

بررسی مراحل فنولوژی، اثر مقادیر کود نیتروژن و تراکم و مرحله زمانی برداشت گل روی عملکرد گل و میزان مواد موثره گیاه دارویی همیشه بهار

علی اکبر عامری^{۱*}، حجت اله ربانی نسب^۲، محمد رضا جلیوند^۳، مهدی ایمانی^۴

^۱ استادیار فیزیولوژی گیاهان زراعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان شمالی

^۲ استادیار بیماری شناسی گیاهی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان شمالی

^۳ عضو هیات علمی مرکز تحقیقات ایمنی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

^۴ کارشناس پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان شمالی

* نویسنده مسئول: بجنورد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان شمالی

پست الکترونیک: aliakbarameri@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: گیاه دارویی همیشه بهار در درمان بسیاری از بیماری ها کاربرد دارد. گل های این گیاه برای مداوای بیماری های معدی و روده ای، زخم های پوستی و التهاب بکار می رود. همیشه بهار التیام جراحات پوستی را از طریق جلوگیری از التهاب پوستی و غشاء های مخاطی، ساخته شدن مجدد بافت و کاهش آماس و آبرسه تسریع می کند. نکته قابل توجه تعیین زمان مناسب برداشت گل های این گیاه دارویی است که روی میزان مواد موثره موجود در گل ها تاثیر میگذارد که در این پروژه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار: با هدف تعیین میزان مواد موثره (شامل عصاره و اسانس) موجود در گل و بررسی روند تغییرات آن ها در مراحل مختلف گل دهی، در سه مرحله گلدهی (شامل اوایل، اواسط و اواخر گل دهی به ترتیب ۹۰، ۱۵۰ و ۲۱۰ روز پس از کاشت)، نمونه برداری انجام شد. میزان اسانس نمونه ها به روش تقطیر با بخار آب با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) و میزان عصاره آنها با استفاده از الکل اتانول ۷۰٪ استخراج گردید.

یافته ها: در مجموع هفت مرحله فنولوژیکی در طی دوره رشد گیاه دارویی همیشه بهار تشخیص داده شد. استفاده از کود نیتروژن باعث افزایش مقدار مواد موثره همیشه بهار شد. نتایج آزمایش، نشان دهنده تفاوت معنی دار مقدار تولید اسانس و عصاره در زمان های مختلف فصل گلدهی بود.

نتیجه گیری: با توجه به اینکه حد اکثر میزان تولید اسانس و عصاره در اوایل گلدهی بدست آمد و در اواسط تا اواخر گلدهی مقدار آن به مرور کاهش پیدا کرد، توصیه می شود اسانس گیری در اوایل فصل گلدهی همیشه بهار انجام شود.

واژه های کلیدی: همیشه بهار، مواد موثره، فنولوژی، زمان برداشت گل، کود نیتروژن

مقدمه

همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) تا مدت ها به

عنوان گیاه زینتی کشت می شد تا اینکه خواص دارویی

آن شناخته شد و به عنوان گیاه دارویی مورد استفاده قرار

گرفت. کشت این گیاه در اروپا از قرن هفدهم آغاز شد.

این گیاه در کشورهای آلمان، استرالیا، چک، اسلواکی،

اتریش، سوئیس، مجارستان و اخیراً در مصر و سوریه به

عنوان گیاه دارویی کشت می شود. همیشه بهار گیاهی

علفی و یک ساله است که منشأ آن مدیترانه و غرب آسیا

گزارش شده است [۱-۳].

جنس همیشه بهار در ایران ۶ گونه گیاه علفی یکساله دارد

که گونه همیشه بهار شیرازی انحصاری ایران و گونه های

همیشه بهار بالدار، فلسطینی، ایرانی، مقدس و سه باله

علاوه بر ایران در فلسطین، عراق، عربستان، مصر، لیبی،

تونس، الجزایر، مراکش، جزایر قناری، جنوب اسپانیا، ترکمنستان، افغانستان، پاکستان و کشمیر نیز می رویند [۴]. همیشه بهار گیاهی دو ساله است، اما با توجه به وجود زمستان های سرد در نواحی مورد کاشت، اغلب به صورت یک گیاه یک ساله کشت می شود. همیشه بهار، بخوبی به اقلیم معتدل نواحی اروپا سازگار شده است [۵]. همیشه بهار گیاهی با رشد غیر محدود است و گلدهی طی دوره طولانی انجام می شود و تا فرا رسیدن اولین یخبندان پاییزه ادامه می یابد.

مواد موثره این گیاه در گلها ساخته شده و ذخیره می گردد. مهمترین آنها را فلاونوئیدهای محلول در آب، کارتنوئیدها، اسانس، مواد موسیلاژی و ویتامین E را می توان نام برد. گلهای همیشه بهار همچنین حاوی کلندونین، ساپونین، کلسترول، استرول و استراسید لانوریک می باشند [۶-۸]. موارد مصرف گلهای گیاه همیشه بهار شامل دارویی (مداوای بیماریهای معدی و روده ای، مداوای زخم های پوستی، ضد التهاب)، آرایشی و بهداشتی (تهیه کرم های مختلف) و غذایی (رنگ کردن مواد غذایی از جمله پنیر و کره) است. همچنین روغن بذر آن دارای مصارف صنعتی و دارویی است [۹-۱۱].

همیشه بهار دارای خواص ضد قارچی و ضد ویروسی است [۱۲]. اخیراً شواهدی مبنی بر اثرات ضد ویروس HIV در عصاره گلهای این گیاه یافت شده است [۱۳]. این گیاه خاصیت معرق، تصفیه کننده خون، ضد تشنج، التیام دهنده زخم، ضد سوختگی، درمان اگزما، سرمازدگی و رفع آکنه دارد. گلهای این گیاه برای مداوای بیماریهای معدی و روده ای، زخم های پوستی و التهاب بکار می رود. همیشه بهار التیام جراحات پوستی را از طریق جلوگیری از التهاب پوستی و غشاء های مخاطی، ساخته شدن مجدد بافت و کاهش آماس و آبه تسریع می کند [۱۱].

