

اثر تراکم‌های مختلف کشت و تغذیه با کودهای آلی بر بازده، عملکرد و ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه دارویی *Satureja mutica* Fisch. & C. A. Mey. در شرایط دیم

برزو یوسفی^{۱*}، فاطمه سفیدکن^۲، مهدی میرزا^۲ و محمدحسین لباسچی^۳

۱- دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران، پست الکترونیک: borzooyosefi@gmail.com

۲- استاد، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۰

تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: فروردین ۱۴۰۰

چکیده

مرزه موتیکا (*Satureja mutica* Fisch. & C. A. Mey.) یکی از گونه‌های مرزه بومی ایران است که به دلیل میزان بالای اسانس و ترکیب فنلی تیمول بسیار مورد توجه قرار گرفته است. تعیین مناسب‌ترین و بهترین تراکم کاشت و همچنین حاصلخیزی خاک اهمیت زیادی در افزایش عملکرد کمی و کیفی تولید گیاهان دارویی دارد. در این تحقیق به منظور بررسی اثر تراکم گیاهی و تغذیه با کودهای آلی بر عملکرد کمی و کیفی اسانس مرزه موتیکا در شرایط دیم، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار در سال‌های زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۹ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه انجام شد. عامل اصلی شامل ۳ تیمار کودی و عامل فرعی ۳ تراکم (۲/۶۶، ۴ و ۸ بوته در مترمربع) در ردیف‌هایی با فاصله ۵۰ سانتی‌متر و با ۳ فاصله کاشت (۲۵، ۵۰ و ۷۵ سانتی‌متر) بودند. اندام هوایی گیاهان در زمان گلدهی کامل برداشت و به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. بازده اسانس بر حسب وزن خشک گیاه محاسبه و ترکیب‌های شیمیایی آن با استفاده از کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) شناسایی شدند. نتایج نشان داد که بازده و ترکیب‌های شیمیایی اسانس بین سال‌ها تفاوتی نشان ندادند. بین تیمارهای کودی برای بازده و عملکرد اسانس و ترکیب‌های تیمول و کارواکرول و سایر ترکیب‌های شیمیایی اسانس در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌دار وجود داشت. بین تراکم‌های کاشت فقط برای عملکرد اسانس تفاوت معنی‌دار وجود داشت. تیمول با تیمار کاه غنی شده و در مرحله بعدی با کود گاوی پوسیده رابطه مثبتی داشت و بیشترین مقدار آن (۹۳/۲٪) در تیمار کاه غنی شده مشاهده شد. کارواکرول با تیمار کود دامی پوسیده ارتباط مثبت داشت و بیشترین مقدار آن (۹/۲٪) در این تیمار بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، تیمول، کارواکرول، کروماتوگرافی گازی، کودهای آلی، مرزه موتیکا (*Satureja mutica* Fisch. & C. A. Mey.).

مقدمه

تعیین مناسب‌ترین و بهترین تراکم کاشت اهمیت زیادی در برنامه‌ریزی زراعی دارد. عملکرد حاصل رقابت برون و درون بوته‌ای برای عوامل محیطی رشد است. حداکثر عملکرد در واحد سطح هنگامی حاصل می‌شود که این رقابت‌ها به حداقل برسد تا گیاه بتواند از عوامل رشد موجود، حداکثر استفاده بکند (Khojahpour, 2015). تراکم بوته مطلوب، تراکمی است که در نتیجه آن کلیه عوامل محیطی (آب، هوا، بذر، خاک) به‌طور کامل مورد استفاده قرار گرفته و در عین حال رقابت‌های درون و برون بوته‌ای در حداقل باشند تا حداکثر عملکرد ممکن و با کیفیت مطلوب بدست آید. محدودیت عوامل محیطی مانند تابش نور، آب و رقابت علف‌های هرز بر روی میزان تراکم تأثیر گذاشته و تراکم مطلوب برای تولید حداکثر را کاهش می‌دهند. در شرایط محیطی نامناسب کاهش فاصله ردیف‌ها در اغلب گیاهان همراه با افزایش عملکرد در واحد سطح نخواهد بود (Saxena et al., 1987). تراکم مناسب برای جذب بیشتر انرژی خورشید و استفاده بهتر از مواد غذایی و آب خاک، از اهمیت زیادی برخوردار است. Naghdi Badi و همکاران (۲۰۰۴) بیان کردند که در کشت آویشن فواصل مختلف بین بوته‌ها بر عملکرد سرشاخه و میزان اسانس در واحد سطح اثر داشته است. در گیاه نعناع‌فلفلی بیشترین عملکرد خشک و عملکرد اسانس در واحد سطح در تراکم ۲۰ بوته در مترمربع تولید شده است (Heidari et al., 2008). استفاده از کودهای آلی در اکوسیستم‌های زراعی با هدف کاهش مصرف کودهای شیمیایی یکی از اهداف کشاورزی پایدار است (Sharma, 2002). کودهای آلی و زیستی، نقش مثبت و غیرقابل انکاری در مدیریت پایدار خاک و در نهایت پایداری کل سیستم دارند (Kennedy et al., 2004). در یک بررسی، بازده اسانس برای *S. mutica* ۲/۳۱٪ گزارش شده است. در تحقیقی برای *S. Spicigera* میانگین ۲/۴٪ برای بازده اسانس و میزان ۷۵/۵ کیلوگرم اسانس در هکتار گزارش شده است (Zarezadeh et al., 2017).

