوتیپ گیاه تحت تأثیر زمان برداشت قرار می‌گیرد. حداکثر اسانس نعناع کاشان در برداشت‌های سوم و چهارم که مصادف با افزایش دمای هوا و همچنین طول روز بود، ثبت گردید. به نظر می‌رسد که دمای بالا در طول ماه‌های تابستان روی میزان اسانس گیاهان اثر گذاشته است.

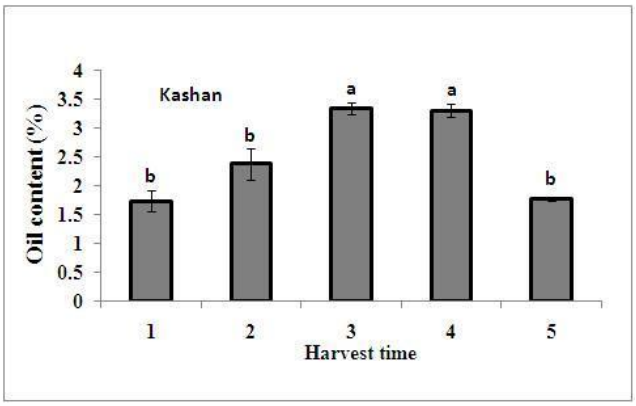
1- Zheljazkov

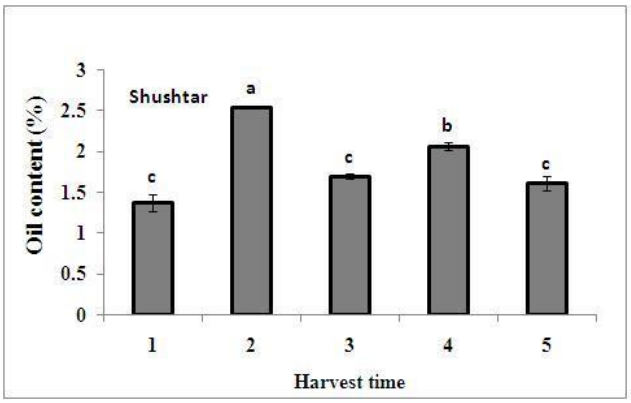




شکل ۲- اثر زمان برداشت روی وزن خشک برگ دو اکوتایپ نعناع دشتی (*Mentha spicata* L.) کاشان و شوشتر
ستون‌های با حروف متفاوت نشاندهنده اختلاف معنی‌دار بین زمان‌های برداشت در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می باشد
Figure 2- The effect of harvest time (cut) on leaf dry weight of two ecotypes of spearmint (*Mentha spicata* L.) "Kashan" and "Shushtar"
Columns with different letters show significant difference ($P\leq0.5$) between harvest times based on Duncan's multiple range test

نتایج پژوهش پیشین روی نعناع در دو منطقه حمیدیه و شوشتر، فرضیه مطرح شده را تائید می‌نماید (۱۵ و ۱۶). در یک مطالعه به رابطه نزدیک بین طول روز بلند، بلوغ گیاه و افزایش اسانس اشاره شده است (۱۸). علاوه بر آن، طبق یافته‌های محققان، برداشت گیاه ممکن است به عنوان یک عامل تنش عمل نماید و سنتز و تجمع اسانس را در برداشت‌های بعدی تحریک نماید (۲۸). تلسی و سهباز (۲۲) میزان اسانس کلون‌های مختلف نعناع را در برداشت‌های اول و دوم به مدت دو سال بررسی و نتیجه گرفتند که میزان اسانس گیاه نعناع به طور معنی‌داری تحت تأثیر زمان برداشت و ژنوتیپ گیاه قرار می‌گیرد. در پژوهش دیگری اثر زمان برداشت در گونه‌های مختلف نعناع بررسی گردید و نتایج آن نشان داد که میزان اسانس در گونه اسپیکاتا تا برداشت سوم افزایش می‌یابد در حالی‌که در گونه گراسیلیس تغییر معنی‌داری با زمان حاصل نشد (۲۷). در تحقیق دیگری، اکسیشن‌های مختلف گیاه پچولی در چهار زمان مختلف (می، اگوست و نوامبر ۲۰۰۸ و فوریه ۲۰۰۹) برداشت و مشخص شد که میزان اسانس اکسیشن‌ها در برداشت‌های مختلف، متفاوت است (۳). در مجموع، درصد اسانس گونه‌های مختلف گیاهان دارویی در مراحل مختلف رشد، متفاوت است و بیشتر تابع ژنتیک، شرایط محیطی و اندام حاوی اسانس می‌باشد (۲ و ۱۱).