مطالعه ترکیبات کارتنوئیدی همیشه بهار با استفاده از روش HPLC انجام شده است. بررسی در مورد ترکیبات کارتنوئیدی ساقه، برگ، گلبرگ و گرده های همیشه بهار نشان داد در گلبرگ و گرده ها کارتنوئید اصلی فلاوگزانتین و آئوروگزانتین بود در حالی که در ساقه و برگ لوتئین و بتاکاروتن ترکیب اصلی بود [۸]. بررسی کارتنوئیدهای موجود در گل چهار وارپته از همیشه بهار به روش HPLC نشان داد که رنگ زرد تا نارنجی گل های

همیشه بهار بیشتر به دلیل وجود کارتنوئیدها است و شدت رنگ به میزان رنگدانه ها و پروفیل آن ها بستگی دارد. میزان کارتنوئید در وارپته های دارای گل نارنجی بیشتر بود. ۲۷۶ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گل تازه برای وارپته دابل استرل ارنج و ۱۱۱ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گل تازه برای وارپته رادیو اکسترا به دست آمد. همه وارپته ها شامل رنگدانه های مشابه بودند اما نسبت رنگدانه های مجزا دارای اختلاف معنی دار بود. وارپته های دارای گل های نارنجی رنگ، میزان بیشتری کربوهیدرات داشتند. بر این اساس کاشت وارپته های دارای گل های نارنجی توصیه می شود مخصوصاً در شرایطی که هدف بدست آوردن مواد موثره دارویی است که برای محافظت پوست کاربرد دارد [۱۴].

روش کار

آزمایش بصورت طرح کترهای خرد شده (split plot) در قالب بلوکهای کامل تصادفی با سه تکرار طی سالهای ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ در مزرعه دانشکده کشاورزی مشهد انجام شد. فاکتور اصلی شامل سطوح مختلف کود نیتروژن (N1 : صفر ، N2 : ۵۰ ، N3 : ۱۰۰ و N4 : ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) بود و فاکتور فرعی شامل تراکم گیاه همیشه بهار، D1 : ۲۰ بوته در متر مربع، D2 : ۴۰ بوته در متر مربع، D3 : ۶۰ بوته در متر مربع و D4 : ۸۰ بوته در متر مربع) بود.

کلیه مراحل نمو شامل تاریخ سبز شدن، طول مراحل رویشی، زمان آغاز گلدهی، طول مرحله گلدهی، آغاز تشکیل بذر، رسیدن بذر با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه اجرای طرح یادداشت برداری شد. سپس درجه روز رشد هر مرحله با استفاده از آمار هواشناسی نزدیک ترین ایستگاه هواشناسی به محل اجرای طرح (ایستگاه هواشناسی طرق) محاسبه گردید. محاسبه (Growth Degree Days = GDD) با استفاده از میانگین درجه حرارت های حداقل (T_{min}) و حداکثر (T_{max}) روزانه با احتساب $2/88$ درجه سانتی گراد به عنوان صفر پایه (T_b) و $33/1$ به عنوان درجه حرارت حد اکثر برای همیشه بهار (که طی آزمایش جداگانه ای به دست آمد)، بر اساس معادله (۱) محاسبه شد [۱۵].

معادله (۱)

$$GDD = \sum [(T_{max} + T_{min}) / 2] - T_b$$

نیتروژن در هکتار به میزان $103/13$ گرم در متر مربع بدست آمد. مصرف 100 کیلوگرم نیتروژن در هکتار باعث شد عملکرد گل $16/93$ درصد کاهش یافته و به $85/38$ گرم در متر مربع برسد که با سطح قبلی تیمار نیتروژن دارای اختلاف معنی دار آماری بود. عملکرد گل با مصرف 50 کیلوگرم نیتروژن در هکتار $74/75$ گرم در متر مربع بود که نسبت به تیمار 150 کیلوگرم در هکتار $27/27$ درصد کاهش نشان داد. عدم استفاده از کود نیتروژن باعث بدست آمدن کمترین مقدار عملکرد گل گردید ($64/27$ گرم بر متر مربع)، که نسبت به تیمار 150 کیلوگرم نیتروژن در هکتار $36/98$ درصد کاهش نشان داد. (شکل ۱).

سطوح مختلف تیمار تراکم، روی میزان عملکرد گل همیشه بهار اثر آماری معنی دار داشت. به گونه ای که با افزایش تراکم، میزان عملکرد گل افزایش یافت. تراکم 20 بوته در متر مربع باعث تولید $66/73$ گرم بر متر مربع عملکرد گل خشک گردید. سطح بعدی تیمار تراکم (40 بوته در متر مربع)، تولید گل را به $76/61$ گرم بر متر مربع رساند که نسبت به تیمار قبلی $15/79$ درصد افزایش نشان داد. تراکم های 60 و 80 بوته در متر مربع، عملکرد گل خشک تولید شده را به ترتیب به $86/65$ و $98/12$ گرم بر متر مربع رساندند که با سطوح قبلی تراکم اختلاف آماری معنی دار داشته و نسبت به تراکم 20 بوته در متر مربع، عملکرد گل را به ترتیب $30/80$ و $41/98$ درصد افزایش دادند (شکل ۱).

در گیاه دارویی همیشه بهار، محصول اقتصادی مورد نظر عملکرد گل در واحد سطح است و مدیریت زراعی بایستی به گونه ای باشد که حداکثر میزان تولید گل حاصل شود. شکل ۲، نشان دهنده روند تولید گل طی دوره رشد زایشی از شروع گل دهی تا پایان دوره رشد به تفکیک سطوح تیمار نیتروژن می باشد. طول دوره گل دهی همیشه بهار حدود 135 روز طول کشید. شروع گل دهی از حدود روز 75 پس از کاشت بود. در این مرحله مقدار تولید گل اندک بوده و اثر مقادیر مختلف نیتروژن روی عملکرد گل قابل مشاهده نبود. اما از روز 105 پس از کاشت تفاوت میان سطوح تیمار نیتروژن مشخص گردید. در فاصله روز 135 تا 150 میزان تولید گل به حداکثر رسیده و