درصد ترکیب‌های اصلی اسانس برای مرزه موتیکا، کارواکرول ۳۰/۹٪، تیمول ۲۶/۵٪، گاما-تریپنین ۱۴/۹٪ و پارا-سیمن ۱۰/۳٪ (Sefidkon & Jamzad, 2005) و در *S. spicigera* تیمول ۳۵/۱٪، پارا-سیمن ۲۲/۱٪ و آلفا-تریپنین ۱۳/۷٪ گزارش شده است (Sefidkon & Jamzad, 2004). مهمترین ترکیب‌های اسانس در *S. Montana* کارواکرول، تیمول، لینالول و پارا-سیمن (Zarezadeh et al., 2017). در اسانس مرزه سهندی (*S. sahandica* Bornm.) تیمول، گاما-تریپنین و پارا-سیمن (Akbarinia & Sefidkon, 2009) و در مرزه بختیاری کارواکرول، سیس جاسمون، پارا-سیمن، بتا-بیزابولن و ژرانیل استون بوده‌اند (Meshkatsadat & Shabaninejad, 2011). از این منبع در منابع استفاده نشده است) تیمارهای مختلف کودی بر ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس ریحان تأثیر داشته و با مصرف سطوح مختلف کودی میزان اوژنول و متیل کایوکول نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داده است (Makkizadeh-Tafti et al., 2012). در گیاه مرزه تابستانه، اثر کودهای آلی بر تمامی صفات بجز درصد اسانس معنی‌دار بوده و باعث افزایش عملکرد اسانس نسبت به گیاهان شاهد شده است (Akrami nejad et al., 2016).

گرچه مطالعات زیادی روی اثر تراکم کشت و مصرف کودهای آلی بر عملکرد و اجزای عملکرد و سایر صفات بیوشیمیایی، مرفولوژی و غیره در گیاهان دارویی شده است اما در مورد اثر تراکم و تغذیه بر ترکیب‌های شیمیایی اسانس به‌ویژه در گیاه مرزه، مطالعات چندانی انجام نشده است. این پژوهش به‌منظور کمک به حفظ محیط‌زیست، توسعه کشاورزی پایدار، تولید گیاهان دارویی ارگانیک و تعیین مناسب‌ترین تراکم کاشت و بهترین نوع کود آلی مورد نیاز گیاه برای دسترسی به عملکرد مناسب اسانس و افزایش کیفیت اسانس در گیاه مرزه موتیکا اجرا شد.

مواد و روش‌ها

منابع طبیعی استان کرمانشاه طی سال‌های زراعی ۹۶-۹۹ انجام شد. مشخصات جغرافیایی و اقلیمی محل آزمایش و نتایج آزمایش خاک تیمارها در جدول‌های ۱ و ۲ ارائه شده است.

این آزمایش در ایستگاه تحقیقاتی مهرگان واقع در شمال غرب شهر کرمانشاه، در کیلومتر ۲۰ جاده کرمانشاه به سنندج، متعلق به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی و اقلیمی محل آزمایش

Table 1. Geographic and climatic specification of experiment site

Latitude and Longitude	47°, 9'	34°, 9'
altitude	1270	m
Mean annual precipitation	470.7	mm
Mean annual temperature	12.39	°C
Type of climate	Cold temperate climate	-

جدول ۲- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک و تیمارهای مورد مطالعه

Table 2. Physical and chemical characteristics of studied soil and treatments

Fertilizer treatments	soil texture	Soluble Solutes (EC*10 ³)	Total Saturation Acidity	Phosphorus Absorbable (ppm)	Potassium Absorbable (ppm)	O.C. (%)
Farm soil	Silty-Clay	0.70	7.03	12.2	520	1.13
Enriched straw and farm soil	-	-	-	26	860	22.03
Rotten cow manure and farm soil	-	-	-	138	6800	1.75

طرح آزمایشی

کامل، نسبت به برداشت اندام هوایی گیاهان و خشک کردن در سایه و توزین آنها اقدام شد. از نمونه‌ها به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. نمونه‌های اسانس توزین و بازده اسانس بر اساس گرم اسانس در ۱۰۰ گرم پودر خشک نمونه محاسبه شد. عملکرد اسانس از حاصل ضرب درصد اسانس در عملکرد خشک در هکتار بدست آمد. اسانس‌ها به وسیله کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفتند. مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده به صورت زیر بود.

دستگاه GC: دستگاه GC از نوع کروماتوگرافی گازی فوق سریع مدل UFM-Thermo دارای ستون DB-5 (به طول ۱۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۴ میکرومتر) بود. دمای اولیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد (با زمان

این آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده (Split Plot) و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، با سه شرایط تغذیه گیاه به عنوان عامل اصلی و سه تراکم به عنوان عامل فرعی در ۳ تکرار و ۲ سال اجرا شد. تیمارهای عامل اصلی عبارت بودند از: کود گاوی پوسیده ۳۰ تن در هکتار، کاه ۱۰ تن در هکتار (فرآوری شده با کود سولفات آمونیوم) و شاهد بدون کود (خاک معمولی مزرعه). تیمارهای عامل فرعی شامل سه تراکم ۲/۶۶، ۴ و ۸ بوته در مترمربع، با فاصله بین ردیف‌ها ۵۰ سانتی‌متر و فواصل بین بوته‌ها ۲۵، ۵۰ و ۷۵ سانتی‌متر بود. عملیات داشت شامل مبارزه با علف‌های هرز به صورت مکانیکی و وجین دستی انجام شد. پس از اعمال تیمارهای مورد نظر، آماربرداری سالانه از کلیه واحدهای آزمایشی انجام گردید. در زمان گلدهی