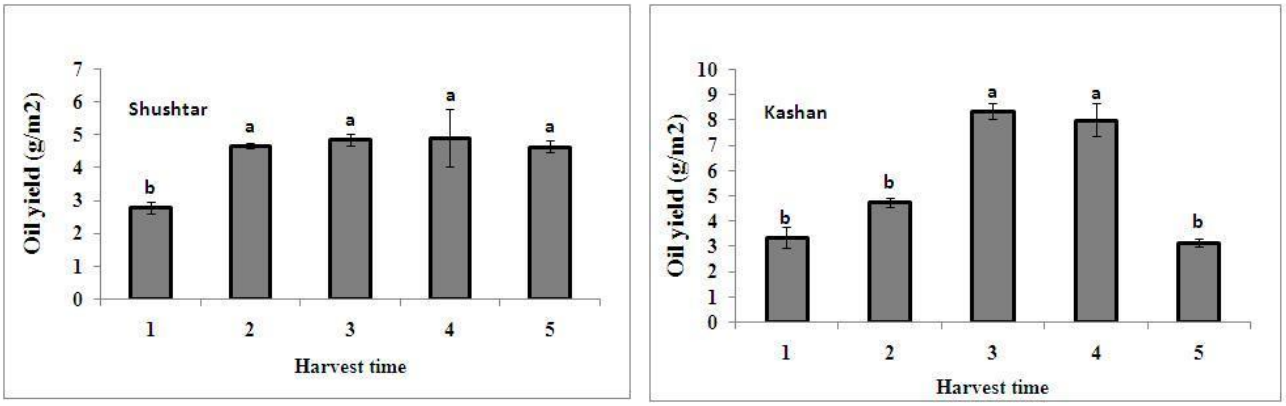




شکل ۳- اثر زمان برداشت روی میزان اسانس دو اکوتایپ نعناع دشتی (*Mentha spicata* L.) کاشان و شوشتر
ستون‌های با حروف متفاوت نشاندهنده اختلاف معنی‌دار بین زمان‌های برداشت در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می باشد
Figure 3- The effect of harvest time (cut) on essential oil content of two ecotypes of spearmint (*Mentha spicata* L.) "Kashan" and "Shushtar"
Columns with different letters show significant difference ($P\leq0.5$) between harvest times based on Duncan's multiple range test

عملکرد اسانس

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر زمان‌های مختلف برداشت بر میزان عملکرد اسانس در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. عملکرد اسانس تابع تغییرات میزان اسانس و وزن خشک برگ گیاه بود. بیشترین عملکرد اسانس (۸/۳۴ گرم در متر مربع) نعناع کاشان در برداشت سوم ثبت گردید و با برداشت چهارم اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین عملکرد اسانس (۳/۱۴ گرم در متر مربع) در برداشت پنجم مشاهده شد و با برداشت اول و دوم اختلاف معنی‌داری نداشت. بیشترین عملکرد اسانس (۴/۸۹ گرم در متر مربع) نعناع شوشتر در برداشت چهارم مشاهده شد و با برداشت‌های دوم، سوم و پنجم اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین عملکرد اسانس (۲/۷۸ گرم در متر مربع) در برداشت اول ثبت گردید (شکل ۴). نتایج بدست آمده با یافته‌های زلجاسکوف و همکاران (۲۷) و تلسی و همکاران (۲۳)، مطابقت داشت. نتایج تحقیقات انجام شده روی سایر گیاهان نیز نشان داده که زمان و تعداد برداشت روی عملکرد اسانس اثر می‌گذارد (۷ و ۲۵). عملکرد تجمعی اسانس نعناع کاشان و شوشتر به ترتیب ۲۷/۵۸ و ۲۱/۸۰ گرم در متر مربع بود.