به منظور بررسی روند تغییرات تولید گل در طی دوره رشد و تعیین مقدار کل تولید گل خشک در واحد سطح، نمونه برداری از میزان تولید گل به صورت هفتگی یا پانزده روز یکبار (با توجه به سرعت تولید گل) انجام شد. با هدف تعیین میزان مواد موثره (شامل عصاره و اسانس) موجود در گل و بررسی روند تغییرات آن ها در مراحل مختلف گل دهی، در سه مرحله گلدهی (شامل اوایل، اواسط و اواخر گل دهی به ترتیب 90 ، 150 و 210 روز پس از کاشت)، از هر کرت به مقدار 200 گرم، گل تازه جمع آوری و در پاکت های کاغذی قرار داده شد. پس از انتقال به آزمایشگاه، در آون تهویه دار در 40 درجه سانتی گراد به مدت 72 ساعت خشک شد و برای تعیین میزان عصاره و اسانس به آزمایشگاه ارسال گردید. میزان اسانس نمونه ها به روش تقطیر با بخار آب با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) و میزان عصاره آنها با استفاده از الکل اتانول 70% استخراج گردید.

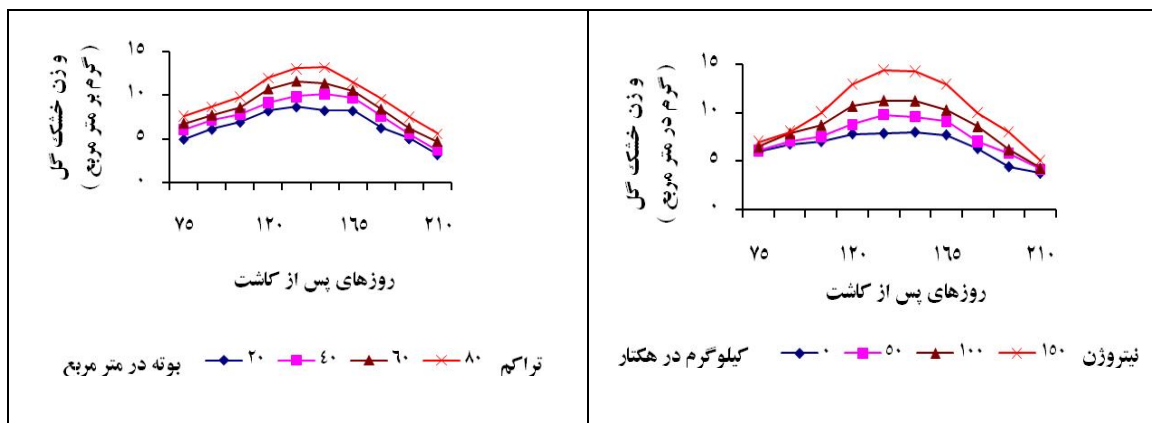
یافته ها

دمای حداقل، بهینه و حداکثر جوانه زنی بذر همیشه بهار به ترتیب $2/88$ ، 19 و $33/1$ درجه سانتی گراد به دست آمد. با توجه به نتایج آزمایش در مجموع 7 مرحله فنولوژیکی در طی دوره رشد و نمو همیشه بهار تشخیص داده شده که هر مرحله دارای چند بخش می باشد. در هر دو سال آزمایش کاشت در اول اردیبهشت ماه انجام شد. محاسبه درجه روز رشد (GDD) بر مبنای دمای پایه $2/88$ درجه سانتی گراد و دمای حداکثر $33/1$ درجه سانتی گراد برای همیشه بهار انجام شد. دمای میانگین روزانه در روز کاشت معادل $22/7$ درجه سانتی گراد بود. شروع سبز شدن گیاهچه ها سه روز پس از کاشت بود. زمان لازم برای طی مراحل هفتگانه فنولوژی همیشه بهار شامل سبز شدن، نمو گیاهچه، پنجه دهی و تشکیل ساقه، نمو جوانه گل، گلدهی، نمو بذر و رسیدگی به ترتیب 10 ، 27 ، 43 ، 66 ، 87 و 102 روز بود. در طی این مدت همیشه بهار $2680/6$ درجه روز، دما جذب کرد. جذب این میزان دما 116 روز طول کشید (جدول ۱).

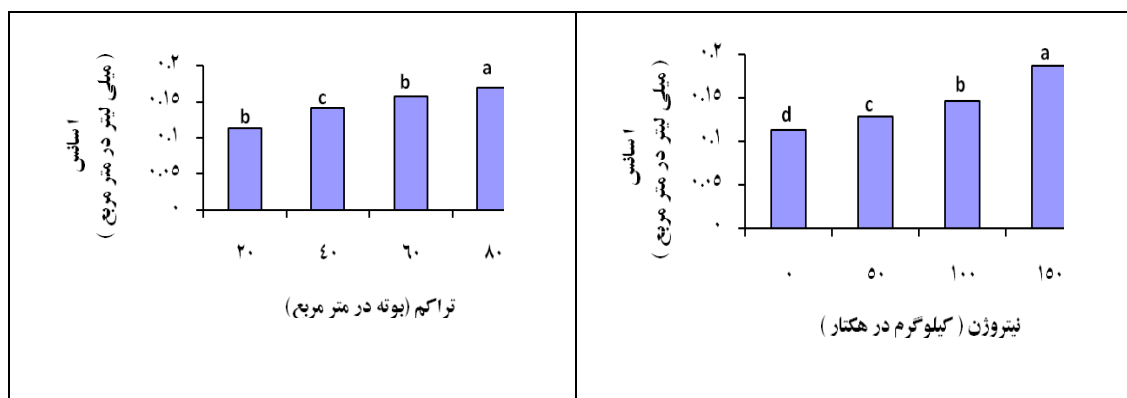
بر اساس نتایج آزمایش، بین سطوح نیتروژن از لحاظ تاثیر روی تولید گل در واحد سطح، اختلاف معنی دار وجود داشت. بیشترین عملکرد گل در تیمار 150 کیلوگرم