درصد اسانس، عملکرد اسانس، تعداد ترکیب‌های شیمیایی اسانس، درصد کارواکرول، درصد تیمول و سایر ترکیب‌های موجود در اسانس اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۳). تیمارهای کودی و تراکم‌های مختلف برای درصد اسانس تفاوتی نداشتند ولی عملکرد اسانس، تعداد ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس، مقادیر تیمول و کارواکرول و سایر ترکیب‌های اسانس بجز ترانس-کاریوفیلین بین تیمارهای کود آلی در سطح ۱٪ اختلاف داشتند. در بین تراکم‌های مختلف کشت، برای عملکرد اسانس اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ مشاهده شد ولی برای تعداد و درصد ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس اختلاف معنی‌دار دیده نشد (جدول ۳). اثر متقابل سال × کود آلی برای درصد اسانس در سطح ۵٪، عملکرد اسانس و تعداد ترکیب‌های شیمیایی اسانس در سطح ۱٪ معنی‌دار بود و برای درصد ترکیب‌های شیمیایی مختلف موجود در اسانس اختلافی دیده نشد. اثر متقابل کود آلی × تراکم برای بازده اسانس، تعداد ترکیب‌های شیمیایی اسانس و درصد ترکیب ترانس-کاریوفیلین در سطح ۵٪ معنی‌دار بود و برای سایر ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس اثری دیده نشد (جدول ۳). اثرهای متقابل سال × کود آلی × تراکم فقط برای صفت بازده اسانس در سطح ۵٪ معنی‌دار بود.

با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴)، تیمارهای کودی برای درصد اسانس در یک گروه و برای عملکرد اسانس در دو گروه قرار گرفتند. بیشترین عملکرد اسانس در تیمار کود دامی پوسیده (۱۹/۶۸ کیلوگرم بر هکتار) و کمترین آن در تیمار خاک مزرعه (شاهد) بدست آمد. بیشترین تعداد ترکیب‌های شیمیایی شناسایی شده اسانس در تیمار کاه غنی شده و کمترین آن در کود دامی پوسیده مشاهده شد. تیمارهای کودی از نظر مقدار کارواکرول در ۳ گروه قرار گرفتند. بیشترین مقدار درصد کارواکرول در تیمار کود دامی پوسیده (۹٪/۲) بدست آمد. تیمارهای کودی برای ترکیب تیمول در دو گروه قرار گرفتند. بیشترین مقدار درصد تیمول (۵۳٪/۲) در تیمار کاه غنی شده وجود داشت (جدول ۴).

نگهداری ۳ دقیقه) بود که در نهایت با افزایش ۸۰ درجه سانتی‌گراد دما در هر دقیقه به دمای نهایی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد رسید. از گاز حامل هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ با حرکت در طول ستون با سرعت ۳۲ سانتی‌متر بر ثانیه استفاده شد.

دستگاه GC/MS: گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی مدل واریان ۳۴۰۰ از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون GC/MS از ۲۴۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش دمای ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه بود. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بیشتر از دمای نهایی ستون تنظیم شد. گاز حامل هلیوم بود که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود.

سپس داده‌ها در نرم‌افزار EXCEL وارد شد و تجزیه واریانس تک‌متغیره، مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن و آنالیز همبستگی بین صفات و تجزیه مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای توسط نرم‌افزارهای SPSS16 و MINITAB18 انجام شد.

نتایج

تعداد بیست ترکیب شیمیایی مختلف در نمونه‌های اسانس شناسایی شد که عناصر اصلی تشکیل‌دهنده اسانس بودند و بیش از ۹۷٪ آن را تشکیل می‌دادند. این ترکیب‌ها شامل تیمول و کارواکرول (که ترکیب‌های فنلی هستند و از نظر شیمیایی به گروه ترکیب‌های مونوترپنی الکلی تعلق دارند)، بتا-کاریوفیلین (که یک سسکوئی‌ترین دو حلقوی است)، ترکیب‌های آلفا-پینن، بتا-پینن، کامفن و پارا-سیمن (که از نظر ساختار شیمیایی به هم نزدیک هستند و در گروه ترکیب‌های مونوترپنی قرار دارند) و ترکیب‌های آلفا-تریپین و گاما-تریپین بودند.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین سال‌ها برای صفات

جدول ۳- تجزیه واریانس بازده، عملکرد و درصد ترکیب‌های شیمیایی اسانس گونه مرزه موتیکا در تیمارهای کود آلی و تراکم‌های مختلف

Table 3- Analysis of variance for EO percentage, yield and chemical composition in *S. Mutica* planted under different organic fertilizer and densities

Source of variations	df	Mean squares											
		% EO	EO yield	thymol	carvacrol	γ - terpinene	P- cymene	α - terpinene	α - pinene	β - pinene	camphene	E- caryophyllene	thymol + carvacrol
Year	1	0.07	0.191	5.494	0.025	0.792	0.175	0.004	0.219	0.118	0.012	0.026	4.776
Year \times repeat	4	0.037	17.283	4.754	2.464	5.184	1.218	0.125	0.053	0.071	0.055	0.006	3.218
Fertilizer	2	0.018	116.19**	151.998**	55.2**	147.53**	52.68**	2.37**	2.956**	2.057**	0.708**	0.009	61.17**
Year \times fertilizer	2	0.126*	74.811**	3.527	0.58	2.161	0.42	0.088	0.239	0.084	0.002	0.034	2.757
year \times fertilizer \times repeat	8	0.028	5.001	10.653	1.535	4.417	4.288	0.067	0.061	0.042	0.041	0.009	6.646
Density	2	0.051	712.537**	4.011	0.398	4.891	1.254	0.025	0.047	0.002	0.025	0.039	2.131
year \times density	2	0.145*	15.306	0.95	2.197	3.95	1.513	0.047	0.014	0.052	0.033	0.006	2.464
fertilizer \times density	4	0.13*	26.982	20.02	2.498	2.3	1.699	0.059	0.015	0.032	0.067	0.051*	13.861
year \times fertilizer \times density	4	0.151*	9.742	9.508	0.747	3.132	0.813	0.136*	0.027	0.063	0.041	0.004	13.249
Error	24	0.039	12.786	29.38	1.133	2.255	2.805	0.043	0.019	0.058	0.035	0.013	25.309
% CV		9.94	20.91	10.88	14.62	7.50	15.93	10.25	21.30	15.22	38.52	9.07	8.81

