Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research
Vol. 41, No. 3, Page 476-493 (2025)

DOI:10.22092/ijmapr.2023.359231.3202

Effects of different densities and soil fertility on some of the physiological traits and antioxidant enzyme activity of Savory (*Satureja spicigera*) under rainfed conditions

Niloufar Rezaei[1], Fatemeh Sefidkon[2*] and Hassanali Naghdi Badi[3]

1- Department of Horticultural Science and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2*- Corresponding author, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran, E-mail: sefidkon@rifr-ac.ir
3- Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Medicinal Plants Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

Received: July 2022 Revised: December 2022 Accepted: January 2023

Abstract

Background and Objective: The cultivation of medicinal plants, including savory (Satureja), is increasing worldwide. Savory, containing thymol and carvacrol in its essential oil, holds significant importance. This study aims to investigate the effects of planting density and soil fertility on the physiological traits and antioxidant enzyme activities of savory under rainfed conditions. Considering the importance of these factors in enhancing plant resistance to stress, this research was conducted to determine the optimal planting density and soil fertility for boosting antioxidant activities and promoting the sustainable development of savory.

Methodology: This study was conducted as a field experiment at the Hamand Absard Research Station in Damavand during the 2017–2018 and 2018–2019 growing seasons. The experiment was arranged in a split-plot design within a randomized complete block design (RCBD) with two factors. The main factor consisted of three fertilizer levels: (1) control (no fertilizer), (2) decomposed cattle manure (30 tons per hectare), and (3) straw enriched with ammonium sulfate (10 tons per hectare). The sub-factor included three planting densities: 2.67, 4, and 8 plants per square meter. Planting was performed using standard savory seeds. Land preparation involved plowing, disking, and leveling. Fertilizers were applied according to the treatments before planting. Irrigation was limited to rainfed conditions only. Leaf samples were collected at the full flowering stage. The measured physiological traits included relative leaf water content, total chlorophyll, proline content, electrolyte leakage, ion leakage, malondialdehyde content, and antioxidant enzyme activities (catalase, peroxidase, and superoxide dismutase). Samples were analyzed in the laboratory after harvest to evaluate the effects of treatments on the studied parameters. Data was analyzed using SAS software, and mean comparisons were performed using Duncan's multiple range test at a 5% significance level.

Results: This study demonstrated that planting density and organic fertilizer treatments

Copyright: © 2025 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

significantly influenced the physiological traits and antioxidant defense responses of Satureja spicigera under rainfed conditions. The highest relative water content (87.67%) and the lowest electrolyte leakage (47.19%) were recorded in the treatment with cow manure and a low planting density of 2.67 plants per square meter, indicating improved water status and membrane stability. In contrast, increasing planting density reduced chlorophyll content and relative water content, while levels of proline, electrolyte leakage (ELI), and malondialdehyde (MDA) increased, reflecting greater stress intensity under high-density conditions. The application of cow manure and ammonium sulfate-enriched straw improved physiological performance and significantly reduced oxidative stress markers. These treatments promoted better osmotic regulation and membrane protection, contributing to greater stress tolerance. Interestingly, the highest activities of antioxidant enzymes, catalase, peroxidase, and superoxide dismutase were observed in the unfertilized control under high-density planting. This suggests that the plant naturally boosts its enzymatic antioxidant defenses under more stressful conditions, particularly when nutrients are limited. In conclusion, the results highlight that integrating organic fertilization with optimal planting density can enhance drought resilience by maintaining physiological stability and reducing oxidative damage. These practices not only support the sustainable cultivation of Satureja spicigera in water-limited environments but also improve the plant's overall functional and medicinal quality.

Conclusion: The results of this study show that savory (Satureja spicigera) has a good ability to grow and develop under rainfed conditions and demonstrates significant capacity to enhance its antioxidant activity. The combined use of organic fertilizers, especially cow manure, along with an appropriate planting density, is practical in improving physiological traits, increasing resistance to environmental stresses, and strengthening the plant's enzymatic defense system. Implementing these findings can be valuable in enhancing productivity, ecological sustainability, and food security in areas with limited water resources.

Keywords: superoxide dismutase, proline, chlorophyll, cow manure.

تأثیر حاصلخیزی خاک و تراکم بوته بر برخی صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مرزه (*Satureja spicigera*) در شرایط دیم

نیلوفر رضایی[۱]، فاطمه سفیدکن[۲*] و حسنعلی نقدی‌بادی[۳]

۱- دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استاد، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، پست‌الکترونیک: sefidkon@rifr-ac.ir