جدول ۱: مراحل مختلف فنولوژی گیاه دارویی همیشه بهار

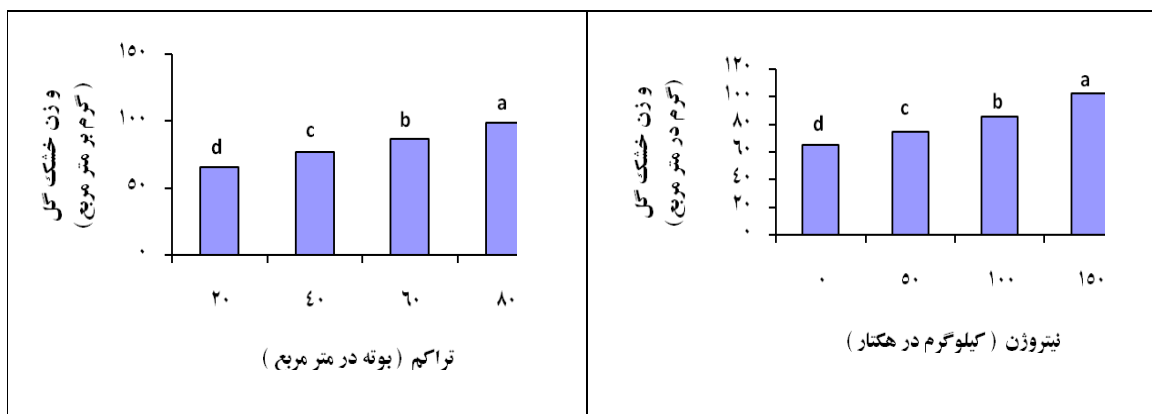
مرحله	شرح مرحله	تعداد روز پس از کاشت	درجه روز رشد (GDD)
۱- سبز شدن	۱- شروع سبز شدن	۳	۵۵/۱
	۲- ۲۵٪ سبز شدن	۵	۹۸/۱
	۳- ۵۰٪ سبز شدن	۶	۱۲۱/۶
	۴- ۷۵٪ سبز شدن	۸	۱۵۴/۶
	۵- سبز شدن کامل	۱۰	۱۸۴/۷
۲- نمو گیاهچه	۱- دو برگ قابل رویت	۷	۱۲۱/۶
	۲- چهار برگ قابل رویت	۱۵	۲۷۳/۵
	۳- شش برگ قابل رویت	۱۹	۳۵۳/۳
	۴- هشت برگ قابل رویت	۲۳	۴۴۳/۹
	۵- ده برگ قابل رویت	۲۷	۵۳۱/۱
۳- پنجه دهی و تشکیل ساقه	۱- ابتدای تشکیل پنجه	۳۰	۵۹۷/۴
	۲- ۲۵٪ پنجه دهی	۳۳	۶۵۶/۶
	۳- ۵۰٪ پنجه دهی	۳۵	۶۹۴/۷
	۴- ۷۵٪ پنجه دهی	۳۷	۷۳۴/۷
	۵- پنجه دهی کامل	۴۱	۸۲۱/۲
۴- نمو جوانه گل	۱- ابتدای ظهور ساقه	۴۳	۸۶۲/۶
	۱- اولین غنچه گل قابل تشخیص	۵۸	۱۲۰۵/۵
	۲- اولین غنچه گل قابل رویت	۶۰	۱۲۵۵/۰
	۳- ظهور اولین غنچه گل از میان برگهای بالایی	۶۲	۱۳۰۵/۷
	۴- نمو کامل اولین غنچه گل	۶۴	۱۳۵۹/۳
۵- گلدهی	۵- گلبرگهای شعاعی قابل رویت	۶۶	۱۴۱۳/۲
	۱- ۲۵٪ گلدهی	۶۷	۱۴۴۰/۳
	۲- ۵۰٪ گلدهی	۷۱	۱۵۴۹/۶
	۳- ۷۵٪ گلدهی	۷۸	۱۷۲۱/۴
	۴- گلدهی کامل	۸۷	۱۹۳۲/۸
۶- نمو بذر	۱- بذر اولین طبق ها سبز و آبی	۸۳	۱۸۴۵/۱
	۲- ظهور شکل های مختلف بذر در طبق (مرحله شیری)	۸۶	۱۹۰۹/۴
	۳- نمو کامل بذر ها در طبق (مرحله خمیری)	۹۵	۲۱۳۹/۲
	۴- بذر اولین طبق ها سبز کمرنگ و سخت	۹۹	۲۲۴۲/۸
	۵- بذر اولین طبق ها سبز متمایل به قهوه ای و سخت	۱۰۲	۲۳۲۰/۱
۷- رسیدگی بذر	۱- ۱۰٪ از طبق بذرها قهوه ای و خشک	۱۰۵	۲۳۹۷/۳
	۲- ۲۵٪ از طبق بذرها قهوه ای و خشک	۱۰۷	۲۴۵۰/۱
	۳- ۵۰٪ از طبق بذرها قهوه ای و خشک	۱۱۰	۲۵۲۳/۹
	۴- ۷۵٪ از طبق بذرها قهوه ای و خشک	۱۱۳	۲۶۰۱/۶
	۵- ۹۰٪ از طبق بذرها قهوه ای و خشک	۱۱۶	۲۶۸۰/۷



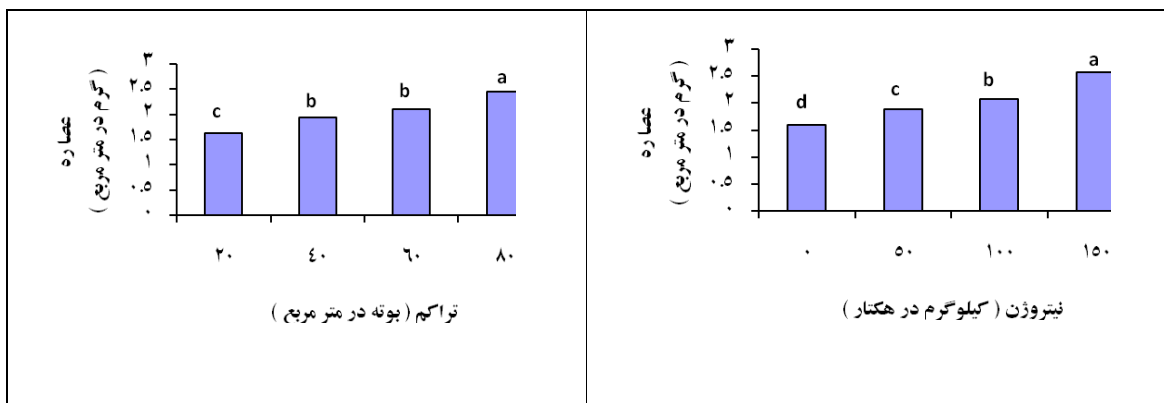
شکل ۲: اثر نیتروژن و تراکم روی روند تولید گل همیشه بهار در طی دوره گلدهی