** and *: significant difference in the levels of 1% and 5% respectively and others no significant difference

کارواکرویل دومین عنصر اصلی و اساسی اسانس مرزه است به تنهایی روند یگانه‌ای نشان داد. تیمول با تیمار کود گاوی پوسیده (F2) رابطه بسیار مثبتی داشته و بیشترین مقدار آن در همین تیمار مشاهده شده است ولی با تیمار کاه غنی شده (F3) رابطه بسیار منفی نشان داده و در این تیمار دارای کمترین مقدار بوده است (شکل ۱).

کارواکرویل همراه با تیمول دو ترکیب اساسی اسانس مرزه هستند. این دو ترکیب از نظر شیمیایی مشابه هستند و به گروه مونوترپن‌های الکلی تعلق دارند. با توجه به نمودار بای‌پلات، تیمول روند کاملاً متضادی با ترکیب کارواکرویل نشان داده است. برخلاف تیمول، ترکیب کارواکرویل با تیمار کاه غنی شده (F3) رابطه بسیار مثبتی نشان داده و در این تیمار دارای بیشترین مقدار است. کارواکرویل با تیمار کود گاوی پوسیده روند متضاد و منفی قوی دارد و کمترین مقدار آن در این تیمار مشاهده شده است (شکل ۱).

ترکیب‌های آلفا-ترپینن و گاما-ترپینن که از نظر ساختار شیمیایی ایزومرنند و در گروه مونوترپن‌های دارای یک باند دوگانه قرار می‌گیرند، دارای روند یکسانی هستند و بیشترین مقدار آنها در تیمار کاه غنی شده مشاهده می‌شود. این دو ترکیب با تیمار کود گاوی پوسیده ارتباط منفی و معکوس دارند و در این تیمار کودی دارای کمترین مقدار هستند. رابطه این دو ترکیب با کارواکرویل، روندی مثبت و هم‌جهت است ولی با تیمول روندی بسیار منفی و معکوس دارند.

رابطه تراکم‌ها (D1, D2, D3) در تیمار کود گاوی (F2) و نیز در تیمار کاه غنی شده (F3) بسیار به هم نزدیک بوده و اثرهای تراکم تفاوت چندانی روی درصد ترکیب‌های شیمیایی اسانس نشان نمی‌دهند ولی در تیمار خاک معمولی مزرعه (F1) تراکم‌ها خیلی هم روند نبوده و تا حدودی اثرهای متفاوتی روی ترکیب‌های شیمیایی اسانس نشان داده‌اند (شکل ۱).

تیمارهای کودی برای مجموع تیمول و کارواکرویل، در سه گروه قرار گرفتند و بیشترین مقدار مجموع این دو ترکیب در تیمار کود گاوی پوسیده و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد. تیمارهای مختلف کودی برای ترکیب ترانس-کاریوفیلین در یک گروه، برای ترکیب‌های گاما-ترپینن، آلفا-ترپینن و بتا-پینن در دو گروه و برای ترکیب‌های پارا-سیمن، آلفا-پینن و کامفن در سه گروه مختلف قرار گرفتند (جدول ۴).

مقایسه میانگین‌ها برای صفات تراکم‌های مختلف کاشت (جدول ۵) نشان داد که بیشترین درصد اسانس به مقدار ۲/۰۴٪ در تراکم ۸ بوته در مترمربع وجود دارد و بیشترین عملکرد اسانس به مقدار ۲۳/۹۴ کیلوگرم در هکتار در تراکم ۴ بوته در مترمربع حاصل شد. بیشترین مقدار کارواکرویل (۷/۵٪) در تراکم ۴ بوته در مترمربع و بیشترین مقدار تیمول در تراکم ۸ بوته در مترمربع به مقدار ۵۰/۲٪ دیده شد. همچنین بیشترین مقدار گاما-ترپینن (۲۰/۶٪) در تراکم ۴ بوته در مترمربع و بیشترین مقدار پارا-سیمن (۱۰/۷٪) در تراکم ۸ بوته در مترمربع مشاهده شد.

بررسی نمودار بای‌پلات حاصل از تجزیه چند متغیره (شکل ۱)، برای درصد ترکیب‌های شیمیایی اسانس مرزه موتیکا نشان می‌دهد که ترکیب‌های آلفا-پینن، بتا-پینن، کامفن و پارا-سیمن که از نظر ساختار شیمیایی به هم نزدیک هستند و در گروه ترکیب‌های مونوترپنی قرار دارند هم روند بوده و در تیمار شاهد (F1)، (خاک معمولی مزرعه) دارای بیشترین مقدار هستند. این گروه از ترکیب‌ها با تیمار کود گاوی پوسیده رابطه منفی شدیدی نشان داده و در این تیمار کمترین مقدار را داشته‌اند.