۳- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

تاریخ دریافت: تیر ۱۴۰۱ تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۴۰۱

چکیده

سابقه و هدف: تولید گیاهان دارویی، ازجمله مرزه، در جهان رو به افزایش است. مرزه با ترکیبات تیمول و کارواکرول در اسانس خود، اهمیت ویژه‌ای دارد. هدف این مطالعه، بررسی اثر تراکم کاشت و حاصلخیزی خاک بر صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه مرزه در شرایط دیم است. با توجه به اهمیت این عوامل در بهبود مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها، این تحقیق به منظور تعیین بهترین تراکم کاشت و حاصلخیزی خاک بر افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و توسعه پایدار مرزه انجام شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به صورت آزمایشی مزرعه‌ای در ایستگاه تحقیقات همند آبسرد دماوند طی سال‌های زراعی ۹۷-۱۳۹۶ و ۹۸-۱۳۹۷ انجام شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به صورت کرت‌های خرد شده با دو فاکتور اجرا گردید. فاکتور اصلی شامل سه سطح کودی بود: ۱) شاهد (بدون کود)، ۲) کود گاوی پوسیده (۳۰ تن در هکتار) و ۳) کاه غنی‌شده با سولفات آمونیوم (۱۰ تن در هکتار). فاکتور فرعی نیز شامل سه سطح تراکم کاشت (۲/۶۷، ۴ و ۸ بوته در مترمربع) بود. عملیات کاشت با استفاده از بذرهای استاندارد مرزه انجام شد. آماده‌سازی زمین شامل شخم، دیسک و تسطیح بود. کوددهی براساس تیمارها قبل از کاشت انجام شد. آبیاری تنها به صورت دیم (متکی به بارندگی) بود. نمونه‌برداری از برگ‌ها در مرحله گلدهی کامل انجام شد. صفات فیزیولوژیکی مورد اندازه‌گیری شامل محتوای نسبی آب برگ، میزان کلروفیل، پرولین، نشت الکترولیت، نشت یونی، مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) بود. نمونه‌ها پس از برداشت، در آزمایشگاه مورد سنجش قرار گرفتند تا اثر عوامل بر پارامترهای موردنظر ارزیابی شود. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج: نتایج این پژوهش نشان داد که تراکم کاشت و تیمارهای کودی آلی تأثیر معنی‌داری بر صفات فیزیولوژیکی و فعالیت‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه مرزه (*Satureja spicigera*) در شرایط دیم دارند. بیشترین محتوای نسبی آب برگ (۸۷/۶۷٪) و کمترین نشت الکترولیت (۴۷/۱۹٪) در تیمار کود گاوی با تراکم پایین (۲/۶۷ بوته در مترمربع) مشاهده شد که بیانگر بهبود وضعیت آبی گیاه و پایداری غشای سلولی است. در مقابل، با افزایش تراکم کاشت، میزان کلروفیل و محتوای نسبی آب کاهش یافت، اما میزان پرولین، نشت الکترولیت (ELI) و مالون‌دی‌آلدئید (MDA) افزایش پیدا کرد که نشانه افزایش شدت تنش در شرایط تراکم بالاست. کاربرد کود گاوی و کاه غنی‌شده با سولفات آمونیوم موجب بهبود عملکرد فیزیولوژیکی گیاه و کاهش شاخص‌های تنش اکسیداتیو شد. این تیمارها با تقویت تنظیم اسمزی و حفاظت از غشای سلولی، به افزایش تحمل گیاه در برابر خشکی کمک کردند. جالب توجه اینکه بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در تیمار شاهد بدون کود با تراکم بالا مشاهده شد که بیانگر واکنش دفاعی شدید گیاه در شرایط تنش و کمبود مواد غذایی است. در مجموع، نتایج نشان می‌دهد که ترکیب بهینه کود آلی و تراکم مناسب کاشت می‌تواند با حفظ پایداری فیزیولوژیکی و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو، به افزایش مقاومت گیاه در شرایط کم‌آبی

کمک کرده و کیفیت عملکرد گیاه دارویی مرزه را بهبود ببخشد.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که گیاه مرزه از توانایی مطلوبی برای رشد و توسعه در شرایط دیم برخوردار است و ظرفیت قابل توجهی در ارتقای فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهد. کاربرد ترکیبی کودهای دامی (به‌ویژه کود گاوی) همراه با تراکم مناسب کاشت، به‌عنوان یک راهکار مؤثر، سبب بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی، افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی و تقویت سیستم دفاع آنزیمی گیاه می‌شود. پیاده‌سازی این یافته‌ها می‌تواند گامی مؤثر در جهت افزایش بهره‌وری، پایداری اکولوژیکی و امنیت غذایی در مناطق با محدودیت منابع آبی باشد.

واژه‌های کلیدی: سوپرکسید دیسموتاز، پرولین، کلروفیل، کود گاوی.

مقدمه

گیاه مرزه با نام علمی (*S. spicigera*) از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) بوده، این خانواده دارای ۱۶۰ جنس و بیش از ۳۰۰۰ گونه می‌باشد (Michel *et al*., 2020). این گیاه، پراکنش نسبتاً گسترده‌ای در دنیا دارد، ولی بیشینه انتشار آن در نواحی مدیترانه است، در ایران ۴۷ جنس و حدود ۳۷۰ گونه از گیاهان این خانواده وجود دارد. گیاه مرزه، مصارف گسترده‌ای در صنایع دارویی، غذایی و بهداشتی دارد و در نواحی مختلف مدیترانه و برخی نواحی آسیا و شمال ایران می‌روید. اسانس گیاه مرزه سرشار از ترکیبات فنلی مانند کارواکرول و تیمول است که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند (Yousefi *et al*., 2021). از برگ مرزه در فراورده‌های غذایی و دارویی و از اسانس آن در نوشیدنی‌ها، صنایع دارویی، بهداشتی و آرایشی استفاده متنوعی می‌شود. اسانس آن خاصیت ضد باکتری، ضد اسپاسم و التهاب، ضد قارچ و آنتی‌اکسیدانی دارد و به عنوان نگهدارنده مواد غذایی در درمان عفونت‌های دهانی و دهان‌شویه استفاده می‌شود (Sefidkon & Emami 2021 ,Bistgani).