شکل ٤- اثر زمان برداشت روی عملکرد اسانس دو اکوتایپ نعناع دشتی (*Mentha spicata* L.) کاشان و شوشتر
ستون‌های با حروف متفاوت نشاندهنده اختلاف معنی‌دار بین زمان‌های برداشت در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می باشد
Figure 4- Effect of harvest time (cut) on essential oil yield of two ecotypes of spearmint (*Mentha spicata* L.) "Kashan" and "Shushtar"
Columns with different letters show significant difference ($P\leq0.5$) between harvest times based on Duncan's multiple range test

اجزای اسانس

روند تغییرات اجزای اسانس نعناع کاشان در جدول ۱ نشان داده شده است. لیمونن، سیس دی هیدروکاروُن، کاروُن و کاریوفیلن اجزای اصلی اسانس نعناع کاشان بودند. مقدار لیمونن از کمترین مقدار (۱۲/۲۲ درصد) در برداشت اول به بیشترین مقدار (۲۰/۵۵ درصد) در برداشت دوم رسید و پس از آن در برداشت چهارم کاهش چشمگیری داشت. روند تغییرات سیس دی هیدروکاروُن بر خلاف روند تغییرات لیمونن بود و از ۴/۹۵ درصد در برداشت اول به ۲/۳۴ درصد (کمترین مقدار) در برداشت دوم رسید. مقدار این ترکیب طی برداشت‌های سوم و چهارم اندکی افزایش یافت ولی در برداشت پنجم به بیشترین مقدار (۱۱/۱۴ درصد) رسید. مقدار کاروُن به عنوان ترکیب غالب اسانس این گیاه از ۶۸/۹۴ درصد در برداشت اول به ۷۴/۲۱ درصد (بیشترین مقدار) در برداشت سوم رسید و پس از کاهش اندک در برداشت چهارم، در برداشت آخر به کمترین مقدار (۶۵/۱۵ درصد) کاهش یافت. بیشترین مقدار کاریوفیلن (۵/۰۶ درصد) در برداشت اول مشاهده شد و پس از آن طی برداشت‌های دوم و سوم کاهش قابل ملاحظه‌ای یافت. مقدار این ترکیب در برداشت چهارم افزایش و به ۳/۲۹ درصد رسید و در برداشت پنجم مجددا کاهش یافت.

ترکیبات اصلی اسانس نعناع شوشتر مشابه نعناع کاشان بود با این تفاوت که تعداد ترکیبات شناسایی شده در نعناع شوشتر نسبت به کاشان بیشتر بود. لیمونن به عنوان یکی از اجزای اصلی اسانس از برداشت اول تا چهارم روند افزایشی داشت و در برداشت پنجم کاهش چشمگیری داشت و به کمترین مقدار (۴/۲۲ درصد) رسید. مقدار سیس دی هیدروکاروُن از برداشت اول تا پنجم افزایش قابل ملاحظه ای یافت. بیشترین مقدار کاروُن (۶۷/۷۲ درصد) در برداشت اول مشاهده شد و پس از آن در برداشت دوم تا چهارم نسبتا ثابت و در دامنه ۶۳/۳۶ تا ۶۴/۶۰ درصد قرار داشت ولی در برداشت پنجم به کمترین مقدار (۵۸/۵۶ درصد) رسید. مقدار کاریوفیلن طی

برداشت‌های اول تا پنجم روند کاهشی داشت (جدول ۲).