شکل ۳- اثر کود نیتروژن و تراکم روی میزان اسانس همیشه بهار



شکل ۴: اثر کود نیتروژن و تراکم روی عملکرد گل همیشه بهار



شکل ۴: اثر کود نیتروژن و تراکم روی میزان عصاره همیشه بهار

جدول ۲: میانگین تولید مواد موثره همیشه بهار در مراحل مختلف گلدهی

عصاره (گرم در ۱۰۰ گرم گل خشک)	اسانس (میلی لیتر در ۱۰۰ گرم گل خشک)	زمان گلدهی
۲/۷۴ a	۰/۲۲ a*	اوایل گل دهی (۳۰ تیر)
۲/۵۴ b	۰/۱۷ b	اواسط گل دهی (۳۰ شهریور)
۲/۱۳ c	۰/۱۲ c	اواخر گل دهی (۳۰ آبان)

* حروف متفاوت در یک ستون بیانگر وجود تفاوت معنی دار بین سطوح تیمار بر اساس آزمون دانکن می باشد

شکل ۲ نشان دهنده اثر سطوح مختلف تراکم روی روند تولید گل همیشه بهار می باشد. بر خلاف تیمار نیتروژن که تفاوت میان تیمارها از اواسط دوره گل دهی مشاهده شد، در تیمار تراکم تفاوت میان سطوح این تیمار از همان مراحل اولیه گل دهی قابل مشاهده بود. این امر نشان دهنده این موضوع است که افزایش رشد بوته و تعداد شاخه های گل دهنده نتوانسته است جبران تعداد کمتر بوته در واحد سطح در تراکم های کمتر را بنماید. در

همچنین بیشترین تفاوت میان مقادیر مختلف تیمار نیتروژن دیده شد. حداکثر میزان تولید گل در متر مربع در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن بدست آمد و با کاهش میزان کاربرد نیتروژن عملکرد گل نیز کاهش یافت. از روز ۱۵۰ پس از کاشت، تولید گل روند کاهشی یافته و میزان آن در اواخر فصل رشد (روز ۲۱۰ پس از کاشت) به حداقل رسید.

باعث شد میزان تولید عصاره افزایش یافته و به $1/93$ گرم در متر مربع برسد. تراکم 60 بوته در متر مربع میزان عصاره در واحد سطح را به $2/10$ گرم در متر مربع رساند. بیشترین میزان عصاره در تراکم 80 بوته در متر مربع به مقدار $2/44$ گرم بر متر مربع بدست آمد (شکل ۴). نکته قابل توجه تفاوت معنی دار مقدار تولید اسانس و عصاره در طی فصل گلدهی بود. به طوری که حد اکثر میزان تولید اسانس و عصاره در 100 گرم گل خشک در اوایل گلدهی بدست آمد و در اواسط گلدهی این میزان به مرور کاهش پیدا نمود. در اواخر گلدهی مقدار تولید اسانس و عصاره در 100 گرم گل خشک از دو مرحله قبلی کمتر بود و دارای اختلاف آماری معنی دار بود (جدول ۲).

بحث

در گیاه دارویی همیشه بهار، محصول اقتصادی مورد نظر عملکرد گل در واحد سطح است و مدیریت زراعی بایستی به گونه ای باشد که حد اکثر میزان تولید گل حاصل شود. نتایج آزمایش نشان داد که کاربرد کود نیتروژن دارای اثرات مثبتی روی افزایش میزان تولید گل و همچنین افزایش میزان اسانس و عصاره در گیاه دارویی همیشه بهار بود. یافته های سایر محققین در مورد همیشه بهار و سایر گیاهان دارویی نشان دهنده تاثیر مثبت نیتروژن در افزایش عملکرد گل می باشد. به طور کلی استفاده از انواع کود نیتروژن باعث افزایش رشد رویشی و بهبود جنبه های گلدهی در گیاه دارویی همیشه بهار در مقایسه با شاهد (عدم کاربرد کود نیتروژن) می شود. کاربرد اوره به میزان 120 کیلوگرم در هکتار، باعث بیشترین تولید تعداد گل (119 گل در متر مربع) و وزن خشک گل (183 گرم در متر مربع) شد. علاوه بر این کاربرد نیتروژن باعث افزایش تعداد رنگدانه های فتوسنتزی (کلروفیل a و b) در برگ ها و کارتنوئیدها در گل ها و درصد نیتروژن در اندام هوایی شد [۱۶]. نتایج آزمایش روی گیاه بابونه نشان داد که اثر کود نیتروژن روی عملکرد گل بابونه در سطح 5% معنی دار بود. بیشترین وزن خشک گل با کاربرد 100 کیلوگرم در هکتار نیتروژن و کمترین آن بدون کاربرد نیتروژن بدست آمد [۱۷].

در مورد تنظیم تراکم (تعداد بوته در متر مربع) مناسب گیاه باید گفت با توجه به اینکه همیشه بهار گیاهی با رشد

نتیجه عملکرد گل در واحد سطح از همان ابتدای شروع گل دهی در تراکم های پایین اندک می باشد. بیشترین مقدار تولید اسانس در واحد سطح در هر دو سال آزمایش مربوط به تیمار 150 کیلوگرم در هکتار نیتروژن بود که به میزان $0/184$ میلی لیتر در متر مربع بدست آمد. کاربرد 100 کیلوگرم نیتروژن در هکتار باعث شد مقدار تولید اسانس در واحد سطح کاهش یافته و به مقدار $0/147$ میلی لیتر در متر مربع برسد که با سطح قبلی تیمار نیتروژن متفاوت بود. استفاده از 50 کیلوگرم در هکتار نیتروژن میزان تولید اسانس را باز هم کاهش داد. کمترین مقدار تولید اسانس آزمایش در تیمار عدم کاربرد کود نیتروژن بدست آمد که میزان آن $0/112$ میلی لیتر در متر مربع بود (شکل ۳).