ترکیب ترانس-کاریوفیلین که یک سس‌کوئی‌ترین دو حلقوی است به تنهایی دارای روال یکتایی است و به مقدار بیشتری در خاک معمولی مزرعه (تیمار شاهد) وجود داشته است. ترکیب تیمول که از نظر شیمیایی به گروه ترکیب‌های مونوترپنی الکلی تعلق دارد و بعد از

جدول ۴- مقایسه میانگین بازده، عملکرد و درصد ترکیب‌های شیمیایی اسانس مرزه موتیکا در تیمارهای مختلف کود آلی و شرایط دیم

Table 4. Comparison of means for EO yield, percentage and chemical composition for *S. mutica* under organic fertilizer treatments and rainfed conditions

Treatments	EO yield (Kg/h)	Percentage (%)										
		EO	thymol	carvacrol	γ -terpinene	p-cymene	α -terpinene	α -pinene	β -pinene	Camphene	E-caryophyllene	thymol + carvacrol
Farm soil	14.60b	2.02a	48.4b	6.8b	21.4a	9.3b	2.3a	1.1a	2.0a	0.7a	1.3a	55.3b
Enriched straw and farm soil	17.03b	1.96a	53.2a	5.8c	16.7b	12.5a	1.6b	0.3c	1.3b	0.3c	1.3a	59.0a
Rotten cow manure and farm soil	19.68a	1.98a	47.9b	9.2a	21.9a	9.7b	2.2a	0.5b	1.5b	0.5b	1.2a	57.1ab

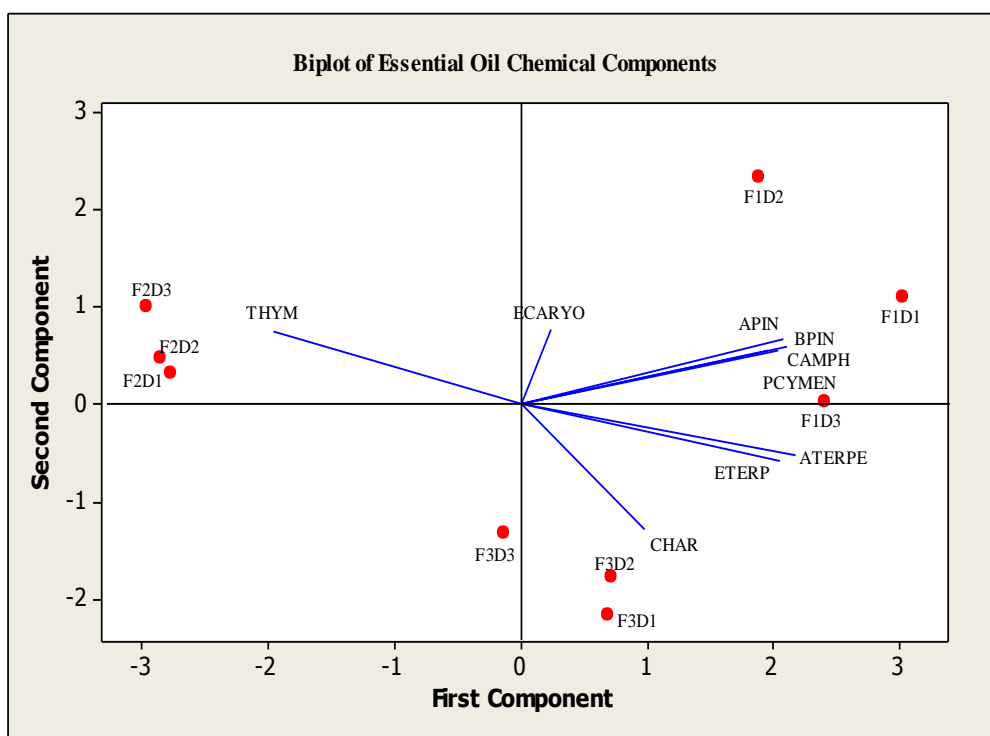
The common letters showed no significant difference

جدول ۵- مقایسه میانگین بازده، عملکرد و درصد ترکیب‌های شیمیایی اسانس مرزه موتیکا در تراکم‌های مختلف کاشت و شرایط دیم

Table 5. Comparison of means for EO yield, percentage and chemical composition for *S. mutica* under different densities planting and rainfed conditions

Densities	EO yield (Kg/h)	Percentage (%)										
		EO	thymol	carvacrol	γ -terpinene	p-cymene	α -terpinene	α -pinene	β -pinene	Camphene	E-caryophyllene	thymol + carvacrol
8 plants/m ²	23.94a	1.99a	49.3a	7.5a	20.6a	10.6a	2.1a	0.7a	1.6a	0.5a	1.2b	56.7a
4 plants/m ²	15.82b	1.93a	50.0a	7.2a	19.7a	10.2a	2.0a	0.7a	1.6a	0.5a	1.3a	57.1a
2.66 plants/m ²	11.55c	2.04a	50.2a	7.2a	19.8a	10.7a	2.0a	0.6a	1.6a	0.5a	1.2b	57.4a

The common letters showed no significant difference



شکل ۱- بای پلات ترکیبات شیمیایی اسانس مرزه موتیکا و ارتباط آنها با تیمارهای کودی و تراکم‌های مختلف کاشت

Figure 1. Bioplate of chemical compounds of *S. mutica* essential oil and their relationship with fertilizer treatments and different planting densities

Farm soil=F1, Rotten cow manure and farm soil=F2, Enriched straw and farm soi=F3, Low density=D1, Medium density=D2, High density=D3

بحث

عملکرد، سبب افزایش عملکرد گیاه و در نتیجه عملکرد اسانس می‌شوند. نتیجه‌ای که در این تحقیق بدست آمد، گیاهان در تیمارهای کود آلی با توسعه بیشتر ریشه، دسترسی به رطوبت بیشتر در عمق‌های پایین‌تر خاک و دریافت مواد غذایی بیشتر، عملکرد بیشتری دارند، زیرا نگهداری رطوبت خاک در تیمارهای کود آلی بیشتر بوده و گیاه راحت‌تر آن را جذب می‌کند.