در مسیرهای سنتز مونوترپن‌ها، ژرانیل پیروفسفات بسته به فعالیت آنزیم‌های مختلف، مسیرهای متفاوتی را دنبال می‌کند. با توجه به نتایج بدست آمده، به نظر می‌رسد که در دو اکوتایپ نعناع کاشان و شوشتر، آنزیم‌های مسیر سنتز ۱ و ۸ سینئول و همچنین مسیر سنتز منتول فعالیت زیادی ندارند و بر خلاف آن مسیر سنتز کاروُن فعال است و باعث شده است تا این ماده به عنوان اصلی‌ترین جزء اسانس، سهم زیادی از اجزای اسانس داشته باشد. در این مسیر ژرانیل پیروفسفات ابتدا توسط لیمونن سنتتاز به لیمونن و سپس لیمونن توسط آنزیم لیمونن ۶ مونواکسیژناز به ترانس کاروئول و بعد ترانس کاروئول توسط آنزیم ترانس کاروئول دهیدروژناز به کاروُن تبدیل می شود (۸). کاروُن هم می‌تواند در اثر فعالیت آنزیم کاروُن ردوکتاز به سیس دی هیدورکاروُن تبدیل گردد (۲۴). مقدار لیمونن و کاروُن گیاه نعناع کاشان در برداشت دوم و سوم افزایش یافت در حالی‌که میزان سیس دی هیدروکاروُن کاهش یافت. بنابراین می توان نتیجه گرفت که طی برداشت های مذکور مسیر سنتز کاروُن فعال بوده است ولی در برداشت پنجم، فعالیت بیشتر کاروُن ردوکتاز باعث افزایش تبدیل کاروُن به سیس دی هیدروکاروُن گردیده است. نتیجه مشابهی توسط محمودی و اکبرزاده (۱۵ و ۱۶) گزارش شده است. آنها نشان دادند که همزمان با کاهش دما در ماه‌های پائیز، میزان کاروُن کاهش و میزان سیس دی هیدروکاروُن افزایش می‌یابد. این تغییرات می‌تواند به دلیل بیان ژن‌های مختلف در مراحل نموی مختلف گیاه یا به دلیل فاکتورهای محیطی متأثر از تغییرات فصلی باشد (۹). مقدار کاروُن گزارش شده در نعناع دشتی بسیار متفاوت است که علت آن نوع توده، شرایط اقلیمی، عملیات به زراعی، ترکیب خاک، اندام گیاه، سن گیاه و مراحل زندگی رویشی یا زایشی گیاه می‌باشد. نعناع خوراکی کموتایپ‌های مختلف مثل کموتایپ لینالول، پولگون، پیپریتون، پیپریتون اکساید و غیره در سطح جهان دارد. کموتایپ کاروُن بصورت تجاری کشت و کار می‌شود. در کل، مقدار کاروُن اسانس نعناع بایستی بیش از ۵۰ درصد باشند (۲۷). مقدارکاروُن اسانس نعناع اکوتایپ کاشان و شوشتر در تمام برداشت‌ها بیش از ۵۰ ٪ بود. میزان کاروُن اسانس نعناع در سال‌های مختلف و زمان‌های مختلف برداشت کلون‌ها متفاوت است. در تحقیق انجام شده روی نعناع، بیشترین میزان کاروُن از کلون ۱۲ (۸۲/۲ درصد) و کلون ۲۱ (۸۰/۲ درصد) بدست آمد (۲۲). در تحقیق دیگری، بیشترین میزان کاروُن در برداشت دوم (جولای) مشاهده گردید و میزان آن در برداشت ششم (سپتامبر) کاهش یافت (۲۶).

جدول ۱- اجزای اسانس نعناع دشتی (*Mentha spicata* L.) اکوتایپ کاشان در برداشت های مختلف

Table 1- Oil composition of spearmint (*Mentha spicata* L.) "Kashan" at different harvest times (cuts)

ردیف No.	ترکیبات Compounds	شاخص بازداری Retention Index	زمان برداشت Harvest time (Cut)				
			1	2	3	4	5
1	α-Pinene	938	0.60	0.54	0.44	0.60	0.78
2	Sabinene	971	1.03	0.97	0.85	0.98	1.15
3	β-Pinene	974	0.45	0.40	0.40	0.61	0.47
4	β-Myrcene	986	-	-	-	0.18	-
5	Limonene	1024	12.22	20.55	18.92	13.92	15.28
6	α-Terpinolene	1082	0.13	0.27	-	0.24	0.30
7	Cis-Dihydrocarvone	1192	4.95	2.34	2.38	3.61	11.14
8	Pulegone	1235	-	-	-	0.24	0.39
9	Carvone	1250	68.94	70.92	74.21	73.38	65.15
10	Carvacrol	1300	0.18	0.34	0.26	0.18	0.30
11	Dihydrocarveyl acetate	1323	-	0.14	-	-	-
12	Piperitenone	1337	0.79	0.29	0.12	0.13	0.46
13	Carveyl acetate	1357	0.66	0.76	0.52	0.80	0.88
14	β-Bourbonene	1380	1.62	0.40	0.31	0.57	0.70
15	Isocaryophyllene	1401	0.40	-	-	0.10	-
16	Caryophyllene	1415	5.06	1.13	0.96	3.29	2.00
17	α-Humulene	1450	0.21	0.11	-	-	0.10
18	Germacrene D	1463	0.65	0.12	0.12	0.31	0.17
19	γ-Cadinene	1509	0.41	-	-	0.22	-
20	4-Methoxycinnamaldehyde	1562	0.66	0.23	0.11	0.19	0.25
	Total		98.96	99.51	99.60	99.55	99.52

جدول ۲- اجزای اسانس نعناع دشتی (*Mentha spicata* L.) اکوتایپ شوشتر در برداشت‌های مختلف