ایران، رویشگاه اصلی بسیاری از گونه‌های دارویی با ارزش می‌باشد، این گونه‌ها در شرایط طبیعی و با بارندگی مختصر، مواد مؤثره نسبتاً بالایی تولید می‌کنند. سطوح وسیع دیم‌زارهای کم‌بازده از نظر تولیدات ناهمگون با شرایط طبیعی، لزوم انتخاب و کشت گیاهان مناسب و سازگار با منطقه را آشکار می‌سازد. برای این منظور، انتخاب و کشت گیاهان دارویی چندساله سازگار با شرایط دیم هر منطقه، به عنوان کشت جایگزین گیاهان یکساله غلات، می‌تواند بهترین گزینه باشد. زراعت دیم گیاهان دارویی در سطوح وسیع کشت، می‌تواند تحولی در حفظ و احیای اکوسیستم‌های زراعی دیم کشور ایجاد کند (Lebaschi *et al*., 2018). با توجه به محدودیت منابع آب در کشور، لازم است به کشت گیاهان دارویی، به‌ویژه گونه‌ها و جمعیت‌های متحمل به خشکی توجه بیشتری شود (Kheiri & Toori, 2016).

مدیریت مصرف کود، یک عامل مهم در موفقیت کشت گیاهان بوده و در این بین شناسایی کودهای زیستی سازگار با طبیعت و مناسب برای رشد و نمو گیاهان، حائز اهمیت می‌باشد، کودهای دامی یکی از راهکارهای مؤثر در حفظ مطلوب کیفیت خاک محسوب می‌شوند (Markewich *et al*., 2010). مواد آلی با داشتن خصوصیاتی مانند قدرت جذب و نگهداری بالای مواد آلی و عناصر معدنی خاک و آزادسازی تدریجی آنها (به‌ویژه نیتروژن) و نیز ظرفیت بالای نگهداری‌آب، استفاده از آنها برای بهبود رشد و کیفیت گیاهان زراعی و باغی متداول می‌باشد (Jami *et al*., 2019).

انتخاب تراکم مطلوب بوته در شرایط دیم باتوجه به اقلیم و عوامل محدود کننده، نقش اساسی در حصول عملکرد مطلوب و تولید متابولیت‌های ثانویه دارد. در زراعت دیم گیاهان دارویی، انتخاب تراکم مطلوب بوته به منظور استفاده بهینه گیاه از منابع خاک و مواد غذایی، به شناخت میزان و نحوه بارش سالیانه مرتبط می‌باشد (Lebaschi *et al*., 2018). تراکم مطلوب بوته را می‌توان با تغییر فاصله

ردیف‌های کاشت و فاصله بوته در روی ردیف کاشت بدست آورد، تا حداکثر عملکرد ممکن با کیفیت مطلوب بدست آید (Luo *et al*., 2018). به گزارش Lebaschi و همکاران (۲۰۱۸)، تیمارهای مختلف کود آلی و تراکم بالا در شرایط دیم باعث افزایش ظرفیت حفظ رطوبت و تأمین عناصر غذایی خاک و استقرار بهتر گیاه مرزه در سال دوم در شرایط دیم شده است.

مهندسی متابولیت‌های گیاهی برای تولید ترکیباتی مفید با مقادیر بالاتر، یکی از راهکارهای غلبه بر مشکلات مربوط به برداشت بی‌رویه گیاهان دارویی است که باعث از بین رفتن تنوع زیستی و کاهش تنوع در کیفیت آنها شده است (Gomez-Galera *et al*., 2007). میزان متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر اندام‌های مختلف گیاه، مراحل مختلف رشدی، پایه ژنتیکی (کموتایپ)، فصل برداشت، حاصل‌خیزی و pH خاک، شرایط خشک کردن، روش استخراج و شرایط آب و هوایی مانند انواع تنش‌ها و ... می‌باشد (Aziz *et al*., 2008). تنش خشکی ازجمله مهمترین عوامل محیطی تأثیرگذار بر روی میزان اسانس گیاهان دارویی است. در شرایط تنش، تغییراتی در عملکرد و ماده مؤثره گیاهان دارویی در مواجه با خشکی ایجاد می‌گردد که باید مورد ارزیابی قرار گیرد (Rebey *et al*., 2012). مدیریت دیم‌کاری، ازجمله کاربرد کود به‌صورت محدود، تقویت شرایط بیولوژیک خاک و استفاده از ارقام مقاوم به خشکی در کاهش اثر تنش آبی مؤثر است. استفاده از منابع مختلف کودی همانند کودهای آلی و بقایای گیاهی در شرایط تنش خشکی، می‌تواند منجر به ایجاد بهبود تغییراتی در عملکرد گیاهان در مواجه با خشکی شود (Saki *et al*., 2019). برخی مطالعات نشان داده‌اند، تنش خشکی باعث کاهش عملکرد و افزایش اسانس گیاهان می‌شود (Farahani *et al*., 2009). تنش خشکی در گیاهان باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود. برآورد شده است که تقریباً یک درصد از اکسیژن مصرفی در گیاه، صرف تولید ROS در قسمت‌های مختلف سلول می‌گردد (Sharma *et al*., 2012). سیستم‌های آنتی‌اکسیدان در سلول‌های گیاهی، اغلب در مواجه گیاه با تنش‌های محیطی، افزایش یافته و از این طریق گیاهان قادرند از خسارت ROSهای ایجاد شده بکاهند (Rasool *et al*., 2013). ازجمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، می‌توان به سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز اشاره کرد که نقش اساسی در متابولیزه کردن ROS و جلوگیری از خسارت‌های ناشی از تنش اکسیداتیو به عهده دارند (Zhanassova *et al*., 2021). مطالعات قبلی نشان داده است که میزان اسانس گیاهان دارویی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی‌آنها با توجه به شرایط محیطی متغیر است. Borna و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که تنش خشکی، باعث کاهش عملکرد اسانس در گیاه نعناع فلفلی می‌شود، همچنین منجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در دو اندام برگ و ریشه گیاه پونه معطر شد و سطح فعالیت این آنزیم در اندام ریشه، بیشتر از برگ بود (Hassanpour *et al*., 2012). البته افزایش فعالیت مالون‌دی‌آلدئید و سوپراکسیددیسموتاز تحت تنش خشکی، در دو گیاه مرزه و ریحان نیز مشاهده شده است (Inotai *et al*., 2012). در پژوهشی که توسط Hassanpour و Niknam (۲۰۱۴)، بر روی پونه (*M. pulegium*) انجام شد، مشخص گردید که پروتئین محلول برگ و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تنش شدید خشکی کاهش یافت.