در گیاه مرزه تابستانی کاربرد کود گاوی منجر به افزایش معنی‌دار صفات مرفولوژیک، عملکرد و عملکرد اسانس شده است (Gholami sharafkhanah *et al.*, 2015). کود آلی اسید هیومیک موجب افزایش معنی‌دار صفات عملکردی در زنبان شده است (Khalesro & Malekian, 2017).

Haj Seyd Hadi و Darzi (۲۰۱۷) گزارش کردند که کاربرد تیمارهای کود آلی، تأثیر معنی‌داری بر صفات عملکردی و عملکرد خشک سرشاخه گل‌دار داشته است.

بازده و عملکرد اسانس دو فاکتور مهم کمی در کشت گیاهان دارویی محسوب می‌شوند. عملکرد اسانس حاصل دو جزء عملکردی، یعنی عملکرد بیوماس و بازده اسانس است، از این‌رو افزایش هر یک یا هر دو آنها در افزایش عملکرد اسانس نقش مستقیم دارد. تیمارهای کود آلی روی درصد اسانس اثر معنی‌داری نداشته‌اند اما با افزایش تولید بیوماس، سبب افزایش عملکرد اسانس شده‌اند. این نتیجه قابل انتظار است، زیرا بازده اسانس بیشتر یک ویژگی ژنتیکی است که معمولاً در شرایط تنش مورد تأثیر قرار می‌گیرد و اگر فاکتورهای اقلیمی و اکولوژیک یکنواخت باشد، بازده اسانس بیشتر تحت کنترل ژنتیکی گیاه قرار دارد و در یک گونه خاص کمتر تحت تأثیر فاکتورهای تغذیه‌ای قرار می‌گیرد، مگر اینکه گیاه از نظر تغذیه با تنش شدید مواجه شود. از سویی، کودهای آلی با افزایش اجزاء

اسانس مرزه است به تنهایی دارای روند یگانه‌ای است. تیمول با تیمار کود گاوی پوسیده، رابطه بسیار مثبتی داشته ولی با تیمار کاه غنی شده با سولفات آمونیوم، رابطه بسیار منفی نشان داده است. برخلاف تیمول، ترکیب کارواکرول با تیمار کاه غنی شده رابطه بسیار مثبتی نشان داده ولی با تیمار کود گاوی پوسیده روند متضاد و منفی قوی دارد. کارواکرول همراه با تیمول دو ترکیب اساسی اسانس مرزه هستند. این دو ترکیب از نظر شیمیایی مشابه هستند و به گروه مونوترپن‌های الکلی تعلق دارند. تیمول روند کاملاً متضادی با ترکیب کارواکرول نشان داده است. از این رو به نظر می‌رسد شیفت سنتز یکی از این دو ترکیب به سمت دیگری، در تیمارهای مختلف غذایی اتفاق افتاده است.

ترکیب‌های آلفا-ترینین و ای-ترینین از نظر ساختار شیمیایی ایزومرند و در گروه مونوترپن‌های دارای یک باند دوگانه قرار می‌گیرند. بیشترین مقدار آنها در تیمار کاه غنی شده دیده شد و در تیمار کود گاوی پوسیده، دارای کمترین مقدار هستند. رابطه این دو ترکیب با کارواکرول، روندی مثبت و هم‌جهت است ولی با تیمول روندی بسیار منفی و معکوس دارند. در تحقیقی، بیشترین عملکرد پیکره رویشی، میزان اسانس و عملکرد اسانس، درصد ژرانیل‌استات و درصد ژرانبول در گیاه بادرشبو در تیمارهای کود آلی و بیشترین ترکیب‌های اسانس با کاربرد ورمی‌کمپوست بدست آمده است (Darzi et al., 2016).

در پژوهشی، بین تیمارهای مختلف کود آلی از نظر تأثیر بر درصد اسانس اختلاف معنی‌داری وجود نداشته است ولی این تیمارها از نظر تأثیر بر اجزای تشکیل‌دهنده اسانس و عملکرد اسانس اختلاف معنی‌داری داشته‌اند و بیشترین عملکرد اسانس با کاربرد کود گاوی (۸ تن در هکتار) بدست آمده است (Younesian et al., 2016).

در گیاه زیره سبز، بیشترین میزان کومین‌آلدهید و پارا-سیمن و کمترین میزان بتا-پینن، گاما-ترینین و آلفا-پینن در تیمار مصرف کود دامی بدست آمده است (Ahmadian et al., 2011). در تحقیقی دیگر اثر کمپوست زباله شهری و ورمی‌کمپوست سبب افزایش درصد اسانس و

این نتایج با نتایج ما همخوانی دارد. تراکم‌های مختلف اثر معنی‌داری بر بازده اسانس نداشت ولی عملکرد اسانس به دلیل تفاوت در اجزای عملکرد، در تراکم‌های مختلف متفاوت بود. Esfandyari و همکاران (۲۰۱۱) هم نتایج مشابهی را در مورد کشت آویشن در شرایط دیم گزارش کرده‌اند. تراکم بوته تا حدی که سبب محدودیت منابع از قبیل نور، رطوبت و مواد غذایی برای گیاه نشود، سبب افزایش عملکرد در واحد سطح می‌شود. کاربرد ورمی‌کمپوست موجب افزایش عملکرد خشک پیکر رویشی گیاه در مقایسه با تیمار شاهد شده است (Tahami et al., 2010). در گیاه مرزه تابستانی کاربرد کود گاوی منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد اسانس شده است (Gholami et al., 2015). کاربرد ورمی‌کمپوست به صورت جداگانه و توأم با سایر کودهای آلی و زیستی، سبب افزایش عملکرد محصول نسبت به تیمار شاهد شده است (Moradi et al., 2010). تیمارهای کود آلی تأثیر معنی‌داری بر عملکرد و صفات عملکردی بادرشبو داشته‌اند (Haj Seyd Hadi & Darzi, 2017). کاربرد کودهای آلی در بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی ریحان بنفش تأثیر مثبتی داشته است (Tehrani Sharif et al., 2015). نتایج تحقیقات اشاره شده، صحت نتایج ما را تأیید می‌کنند.