Table 2- Oil composition of spearmint (*Mentha spicata* L.) "Shushtar" at different harvest times (cuts)

ردیف No.	ترکیبات Compounds	شاخص بازداری Retention Index	زمان برداشت Harvest time (Cut) 1	2	3	4	5
1	α-Pinene	938	0.83	0.66	1.03	1.07	0.68
2	Sabinene	971	0.26	0.19	0.24	0.30	-
3	β- Pinene	974	1.17	1.15	2.10	1.54	1.08
4	β- Myrcene	986	1.07	0.79	1.01	1.19	0.93
5	Limonene	1024	17.48	19.20	19.61	21.53	14.22
6	Isomenthone	1158	0.40	0.76	-	0.42	0.59
7	Borneol	1161	0.21	0.61	-	0.14	0.33
8	Cis- Dihydrocarvone	1192	2.40	4.91	4.56	4.48	13.54
9	Trans- Dihydrocarvone	1198	-	0.83	0.74	0.45	3.12
10	Carvone	1247	67.72	64.60	63.36	64.25	58.56
11	Dihydrocarvyl acetate	1323	-	-	-	-	0.34
12	Piperitenone	1337	0.23	0.33	1.31	0.17	0.99
13	Carvyl acetate	1357	-	-	0.21	-	0.21
14	β-Bourbonene	1380	1.01	0.75	0.71	0.58	0.81
15	β-Elemene	1385	0.16	-	-	-	0.10
16	Methyl eugenol	1396	0.12	-	-	-	-
17	Trans-Caryophyllene	1414	3.08	2.24	2.07	1.63	1.73
18	α-Humulene	1450	0.14	0.10	0.13	-	0.19
19	γ-Muurolen	1474	0.37	0.26	0.30	0.19	0.22
20	Germacerene D	1478	0.38	0.29	0.28	0.19	0.24
21	γ-Cadinene	1510	0.61	0.47	0.26	0.12	0.18
22	cis-Calamene	1518	0.28	0.19	0.11	-	-
23	α-Cadinene	1534	0.28	0.18	0.19	0.15	0.17
24	4-Methoxycinnamaldehyde	1562	0.17	0.11	0.20	0.27	0.45
	Total		98.37	98.62	98.42	98.67	98.68

مطالعات انجام شده روی نعناع بومی در منطقه‌ای از آمریکا نشان داد که زمان برداشت در طول روز روی میزان و اجزای اسانس آن اثر معنی‌داری دارد (۴). در پژوهش دیگری مشخص شد که زمان برداشت در طول روز و تاریخ برداشت اثر معنی‌داری بر کمیت و کیفیت اسانس نعناع ژاپنی دارد (۲۰). نتایج تحقیقات انجام شده روی ریحان نشان داد که روش برداشت (شاخه‌های اولیه یا ثانویه یا کل بیوماس گیاه) می‌تواند اجزای اصلی اسانس را تغییر دهد. نسبت برگ به ساقه پس از برداشت اول گیاه، در برداشت‌های بعدی تغییر می‌نماید و ممکن است نوبت برداشت از این طریق روی اجزای اسانس اثر بگذارد (۲۸). در گیاهانی که در طول سال چند بار برداشت می‌شوند بعد از برداشت اول، ساختار گیاه، نسبت برگ‌های پیر به جوان، نسبت گل به برگ تغییر و متعاقب آن میزان و ترکیبات اسانس تحت تاثیر قرار می‌گیرد. فرضیه دیگری توسط دودایی[1] و همکاران (۶) مطرح و مورد آزمایش قرار گرفت. آنها نشان دادند که تغییرات فصلی اجزای اسانس گیاه *Micromeria fruticosa* از خانواده نعناع، بیشتر به دلیل تغییرات مرفولوژیکی گیاه در طول فصل است تا اینکه تحت تأثیر تغییرات محیطی باشد. در پژوهش حاضر، نعناع در مرحله یکسانی از نظر فنولوژی (اوایل رشد زایشی) برداشت گردیدند و تغییرات مشاهده شده در اسانس آنها مستقیما به شرایط محیطی حاکم بر گیاه در طول دوره رشد و برداشت ارتباط داده می‌شود. در مجموع، غلظت نهایی یک ترکیب در اسانس نعناع نتیجه برهمکنش محیط، ژنوتیپ، فاکتورهای به‌زراعی مثل نوع و مقدار کود، زمان و مرحله برداشت گیاه و تراکم کشت است.