با توجه به اهمیت دارویی و غذایی گیاه مرزه، این پژوهش در شرایط دیم، با هدف ارزیابی و شناخت خصوصیات فیزیولوژیکی مؤثر در بهبود سازگاری و تحمل به خشکی مرزه، در تراکم‌های مختلف و شرایط حاصلخیزی خاک انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این بررسی در ایستگاه تحقیقات مرتع همند آبسرد (دماوند) واقع در تهران با عرض جغرافیایی۵۲ درجه و ۲۰ دقیقه طول شرقی و ۳۵ درجه و ۴۲ دقیقه عرض شمالی با ارتفاع ۱۹۱۰ متر از سطح دریا به روش دیم انجام شد. میانگین دمای سالیانه حدود ۱۰/۴۸+ درجه سانتی‌گراد و میانگین بارندگی سالانه ۳۲۹ میلی‌متر است، دارای خاک

نسبتاً عمیق با بافتی متوسط تا نیمه‌سنگین می‌باشد (Shakoi *et al.*, 2005). آب و هوای منطقه، نیمه استپی سرد بوده، به‌طوری‌که بارندگی از اواسط آبان تا اوایل آذرماه شروع شده و تا اواسط خردادماه ادامه دارد، دوره یخبندان حدود ۵ ماه و دوره خشکی ۴ ماه می‌باشد. حداقل درجه حرارت در ماه‌های دی و بهمن ۱۵- درجه سانتی‌گراد و حداکثر دما در ماه‌های تیر و مرداد ۳۵+ درجه سانتی‌گراد و متوسط تبخیر سالیانه حدود ۱۲۲۶ میلی‌متر و میانگین ساعات آفتابی در سال روزانه ۸ ساعت می‌باشد. در این آزمایش میزان بارندگی از مهر ۹۶ تا مهر ۹۷ برابر ۳۴۸ میلی‌متر و میزان بارندگی بهار ۹۷ تا بهار ۹۸ برابر ۴۸۷ میلی‌متر می‌باشد، میزان بارندگی بهار ۹۸ به عنوان بارندگی مؤثر در طول دوره رشد مرزه، ۱۶۵ میلی‌متر بود (مستخرج از ایستگاه هواشناسی مستقر در محل آزمایش). آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در دو سال زراعی ۱۳۹۶-۹۷ و ۹۸- ۱۳۹۷ انجام شد. تعداد واحدهای آزمایشی برابر ۲۷ کرت بود (۳ * ۳ * ۳ = ۲۷). مساحت هر کرت فرعی ۴*۳ = ۱۲ مترمربع، هر کرت اصلی برابر ۳۶ مترمربع و مساحت خالص هر تکرار ۳ * ۳۶ = ۱۰۸ مترمربع بود. تیمارهای عامل اصلی عبارتند از: الف- کود گاوی پوسیده ۳۰ تن در هکتار، ب- کاه ۱۰ تن در هکتار (فراوری شده با کود سولفات آمونیوم)، ج- شاهد بدون کود. برای اعمال تیمار کود دامی برای هر کرت فرعی، ۳۶ کیلوگرم کود گاوی پوسیده به‌طور یکنواخت با خاک مخلوط و استفاده شد. همچنین به منظور اجرای تیمار کاه گندم غنی شده، مقدار ۱۲ کیلوگرم کاه گندم خرد شده با میزان ۲۴۰ گرم سولفات آمونیوم محلول در ۲۰ لیتر آب، در سیلو غنی و برای هر کرت فرعی استفاده و با خاک مخلوط گردید. تیمارهای عامل فرعی شامل سه سطح تراکم ۲/۶۷، ۴ و ۸ بوته در مترمربع، با فاصله بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر برای همه تیمارها و فواصل ۷۵، ۵۰ و ۲۵ سانتی‌متر روی ردیف‌ها می‌باشد. تعداد بوته‌ها در هر کرت فرعی، برای تراکم کم، متوسط و زیاد به ترتیب ۳۲، ۴۸ و ۹۶ عدد می‌باشد. به منظور حذف اثرهای حاشیه‌ای، دو خط کناری و ۰/۵ متر از دو سر کرت، به عنوان حاشیه در نظر گرفته شدند و در نمونه‌گیری‌ها، مورد استفاده قرار نگرفتند. نتایج آزمون خاک محل آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. مشخصات کود دامی مصرف شده نیز در جدول ۲ ارائه شده است. بذر مرزه مورد بررسی، از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، بخش تحقیقات گیاهان دارویی تهیه شد. بذرهای مورد استفاده، در آذرماه داخل گلخانه کشت و اسفندماه به مزرعه منتقل گردیدند. به منظور استقرار نشاءها، آبیاری (زمان انتقال به زمین و یک هفته بعد) انجام شد. مبارزه با علف‌های هرز به صورت دستی و در دو نوبت (اواسط اردیبهشت و اواخر خرداد) انجام شد و پس از ۵۰ درصد گل‌دهی گیاه، نسبت به نمونه‌برداری برای بررسی صفات فیزیولوژیک اقدام گردید.