درصد اسانس و نوع ترکیب‌های شیمیایی اسانس تحت تأثیر تیمارهای کودی و تغذیه‌ای قرار گرفته است. بنابراین به نظر می‌رسد فراهمی بعضی عناصر ضروری کم مصرف در تیمارهای کود آلی سبب شیفت تولید برخی ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس شده باشد. ترکیب‌های آلفا-پینن، بتا-پینن، کامفن و پارا-سیمن که از نظر ساختار شیمیایی به هم نزدیک هستند و در گروه ترکیب‌های مونوترپنی قرار دارند در خاک معمولی مزرعه، دارای بیشترین مقدار هستند. ترکیب بتا-کاریوفیلین که یک سس‌کوئی‌ترین دو حلقوی است به تنهایی دارای روال یکتایی است و به مقدار بیشتری در خاک معمولی مزرعه وجود داشته است. ترکیب تیمول که از نظر شیمیایی به گروه ترکیب‌های مونوترپنی الکلی تعلق دارد و بعد از کارواکرول دومین عنصر اصلی و اساسی

- Darzi, M.T., Atarpoor, R. and Haj Seyed Hadi, M.R., 2016. Effects of different manure and vermicompost rates on yield and essential oil contents of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). Iranian Journal of Filed Crop Science, 46(4): 711-721.
- Dehghani Bidgoli, R., Abdollahpoor, Z. and Akhbari, M., 2018. The investigation of organic and chemical fertilizers effects on the yield and phenolic compounds extract of (*Rosa damascene* Mill.). New Cell and Molecular Biotechnology Journal, 8(29): 79-86.
- Gholami sharafkhanah, A., Jahan, M., Banaian aval, M., Kochaki, A. and Rezvani-Moghaddam, P., 2015. Effect of organic, biologic and chemical fertilizer on Agroecology and essential oil yield in *Saturja Hortensis* L. in mashahad conditions. Journal of Agroecology, 7(2): 179-189.
- Heidari, F., Zehtab Salmasi, S., Javanshir, A., Aliari, H. and Dadpoor, M.R., 2008. The effects of application microelements and plant density on yield and essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 24(1): 1-9.
- Kennedy, I.R., Choudhury, A.T.M.A., Kecskes, M.L., Roughley, R.J. and Hien, N.T., 2004. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? Soil Biology and Biochemistry, 36(8): 1229-1244.
- Khojapour, M.R., 2015. Principles and Fundamental of Crop Production. Isfahan Industrial University Publication, 658p.
- Khalesro, S. and Malekian, M., 2017. Effects of vermicompost and humic acid on morphological traits, yield, essential oil content and component in organic farming of Ajwan (*Trachyspermum ammi* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 32(6): 968-980.
- Makkizadeh-Tafti, M., Nasrollahzadeh, S., Zehtab-Salmasi., Chaichi, M. and Khavazi, K., 2012. The effect of organic, biologic and chemical fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Agricultural Knowledge and Sustainable Production (Agricultural Knowledge), 22(1): 1-12.
- Meshkatsadat, M.H. and Shabaninejad, Y. 2011. GC/MS analysis of volatile organic compounds of *Satureja bachtiarica* bung using US-HS-SPME and nano scale injection techniques. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 6(2): 359-363.
- Moradi, R., Rezvani, M.P., Nasiri, M.M. and Lakzian, A., 2010. The effect of application of organic and biological fertilizers on yield, yield components and essential oil of *Foeniculum vulgare* (Fennel). Iranian Journal of Agronomy Research, 7(2): 625-635.
- اجزای اسانس شده است (Asghari *et al.*, 2016). همچنین کاربرد کود شیمیایی سبب افزایش ترکیب‌های فلاونوئیدی و کود دامی سبب افزایش ترکیب‌های فنلی در گل محمدی شده است (Dehghani Bidgoli *et al.*, 2018). نتایج این تحقیقات با نتایج ما همخوانی دارد.
- با توجه به اینکه کیفیت اسانس مرزه به مقدار دو ترکیب مهم تیمول و کارواکرول وابسته است، بنابراین هرچه مقدار آنها بیشتر باشد کیفیت اسانس بالاتر است. از سویی این دو ترکیب روند متضادی دارند، از این رو معمولاً افزایش سنتز یکی از این آنها ممکن است با کاهش سنتز ترکیب دیگر همراه شود. بنابراین به نظر می‌رسد بالا بودن مجموع مقادیر این دو ترکیب در افزایش کیفیت اسانس مرزه مؤثر و یک هدف کلیدی می‌تواند باشد.