سطوح مختلف تراکم روی مقدار تولید اسانس در واحد سطح تاثیر معنی دار داشتند. بیشترین مقدار تولید اسانس در تراکم 80 بوته در متر مربع به میزان $0/169$ میلی لیتر در متر مربع بدست آمد. تراکم 60 بوته در متر مربع باعث شد مقدار تولید اسانس کاهش یافته و به میزان $0/153$ میلی لیتر در متر مربع برسد. سطح بعدی تراکم (40 بوته در متر مربع)، باعث شد مقدار تولید اسانس در واحد سطح باز هم کاهش یافته و به میزان $0/134$ میلی لیتر در متر مربع برسد. کمترین مقدار تولید عصاره در واحد سطح در تیمار تراکم 20 بوته در واحد سطح به دست آمد که مقدار آن $0/118$ میلی لیتر در متر مربع بود (شکل ۳).

سطوح مختلف تیمار کود نیتروژن روی میزان تولید عصاره در واحد سطح دارای تفاوت معنی دار بودند. بیشترین مقدار عصاره در تیمار 150 کیلوگرم نیتروژن در هکتار به میزان $2/56$ گرم در متر مربع بدست آمد. کاربرد 100 کیلوگرم نیتروژن در هکتار باعث تولید $2/07$ گرم در متر مربع عصاره شد. استفاده از 50 کیلوگرم در هکتار نیتروژن باعث شد مقدار تولید عصاره باز هم کاهش یافته و به $1/88$ گرم در متر مربع برسد. کمترین مقدار تولید عصاره در تیمار عدم کاربرد کود نیتروژن بدست آمد و مقدار تولید عصاره را به $1/59$ گرم در متر مربع کاهش داد (شکل ۴). سطوح مختلف تیمار تراکم روی میزان تولید عصاره در واحد سطح دارای تفاوت معنی دار بود. کمترین مقدار تولید عصاره در تراکم 20 بوته در متر مربع بدست آمد که مقدار $1/63$ گرم در متر مربع بود. تراکم 40 بوته در هکتار

نامحدود است، تنظیم تراکم مناسب مخصوصا در طی دوره رشد زایشی از اهمیت زیادی برخوردار است. افزایش تراکم طی این دوره باعث می شود گیاه منابع (فضا، آب، نیتروژن) کمتری جهت افزایش بیش از حد رشد رویشی در اختیار داشته و در نتیجه توازن مناسب میان رشد رویشی و زایشی برقرار شده و گیاه شاخه های گل دهنده بیشتری تولید کند و به افزایش عملکرد گل منجر شود. در آزمایش انجام شده افزایش تراکم بوته در واحد سطح باعث افزایش عملکرد گل تولید شده گردید. نتایج مطالعات سایر محققین هم این موضوع را تایید می نماید.

در آزمایشی با عنوان تاثیر جمعیت گیاهی روی تولید گل در گیاه همیشه بهار، مشاهده شد که با افزایش تراکم گیاه در واحد سطح، مقدار تولید گل نیز افزایش پیدا کرد. مقدار تولید گل خشک در تراکم ۹ بوته در متر مربع، ۶۱ گرم در متر مربع و در تراکم ۴۶ بوته در متر مربع، ۱۴۴ گرم در متر مربع بود [۱۸]. در آزمایش دیگری روی گیاه دارویی سیاه دانه، نتایج حاصله نشان داد که با افزایش تراکم تعداد شاخه های گل دهنده کاهش یافت اما افزایش نیتروژن باعث افزایش تعداد شاخه های گل دهنده شد [۱۹]. تراکم زیاد باعث تاخیر شروع مرحله گلدهی گیاه و کاهش اندازه گل ها در همیشه بهار می شود. در آزمایشی تاخیر اولیه در تولید گل در تراکم های زیاد بزودی توسط افزایش تعداد گل تولید شده در مقادیر تراکم بالا جبران شد. اندازه گیاه با افزایش تراکم کاهش پیدا کرد. اما گل ها در بالاترین نقطه کانوپی ظاهر شدند که برداشت با دست را آسانتر نمود. اینکار باعث آسانتر شدن برداشت مکانیکی نیز شد [۲۰]. رویکرد دیگر برای جبران تاخیر در مراحل نمو در تراکم های بالا می تواند استفاده از تنظیم کننده های رشد گیاهی باشد. مشخص شده است که تنظیم کننده های رشد می توانند تعداد گل در گیاه را افزایش دهند. همچنین این مواد، میزان برخی ترکیبات شیمیایی همیشه بهار را افزایش می دهند [۲۱].

در مورد اثر کود نیتروژن و تراکم گیاهی روی مواد موثره (اسانس و عصاره) گیاه دارویی همیشه بهار نشان داد که افزایش کاربرد کود نیتروژن و همچنین افزایش تراکم باعث افزایش میزان تولید اسانس و عصاره در واحد سطح شد، زیرا کاربرد کود نیتروژن ضمن اینکه در مراحل اولیه رشد باعث بهبود رشد رویشی گیاه میشود در مراحل رشد

زایشی باعث افزایش تولید گل و در نتیجه افزایش میزان تولید مواد موثره در واحد سطح گردید. اثر کود نیتروژن روی میزان اسانس گل های بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) کم است. افزایش نیتروژن و فسفر مقدار بیشتری اسانس ایجاد نمود. در حالی که افزایش پتاسیم منجر به کاهش اسانس شد [۲۲]. حداکثر مقدار فلاونوئیدها را در برداشت دوم و سوم بابونه می باشد. با افزایش سن گیاه یا تکرار دفعات برداشت گل ها از یک گیاه یکسان، مقدار فلاونوئیدها به طور محسوسی کاهش می یابد و حداقل آن در برداشت چهارم است [۲۳].