جدول ۱-خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد مطالعه در آزمایش

Table 1. Physicochemical properties of the experimental soil

Soil depth	EC ($dS.m^{-1}$)	pH	N (%)	OC (%)	P ($mg.kg^{-1}$)	K ($mg.kg^{-1}$)	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)
0-20 cm	0.8	8.3	0.97	1.1	34	834	33	46	21
20-40 cm	0.4	8.4	0.98	1.1	38	654	37	42	21

جدول ۲-خصوصیات شیمیائی کود گاوی مورد استفاده در آزمایش

Table 2. Chemical properties of the experimental cow manure

EC ($dS.m^{-1}$)	pH	N (%)	OC (%)	P ($mg.kg^{-1}$)	K ($mg.kg^{-1}$)	Ca (%)	S (%)	Ash (%)
16.4	8.2	2.1	39	1299.5	2583.9	1.2	1.78	14

محتوای نسبی آب با استفاده از روش Sanchez (۱۹۹۸) و از طریق رابطه ۱ به دست آمد. اندازه‌گیری میزان نشت یونی با استفاده از رابطه ۲ طبق روش Nayyar (۲۰۰۳) با استفاده دستگاه EC متر محاسبه شد.

$$RWC = \frac{Wf - Wd}{Wt - Wd} \times 100 \quad (۱)$$

Wd: وزن خشک برگ؛ Wf: وزن تر برگ؛ Wt: وزن بافت آماس‌یافته گیاه

$$I = \frac{Ec_1}{Ec_2} \times 100 \quad (۲)$$

EC_1: میزان هدایت الکترونی نمونه قبل از انتقال به حمام آب جوش؛ EC_2: میزان هدایت الکترونی نمونه بعد از قرار گرفتن در حمام آب جوش به مدت ۱۰ دقیقه

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ از روش Arnon (۱۹۸۶) استفاده شد، به‌طوری‌که از هر کرت آزمایشی در زمان شروع گل‌دهی از برگ‌های تازه به‌طور تصادفی نمونه‌برداری شد. سپس ۵۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه برگ تر در ۵ میلی‌لیتر استن (۸۰٪) هموژن گردید و آنگاه عصاره حاصل صاف و حجم آن با اضافه کردن استن به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از استخراج عصاره آن، به روش ذکرشده میزان جذب نور توسط عصاره با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV 180)، در طول موج ۶۶۳ (کلروفیل a) و ۶۴۵ (کلروفیل b) تعیین گردید. غلظت کلروفیل a و b و مجموع آنها به ترتیب براساس روابط ۳، ۴ و ۵ (در این روابط V حجم نهایی نمونه استخراج شده و W وزن تر نمونه است) به دست آمد.

(۳) (W×۱۰۰۰)/V×{(جذب در ۶۴۵ نانومتر) ۲/۶۹- (جذب در ۶۶۳ نانومتر) ۱۲/۷}= میلی‌گرم کلروفیل a در گرم وزن تر

(۴) (W×۱۰۰۰)/(V×{(جذب در ۶۶۳ نانومتر) ۴/۶۹- (جذب در ۶۴۵ نانومتر) ۲۲/۹}= میلی‌گرم کلروفیل b در گرم وزن تر

(۵) (W×۱۰۰۰)/V×{(جذب در ۵۱۰ نانومتر) ۸/۰۲- (جذب در ۶۴۵ نانومتر)۲۰/۲}= میلی‌گرم کلروفیل کل در گرم وزن تر

سنجش میزان پرولین در دمای ۱°C ± ۲۵ با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری محاسبه گردید. میزان مالون‌دی‌آلدئید (شاخص پراکسیداسیون لیپیدها) به روش Heath و Packer (۱۹۶۸) در طول موج ۵۳۲ نانومتر براساس رابطه ۶ محاسبه‌شد.

$$C = D/E \quad (۶)$$

D: چگالی؛ E: ضریب تمایز مولار (مول/سانتی‌متر ۱۰۵×۱/۵۶)