نتیجه‌گیری

تجمع اسانس و تغییر در اجزای آن به ساختار ژنتیکی گیاه، شرایط اکولوژیکی و عملیات به زراعی بستگی دارد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که زمان برداشت بر صفات فوق اثرگذار است که علت آن می‌تواند شرایط دمایی و رطوبتی منطقه در فواصل بین برداشت‌ها باشد. میزان و عملکرد اسانس گیاهان مورد مطالعه در منطقه نسبت به سایر گزارش‌ها روی این گیاهان در مناطق دیگر، بیشتر بود. علاوه بر آن میزان کارون دو اکوتایپ نعناع کاشان و شوشتر طی پنج برداشت بالاتر از ۵۰ درصد (استاندارد اسانس نعناع) بود. در مجموع حداکثر عملکرد اسانس در دو اکوتایپ طی برداشت سوم و چهارم

1- Dudai

بدست آمد ولی با توجه به درصد و عملکرد اسانس گیاهان مورد مطالعه در سایر زمان‌های برداشت و مقایسه آنها با سایر منابع، جهت استخراج اسانس، برداشت نعناع کاشان و شوشتر در در پنج زمان برداشت مورد مطالعه توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

نویسنده مقاله از دانشگاه شهید چمران جهت حمایت های مالی طرح و شرکت گلکاران به ویژه مهندس حسن پور به دلیل فراهم نمودن مواد گیاهی تشکر و قدردانی می‌نماید.

منابع

1- Adams R.P. 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatograpy/Mass Spectroscopy, Fourth ed. Allured Publishing Corporation, Illinois.
2- Akbarinia A., Sharifi Ashoorabadi E., and Mirza M. 2010. Study on drug yield and essential oil content and composition of *Thymus daenensis* Celak. under cultivated condition. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26 (2): 205-212. (in Persian with English abstract)
3- Blank A.F., Santana T.C.P., Santos P.S., Arrigoni-Blank M.F., Prata A.P.N., Jesus H.C.R., and Alves P.B. 2011. Chemical characterization of the essential oil from patchouli accessions harvested over four seasons. Industrial Crops and Products, 34: 831– 837.
4- Bufalo J., Zheljazkov V.D., Cantrell C.L. Astatkie T., Ciampa L., and Jeliazkova E. 2015. Diurnal effects on spearmint oil yields and composition. Scientia Horticulturae, 182:73–76.
5- Chauhan R.S., Kaul M.K., Shahi A.K., Kumar A., Ram G., and Tawa A. 2009. Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession [IIIM(J)26] from North-West Himalayan region, India. Industrial Crops and Products, 29: 654–656.
6- Dudai N., Larkov O., Ravid U., Putievsky E., and Lewinsohn E. 2001. Developmental control of monoterpene content and composition in *Micromeria fruticosa* (L.) Druce. Annals of Botany, 88: 349-354.
7- Gebremeskel H. 2014. Growth, biomass and oil yield of rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens* L. Herit) as influenced by different harvesting stages. International Journal of Novel Research in Life Sciences, 1 (1): 48-55.
8- Gershenzon J., Maffei M., and Croteau, R. 1989. Biochemical and histochemical localization of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of spearmint (*Mentha spicata*). Plant Physiology, 89: 1351-1357.
9- Gurudatt P.S., Priti V., Shweta S., Ramesha B.T., Ravikanth G., Vasudeva R., Amna T., Deepika S., Ganeshaiah K.N., Uma Shaanker R., Puri S., and Gazi N. 2010. Changes in the essential oil content and composition of *Origanum vulgare* L. during annual growth from Kumaon Himalaya. Current science, 98, 8 (25): 1010-1012.
10- Jirovetz L., Buchbauer G., Shabi M., and Ngassoum M.B. 2002. Comparative investigation of essential oil and volatiles of spearmint. Perfume Flavour, 27: 16–22.
11- Kothari S.K., Bhattacharya A.K., and Ramesh S. 2004. Essential oil yield and quality of methyl eugenol rich *Ocimum tenuiflorum* L. (syn. *O. sanctum* L.) grown in south India as influenced by method of harvest. Journal of Chromatography, 1054: 67–72.
12- Lawrence B.M. 2006. Mint: The Genus *Mentha*. CRC Press, Boca Raton, FL.
13- Mahmoodi Sourestani M. 2013. Diurnal variations of gas exchange characteristics in leaves of anise hyssop (*Agastache foeniculum*) under normal, drought stress and recovery conditions. Journal of Medicinal Plants and Byproducts, 1: 91-101.
14- Mahmoodi Sourestani M. 2016. The study on diurnal changes in leaf gas exchange of lemon balm, catnip, holy basil and sweet basil in Ahvaz. Journal of Horticultural Science, 30 (3): 395-405. (in Persian with English abstract)
15- Mahmoodi Sourestani M., and Akbarzade M. 2014. Seasonal chenges in essential oil content yield and composition of spearmint cultivated in Shoshtar. Agricultural Crop Management, 16 (3): 613-625. (in Persian with English abstract)
16- Mahmoodi Sourestani M., and Akbarzade M. 2015. The effect of harvest time on essential oil content, yield and composition of spearmint (*Mentha spicata* L.) in the Hamidiyeh region. Journal of the Plant Production, 38 (1): 115-129. (in Persian with English abstract)
17- Moghimi Pour Z., Mahmoodi Sourestani M., and Alamzadeh Ansari N. 2016. Effects of foliar application of nano zinc chelate and zinc sulfate on zinc content, pigments and photosynthetic indices of holy basil (*Ocimum sanctum*). Journal of Horticultural Science, 30 (2): 242-250. (in Persian with English abstract)
18- Muller-Riebau F.J., Berger B.M., Yegen O., and Cakir C. 1997. Seasonal variations in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 45: 4821-4825.
19- Omidbaigi R. 2007. Production and Processing of Medicinal Plant. Vol. 2 ed. 4.Astan Quds Razavi Pub. Mashad. (in Persian)
20- Shiwakoti S., Sintim H.Y., Poudyal S., Bufalo J., Cantrell C.L., Astatkie T., and Zheljazkov V.D. 2015. Diurnal