در تحقیقی با عنوان اثر تاریخ کاشت و تراکم بر خصوصیات مورفولوژیک و درصد اسانس گیاه دارویی زنیان، مشخص شد که تاثیر تراکم بوته بر درصد اسانس گیاه دارویی زنیان در سطح ۱٪ معنی دار بود. درصد اسانس از ۳/۱۴۹ درصد در تیمار ۱۰ بوته در متر مربع به ۴/۴۸ درصد در تیمار ۷۰ بوته در متر مربع رسید که ۴۲/۲۷ درصد افزایش نشان داد [۲۴]. مطالعه روی تولید هیپرسین در گیاه دارویی گل راعی (*Hypericum perforatum*) نشان داد که بالاترین میزان هیپرسین به ازای مصرف ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در برداشت اول به دست آمد. مصرف ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن تفاوتی با مصرف ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار از نظر تاثیر روی میزان تولید هیپرسین نداشت اما با سایر سطوح تیمار نیتروژن (۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ کیلوگرم در هکتار) تفاوت آماری معنی دار داشت. در سال دوم میزان تولید هیپرسین بیشتر بود. این امر احتمالا به دلیل استقرار کامل گیاه و دستیابی به کلیه عناصر و مواد غذایی خاک در سال دوم آزمایش بود [۶]. در آزمایشی در رابطه با اثر فاصله ردیف بر روی گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris* L.) مشاهده شد که با کاهش فاصله ردیف و افزایش تراکم بوته، عملکرد اسانس در نتیجه افزایش عملکرد ماده خشک افزایش پیدا کرد [۲۵].

در مورد تاثیر زمان برداشت گل بر میزان اسانس و عصاره نتایج آزمایش نشان داد که گلهای در اوایل مراحل گلدهی از میزان اسانس و عصاره بیشتری برخوردارند و به مرور از میزان اسانس و عصاره آنها کم میشود. نتایج سایر محققین نتایج مشابهی را در مورد سایر گیاهان دارویی نشان میدهد. بررسی تغییرات میزان اسانس بادرنجبویه (L.)

باید به گونه ای باشد که حداکثر بهره برداری از نهاده های زراعی بدست آید. در مرحله زایشی گیاه دارویی همیشه بهار تلاش در جهت تولید حداکثر میزان گل با درصد بالای اسانس و عصاره می باشد، زیرا در گیاه دارویی همیشه بهار، محصول اقتصادی مورد نظر عملکرد گل در واحد سطح است و مدیریت زراعی بایستی به گونه ای باشد که حد اکثر میزان تولید گل حاصل شود. در آزمایش انجام شده، در گیاه دارویی همیشه بهار حد اکثر میزان تولید اسانس و عصاره در اوایل گلدهی بدست آمد و در اواسط تا اواخر گلدهی مقدار آن به مرور کاهش پیدا کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از همکاران مزرعه دانشکده کشاورزی و آزمایشگاه تخصصی گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در جهت فراهم آوردن امکانات این آزمایش کمال تشکر را دارند.

Melissa officinalis)، نشان داد که بالاترین مقدار اسانس در مراحل اولیه گلدهی بدست می آید (۰/۱۴ درصد) و بعد از آن در اواخر گلدهی میزان اسانس کاهش می یابد [۲۶]. مطالعه بر روی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L. در مراحل مختلف فنولوژی نشان داد که اسانس این گیاه در مرحله گلدهی بالاتر از مراحل رویشی و بعد از گلدهی است [۲۷].

اثرات مراحل رشد را بر روی میزان اسانس گونه (*Santolina rosmarinifolia*) بررسی شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مقدار اسانس در طی مراحل رویشی به سمت گلدهی، سیر صعودی دارد [۲۸]. تاثیر فاصله ردیف را بر درصد اسانس گیاه شوید (*Anethum graveolens* L. مطالعه شد و مشرعه شد که فاصله ردیف اثر معنی داری بر درصد اسانس بذر نداشت، اما با کاهش فاصله ردیف درصد اسانس بذر روند افزایشی از خود نشان داد. در این تحقیق همچنین مشخص گردید که افزایش تراکم باعث افزایش عملکرد اسانس شد [۲۹].

نتیجه گیری

در مجموع هفت مرحله فنولوژیکی در طی دوره رشد و نمو همیشه بهار تشخیص داده شده که هر مرحله دارای چند بخش می باشد. مدیریت زراعی در هر مرحله از رشد

Aromatic Plants Res. J. 2004 Vol. 20, pp. 441-445.

7. Adela P, Constantin B, Sanda, A, Carmen S. HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers. Acta Biologica, 2003 Vol 47:37-40.

8. Bako E, Deli J. Toth G. HPLC study on the carotenoid composition of Calendula Products. Journal of biochemical and biophysical methods, 2002. 53: 241-250.

9. Bernath J. Medicinal and aromatic plants. Mezo publication, Budapest: 2000, p.667.

10. Delia Loggia R; Tubaro A; Sosa S; Becker H; Saar St, Isaac O. The role of triterpenoids in the topical anti-inflammatory activity of *Calendula officinalis* flowers. Planta Medica, 1994, 60: 516- 520.