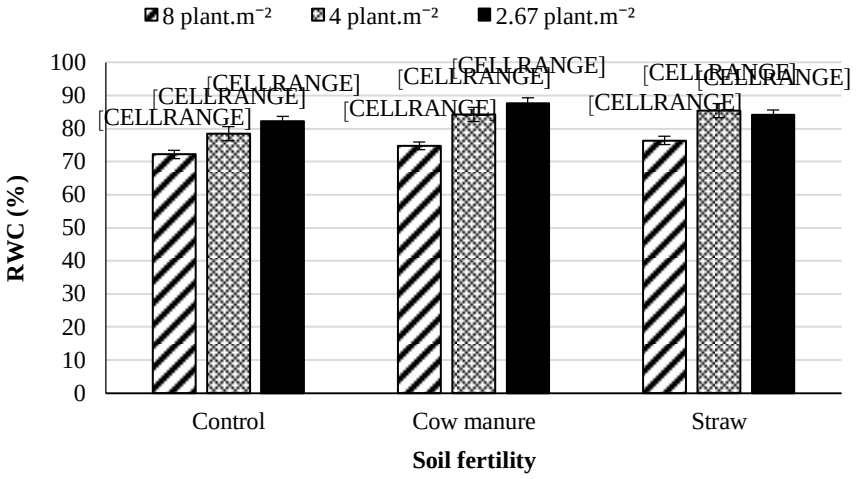
میزان کربوهیدرات محلول با استفاده از اتانول ۹۵٪ با روش اسیدسولفوریک (Irigoyen *et al*., 1992) در طول موج ۴۸۳ نانومتر قرائت و میزان کربوهیدرات استخراجی براساس میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر بوسیله منحنی استاندارد گلوکز محاسبه شد. فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت و فعالیت آنزیم به مدت ۵ دقیقه در فواصل ۲۰ ثانیه‌ای ثبت شد. اندازه‌گیری فعالیت سوپراکسیددیسموتاز طبق روش Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) در طول موج ۵۶۰ نانومتر کالیبره شد. برای سنجش هر نمونه، ۱۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی استفاده شد. این واکنش براساس میزان احیای نوری نیتروبلو تترازولیوم و توانایی آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در ممانعت از این واکنش بررسی شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Hemeda و Kelin (۱۹۹۰) در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت سه دقیقه قرائت گردید. میزان تتراگایاکول تشکیل شده با استفاده از ضریب خاموشی (ε=26.6 mM-1cm-1) محاسبه شد و در نهایت فعالیت آنزیم به صورت میکرومول تتراگایاکول تشکیل شده در دقیقه در میلی‌گرم وزن تر بیان گردید.

پس از آزمون همگنی واریانس‌ها (بارتلت) و نرمال بودن داده‌ها، ابتدا تجزیه واریانس داده‌ها به صورت جداگانه انجام شد و با توجه به همگنی واریانس‌ها در دو آزمایش جداگانه برای دو سال، تجزیه مرکب انجام گردید. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 و برای ترسیم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

محتوای نسبی آب (RWC)

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد اثر تراکم کاشت بر درصد محتوای نسبی آب در سطح ۱٪ و اثر حاصلخیزی خاک و اثر متقابل حاصلخیزی خاک×تراکم کاشت در سطح ۵٪ معنی‌دار شد. میزان محتوای نسبی آب در کلیه سطوح حاصلخیزی خاک با کاهش تراکم کاشت، افزایش پیدا کرد. بیشترین میزان محتوای نسبی آب، در تیمار کود گاوی با میزان ۳۰ تن در هکتار و تراکم ۲/۶۷ بوته در مترمربع (۸۷/۶۷ درصد) و کمترین میزان آن در تیمار شاهد (بدون کود) و تراکم ۸ بوته در مترمربع (۷۲/۱۸ درصد) به دست‌آمد (شکل ۱).



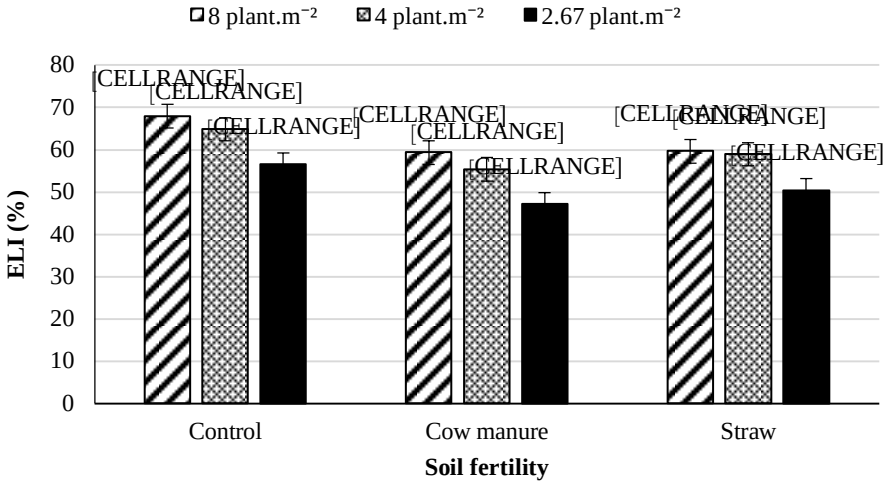
شکل ۱- مقایسه میانگین اثرمتقابل حاصلخیزی خاک × تراکم کاشت بر محتوای آب‌نسبی مرزه (*Satureja spicigera*)

Figure 1. Means comparison of soil fertility × plant density interaction on *Satureja spicigera* relative water content

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

نشت یونی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر متقابل حاصلخیزی خاک×تراکم کاشت در سطح احتمال ۵٪، بر میزان نشت الکترولیت معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که با افزایش تراکم، میزان نشت افزایش پیدا کرده و سطوح حاصلخیزی خاک باعث بهبود شرایط گیاه و کاهش میزان نشت در گیاه شد. کمترین میزان نشت یونی، در تیمار کود گاوی با میزان ۳۰ تن در هکتار و تراکم ۲/۶۷ بوته در مترمربع (۴۷/۱۹ درصد) و بیشترین میزان آن در تیمار شاهد (بدون کود) و تراکم کاشت ۸ بوته در مترمربع (۶۷/۹۴ درصد) به دست آمد (شکل ۲).