effects on *Mentha canadensis* oil concentration and composition at two different harvests. HortScience, 50(1): 85-89.

21- Soltani F., Sharifi M., Khajeh K., and Yousefzadi M. 2008. Study of essential oil composition, menthone reductase activity and antimicrobial activity of *Mentha piperita* in two stages of growth. Iranian Journal of Biology, 21 (5): 62-70. (in Persian with English abstract)

22- Telci I., and Sahbaz N. 2005. Variation of yield, essential oil and carvone contents in clones selected from carvone-scented landraces of Turkish *Mentha* species. Journal of Agronomy, 4 (2): 96-102.

23- Telci I., Kacar O., Bayram E., Arabac O., Demirtas I., Yılmaz G., Ozcan I., Sönmez C., and Göksu E. 2011. The effect of ecological conditions on yield and quality traits of selected peppermint (*Mentha piperita* L.) clones. Industrial Crops and Products, 34: 1193–1197.

24- Van der Werf M.J., and Boot A.M. 2000. Metabolism of carveol and dihydrocarveol in *Rhodococcus erythropolis* DCL14. Microbiology, 146 (5):1129-1141.

25- Zawislak G. 2014. Yield and chemical composition of essential oil from *Salvia officinalis* L. in third year of cultivation. Herba Polonica, 60 (3): 13-22.

26- Zheljazkov V.D., Cantrell C.L., Astatkie T., and Hristov A. 2010 (a). Yield, content, and composition of peppermint and spearmints as a function of harvesting time and drying. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58, 11400–11407.

27- Zheljazkov V.D., Cantrell C.L., Astatkie T., and Ebelhar M.W. 2010 (b). Productivity, oil content, and composition of two spearmint species in Mississippi. Agronomy Journal, 102 (1): 129-133.

28- Zheljazkov V.D. Cantrell C.L., Tekwani B., and Khan S.I. 2008. Content, composition, and bioactivity of the essential oils of three basil genotypes as a function of harvesting. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 5: 380–385.