References

1. Omid Beigy R. Production and processing of medicinal plants. Mashhad: Behnashr Publishers; 2005.
2. Penelope DM. The herb society's complete medicinal herbal, Dorling Kindersley Limited, London: 1993.
3. Sinclair TR, Horie T. Leaf nitrogen, photosynthesis, and crop radiation use efficiency: A review. Crop Sci. 1989, 29: 90-98.
4. Mozaffarian, V., Dictionary of Iranian plant names. Tehran: Farhange Moaser Press. 2003.
5. Field CB, Mooney .A. The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. In: Givnish T.J. On the economy of plant form and function. Cambridge: Cambridge University Press, 25-55. 1986.
6. Lebaschi M, Sharifi ashoorabadi A, Abbaszadeh B. Hyperisin for efficient production of nitrogen. Medicinal and

11. Dinda J., Craker, LE. Growers Guide to Medicinal Plants. HSMP Press. Amherst: 1998 35-37.
12. Mardaninejad Sh, Kholdebarin B, Saadat I, Moradshahi A, Vazirpoor M. Change in growth behavior and the essential oils of lavender (*Lavandula officinalis*) in response to different amounts of ammonium nitrate. Medicinal and Aromatic Plants Res. J. 2003 Vol. 19, pp. 16-35.
13. Kalvatchev Z, Walder R, Garzaro D. Anti-HIV activity of extracts from *Calendula officinalis* flowers. Biomed and Pharmacother. 1997, Vol. 51: 176-180.
14. Pintea A, Bele C, Anderi S, Socacio C. HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers Acta Biologica Szegediensis. 2003, 47:37-40.
15. Koocheki A, Jamialahmadi M, Kamkar B, Mahdavi damghani A. Principles of Ecological Agriculture. Jihad daneshgahi publishers. Pp. 126-128. 2001
16. Al-Badawy AA, Abdalla NM, El-Sayed AA. Response of *Calendula officinalis* L. plants to different nitrogenous fertilizers. Hort. science. 1995 30: 195-914.
17. Fariborzi A. Effect of nitrogen fertilizer and flower harvest date on yield and essential oils of *Matricaria chamomilla* L. (Dissertation for the degree of Master's of Education), Ferdowsi University of Mashhad. 1999
18. Martin RJ, Deo B. Effect of plant population on calendula (*Calendula officinalis* L.) flower production. New Zealand J. of Crop and Hort. Sci. 2000, 28: 37-44.
19. Moodi H. Effect of nitrogen and plant density on yield and yield components of Black cumin seed. (Dissertation for the degree of Master's of Education), Ferdowsi University of Mashhad, 1998.
20. Zhukova LA, Voskresnenskaya OL, Grosheva NP. Morphological and physiological characteristics of ontogenesis in pot marigold (*Calendula officinalis* L.) plants grown at different densities. Russian J. of Ecology, 1996 27: 100-106.
21. Ortiz-Monasterio JI, Sayre KD, Rajaram S, McMahon M. Genetic progress in wheat yield and nitrogen use efficiency under four nitrogen rates. Crop Sci. 1997 37: 898-904.
22. Franz CH, Hoelzl J, Kirsch C. Influence of nitrogen, Phosphorus and Potassium fertilization on *Matricaria chmomilla* L., Effect on essential oil. Garten. 1983 48: 17-22.
23. Letchamo W. A comparative study of chamomile yield, essential oil and flavonoides content under two sowing seasons and nitrogen levels. Acta-Hort. 1995, 306: 375-384.
24. Borumand rezazadeh Z. Effect of planting date and density on morphological characteristics and essential oils percent of *Trachyspermum copticum*. (Dissertation for the degree of Master's of Education), Ferdowsi University of Mashhad. 2005
25. Naghdibadi H, Yazdani F, Nazari S. Seasonal variation of essential oil yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris* L.) at different planting densities. Medicinal and Aromatic Plants J Res. 2002. Vol. 5, pp. 51-56.
26. Imani I. The survey on essential oils of *Melissa officinalis* in growth season in two regions of Arasbaran and Malekan. Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 2005 Vol. 21, pp. 267-279.
27. Ahmadi L. Effect of different stages in the production of medicinal plant *Salvia* oils and chemical compounds. Medicinal and Aromatic Plants J. Res., 1999 Vol. 4, pp. 33-47.
28. Pala-paul J, Perez – Alonso MJ, Velasco-Negueruela A. Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. Biochemical Systematic and Ecology, 2002, Vol. 29: 663-672.
29. Amarjit SB, Sidhu BS, Randhawa GS. Effect of row spacing and nitrogen on nitrogen uptake, content and quality of dill (*Anethum graveolens*). Indian J. of Agro. 1992 Vol. 37: 633-634.

The survey on phenological stages, the effect of nitrogen fertilizer levels and plant density and stage of flower harvest on flower production, active ingredients of Marigold(*Calendula officinalis*)

Ameri AA¹, Rabbani nasab H², Jalilvand MR³, Imani M⁴

1 Assistant professor of crop physiology, Northern khorasan Agricultural and Natural Resources Research Center

2 Assistant professor of plant pathology, Northern khorasan Agricultural and Natural Resources Research Center

3 Member of scientific board, Natural Products Safety and Medicinal Plants Research Center, Northern khorasan ,University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

4 Medicinal plant researcher of Northern khorasan Agricultural and Natural Resources Research Center

***Corresponding Author:**
Northern khorasan Agricultural
and Natural Resources
Research Center, No. 52,
shahid kalate Avenue, Tarbiat
street, Bojnurd.
E-mail:
aliakbarameri@yahoo.com

Abstract

Background & Objectives: Marigold is a medicinal plant that has valuable ingredients which are used in the treatment of many diseases. The flowers of this plant can be used for the treatment of gastrointestinal disorders, skin ulcers and inflammation .Marigold accelerates skin wounds healing by preventing inflammation in the skin and mucous membranes, reducing tissue swelling and abscess re-built. Determination of the appropriate time to harvest the herb flowers is very important because it impact on the amount of active ingredients in flowers .In this study we aimed to determine the appropriate time to harvest the marigold flowers.

Material and Methods: I order to determine the amount of active ingredients (including extracts and essential oils) in flower and study the trend of changes, in three different stages of flowering, (including early, mid and late flowering, respectively, 90, 150 and 210 days after planting) sampling were done and the samples were sent to a lab to determine extracts and essential oils. The amount of essential oils determined by the method of steam distillation using Clevenger and the amount of extracts were determined by extraction with 70% ethanol method.

Results: In this experiment a total of seven phenological stages during marigold growth were diagnosed. Experimental data showed the positive effects of nitrogen fertilizer on increase of active ingredients of marigold. The results of experiment showed a significant different in amount of essential oil and extracts during the flowering season. Maximum production of essential oils and extracts obtained at early flowering and in the mid to late flowering season the amount of extracts and essential oils were reduced.

Keywords: Marigold (*Calendula officinalis*), Active ingredients, Phenology, Harvest of flowers, Nitrogen fertilizer.