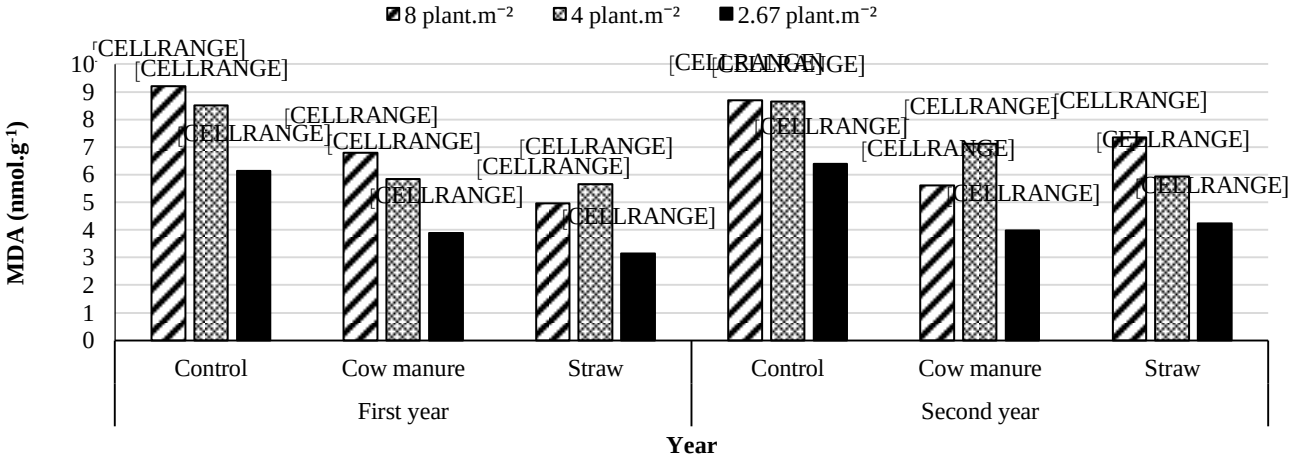
شکل ۲- مقایسه میانگین اثرمتقابل حاصلخیزی خاک × تراکم کاشت بر شاخص نشت الکترولیت مرزه (***Satureja spicigera***)

Figure 2. Means comparison of soil fertility × plant density interaction on *Satureja spicigera* electrolyte leakage

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان از اثر معنی‌دار حاصلخیزی خاک، تراکم کاشت و سال×حاصلخیزی خاک، در سطح احتمال ۱٪ و اثر سال و سال×حاصلخیزی خاک×تراکم کاشت، در سطح احتمال ۵٪ بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید داشت. بیشترین فعالیت آنزیم مالون‌دی‌آلدئید، در کلیه سطوح حاصلخیزی خاک، در تراکم ۸ و ۴ بوته در مترمربع، در هر دو سال به دست آمد. در کل می‌توان چنین گفت که تیمار کود دامی و کاه، محتوای مالون‌دی‌آلدئید را کاهش داده ولی افزایش تراکم، باعث افزایش محتوای آن شده است (شکل ۳).



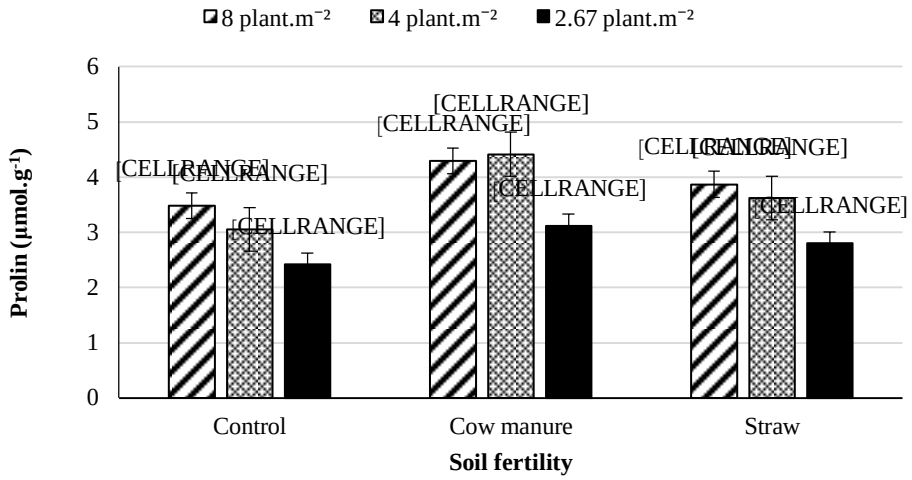
شکل ۳- اثر متقابل حاصلخیزی خاک در تراکم کاشت بر محتوای مالون دی آلدئید گیاه مرزه در دو سال

Figure 3. The interactive effect of soil fertility and plant density on malondialdehyde content of *Satureja spicigera* in two years