Journal of Horticultural Science
Vol. 31, No. 4, Winter 2018, P. 825-835
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۱، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۶، ص. ۸۳۵-۸۲۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Essential Oil Quantity and Quality of Two Ecotypes of Spearmint (*Mentha spicata* L.) in Different Harvesting Times

Mohammad Mahmoodi Sourestani[*1]

Received: 22-05-2017
Accepted: 06-11-2017

Introduction: Spearmint (*Mentha spicata* L.) is an aromatic plant belonging to the Lamiaceae family. The ground fresh biomass and dried leaves of the plant are used as spice and herbal tea, and cultivated commercially in the entire world. Spearmint oil also has economic importance and is used in perfumery, confectionary and pharmaceutical preparations. Major components in cultivated spearmint oil are carvone, limonene, and 1,8-cineole. Essential oil compositions of aromatic plants depend on their genetic structure, the climatic factors and the agronomical practices as well as harvest and post-harvest managements. A climate with adequate and regular rainfall and good sunshine during its growing period ensures a good yield. Climatic condition is one of the most important factors influencing the growth and accumulation of active ingredients that its effect is concealed at the harvesting time of plants. In addition, harvest time (cut) and phonological stages can affect herbage yield and oil content and composition of perennial medicinal plants.

Materials and Methods: Plant materials were harvested from a farm in Safiabad city, Khuzestan province, Iran. Five samples from each ecotype of spearmint (Kashan and Shushtar) were collected during growth season at the beginning of flowering stage, from May to the end of November. Plants were hand-harvested by cutting the herbage at 5 cm above the soil. Then the plants were dried at room temperatures (approximately 40 °C). Spearmint essential oil was extracted via steam distillation using a Clevenger apparatus. The distillations were carried out on a sample size of 50 g of dry aerial parts with a distillation time of 180 min. The oil was dried over anhydrous sodium sulfate and was kept in a refrigerator until further analysis. The essential oil's chemical composition was analyzed by GC and GC/MS.

Results and Discussion: The results showed that temperature and humidity conditions prevailing in the area at the time of harvest had significant effect on plant growth and ultimately leaf dry weight, oil content and composition. The highest leaf dry weight of the Kashan (250.67 $g.m^{-2}$) and the Shushtar (290.23 $g.m^{-2}$) were observed at the third and fifth harvest time, respectively. There was no significant difference between the first to fourth harvest times of the Kashan and the first, third, fourth and fifth harvest time of the Shushtar. The highest (3.33%) and the lowest (1.72%) amounts of essential oil of the Kashan ecotype were obtained from the third and the first cuts, respectively. The Shushtar ecotype had lower oil than the Kashan ecotype. The second harvest time of the Shushtar ecotype had the highest (2.53%) amount of essential oil and the lowest (1.36%) amount was observed at the first harvest time that had no significant difference with the third and fifth harvest times. The highest amount of oil yield of the Kashan (8.34 $g.m^{-2}$) and the Shushtar (4.89 $g.m^{-2}$) ecotypes was recorded at the third and the fourth cuts, respectively. It seems that plants during the second to the fourth harvests encouraged with hot stress and they produced more essential oil in response to high temperature. Limonene, cis-dihydrocarvone, carvone and caryophyllene were the main oil components at five harvest times. Both ecotypes were similar in regards of main oil components but the Shushtar had more oil composition than the Kashan. In the Kashan ecotype, limonene was at the lowest amount (12.22%) and reached to the maximum amount (20.55%) at the second harvest time. In contrast, cis-dihydrocarvone decreased from 4.95% to 2.34% at the second harvest time and finally the maximum amount (11.14%) was recorded at the fifth harvest time. Carvone content was 68.94% at the first harvest and after that increased to the highest level (74.21%) and finally decreased to the minimum level (65.15%) at the fifth harvest time. In the Shushtar, limonene increased from the first until the fourth harvest and ultimately declined in the last cut. The maximum amount of carvone (72/67%) was observed in the first harvest and then was relatively constant during the second to fourth harvests, and reached to the lowest level (56/58%) at fifth harvest. The Kashan ecotype had more carvone than the Shushtar ecotype. The fluctuation of carvone and cis dihydrocarvone were in opposite of each other and it seems that lower temperatures in the fifth harvest caused to carvone convert to cis-dihydrocarvone. However, the amount of carvone was more than 50 % at all harvest times.

Conclusion: Although harvest times had a significant effect on the traits, both ecotypes showed a good oil content and yield at five cuts. Oil composition was also changed during different harvest times. Nevertheless,

1- Associate Professor, Horticulture Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran Universityof Ahvaz
(*-Corresponding Author Email: f_mahmoodi2000@yahoo. com)

Carvone content was up to 50% at all harvest times and it seems that we can recommend harvesting of plants from May to the end of November.

Keywords: Carvone, Cis-dihydrocarvone, Harvest time, Limonene, Mint