References

- Ahmadian, A., Ghanbari, A., Gholavi, M., Siahshar, B. and Arazmjo, E., 2011. The effect different irrigation regimes and animal manure on nutrient, essential oil and chemical composition on cumin (*Cuminum cyminum* L.). Journal of Crop and Weed Ecophysiology, 4(16): 83-94.
- Akbarinia, A. and Sefidkon, F. 2009. Identification of essential oil components of *Satureja sahendica* Bornm. in cultivated condition in Qazvin. Qazvin University Medical Sciences, 13: 60-63.
- Akrami nejad, O., Saffari, M. and Abdolshahi, R., 2016. Effect of organic and chemical fertilizers on yield and essential oil of two ecotypes of savory (*Satureja hortensis* L.) under normal and drought stress conditions. Iranian Journal of Field Crops Research, 13(4): 675-686.
- Asghari, M., Yousefirad, M. and Masumi, A., 2016. Effects of organic fertilizers of compost and vermicompost on qualitative and quantitative traits of *Lemon verbena*. Journal of Medicinal Plants, 15(58): 63-71.
- Haj Seyd Hadi, M.R. and Darzi, M.T., 2017. Effects of organic and bio-fertilizers on some quantitative and qualitative characters of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 32(6): 1060-1072.
- Esfandyari, S., Sharifi ashoorabadi, A., Lebaschy, M.H., Karimi, R., Safari, H., Shoshtari, M.R., Alivaisi, N. and Mirza, M., 2011. Investigation of adaptation and yield of some *Thymus* specious at drayland of Kermanshah province. Research Institute of Forests and Rangelands Publications, 121p.

- Tehrani Sharif, H., Sharifi Ashoorabadi, E., Tajali, A.A. and Makizadeh Tafti, M., 2015. Effect of plant nutrition systems on qualitative and quantitative yield of purple basil (*Ocimum basilicum* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 31(2): 283-306.
- Wallace, J., 2001. Organic Field Crops Handbook. Canadian Organic Growers, Ottawa, Ontario, 292p.
- Younesian, A., Rezvani Moghadam, P., Gholami, A., 2013. The Effect of Organic, Biological and Chemical Fertilizers Application on the Quantity and Quality of Essential Oil of *Foeniculum vulgare* (Fennel). Plant Production Technology, 13(2): 62-72.
- Zarezadeh, A., Sefidkon, F., Tabaei Aghdai, S.R., Mirhosseini, A., Arabzadeh, M.R. and Mirjalili, M.R., 2017. Investigation on quality and quantity of essential oil cultivated different *Satureja species* in Yazd province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 33(3): 509-534.
- Naghdi Badi, H., Yazdani, D., Mohammadi, S. and Nazari, F., 2004. Effect of spacing and harvest time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme (*Thymus vulgaris* L.). Industrial Crop and Products, 19: 231-236.
- Sefidkon, F. and Jamzad, Z., 2004. Essential oil composition of *Satureja spicigera* (C. Koch) Boiss. from Iran. Flavor and Fragrance Journal, 19: 571-573.
- Sefidkon, F. and Jamzad, Z., 2005. Chemical composition of the essential oils of the Iranian *Satureja* species (*S. mutica*, *S. macrantha* and *S. intermedia*). Food Chemistry, 91: 1-4.
- Saxena, M.C. and Singh, K.B., 1987. The Chickpea. CAB International., India, 409p.
- Sharma, A.K., 2002. A Handbook of Organic Farming. Publication Agro bios, India, 627p.
- Tahami, S.M.K., Rezvani Moghadam, P. and Jahan, M., 2010. Comparison the effect of organic and chemical fertilizers on yield and essential oil percentage of basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Agroecology, 2(1): 70-82.

Effects of different planting densities and feeding with organic fertilizers on percentage, yield, and essential oil chemical composition in *Satureja mutica* Fisch. & C. A. Mey. under rainfed conditions

B. Yousefi^{1*}, F. Sefidkon², M. Mirza² and M.H. Lebaschy²

1*- Corresponding author, PH.D. student of Plant Physiology, Research and Education Center of Agricultural and Natural Resources, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Kermanshah, Iran, E-mail: borzooyoosefi@gmail.com
2- Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: April 2021

Revised: May 2021

Accepted: May 2021

Abstract

Satureja mutica Fisch. & C. A. Mey. is one of the native savory species of Iran that has received much attention due to its high essential oil content and phenolic compound of thymol. Determination the most suitable and best planting density as well as soil fertility is very important in increasing the quantitative and qualitative yield of medicinal plants. In this study, to investigate the effects of plant density and feeding with organic fertilizers on quantitative and qualitative yield of essential oils in *Satureja mutica* Fisch. & C. A. Mey. under rainfed conditions, an experiment was conducted as split plots in a randomized complete block design with 3 replications in the Research and Education Center of Agriculture and Natural Resources of Kermanshah province in 3 crop years (2018-2020). The main factor included 3 fertilizer treatments and the sub-factor was 3 densities (2.66, 4, and 8 plants per square meter) in rows with a distance of 50 cm and with 3 planting distances (25, 50, and 75 cm). Plant aerial parts were harvested at full flowering stage and their essential oil (EO) was extracted by hydrodistillation method. EO yield was calculated according to the plant dry weight and its chemical compounds were identified using GC and GC/MS. The results showed that percentage and EO chemical composition did not show any difference between the years. There was a significant difference between the fertilizer treatments for the percentage and EO yield and thymol, carvacrol, and other EO chemical compounds at the level of 1%. There was a significant difference between the planting densities only for EO yield. Thymol had a positive relationship with the treatments of enriched straw and then rotten cow manure and the highest amount (53.2%) was observed in the enriched straw treatment. Carvacrol with the highest amount of 9.2%, showed a positive relationship with the rotten cow manure treatment.

Keywords: Essential oil, thymol, carvacrol, gas chromatography, organic fertilizer, *Satureja mutica* Fisch. & C. A. Mey.