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

پرولین

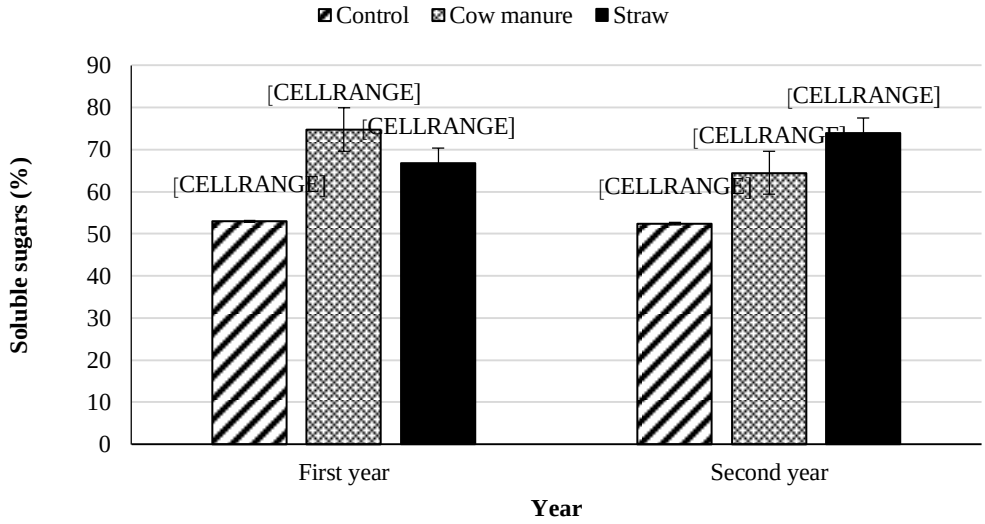
نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) بیانگر تأثیر معنی‌دار تیمار حاصلخیزی خاک و تراکم کاشت، در سطح احتمال ۱٪ و اثر متقابل حاصلخیزی خاک×تراکم کاشت، در سطح احتمال ۵٪، بر میزان پرولین بود. نتایج نشان داد که افزایش تراکم، باعث افزایش میزان پرولین شد و بیشترین میزان پرولین در دو تیمار کود گاوی و تراکم ۴ و ۸ بوته در مترمربع (۴/۴۱ و ۴/۲۹ میکرومول بر گرم وزن تر) و کمترین میزان آن، در تیمار شاهد (بدون کود) و در تراکم کاشت ۲/۶۷ بوته در مترمربع (۲/۴۱ میکرومول بر گرم وزن تر) به‌دست آمد (شکل ۴).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثرمتقابل حاصلخیزی خاک × تراکم کاشت بر میزان پرولین مرزه (***Satureja spicigera***)

Figure 4. Means comparison of soil fertility× plant density interaction on *Satureja spicigera* prolin

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).



شکل ۵- مقایسه میانگین اثرمتقابل حاصلخیزی خاک × سال بر میزان قندهای محلول مرزه (***Satureja spicigera***)

Figure 5. Means comparison of soil fertility× year interaction on *Satureja spicigera* soluble sugars

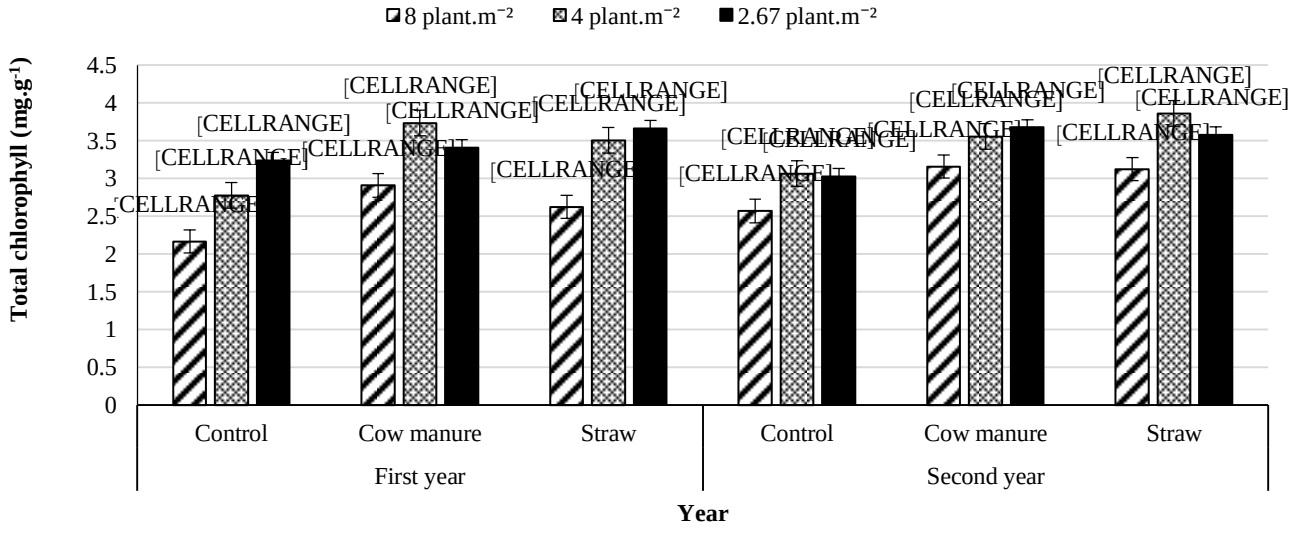
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

قندهای محلول

قندهای محلول، تحت تأثیر معنی‌دار اثر اصلی حاصلخیزی خاک، در سطح احتمال ۱٪ و اثر متقابل سال×حاصلخیزی خاک در سطح احتمال ۵٪ قرار گرفت (جدول ۳). میزان قندهای محلول، با بهبود حاصلخیزی خاک، با استفاده از کود دامی و کاه غنی شده افزایش پیدا کرد، به‌طوری‌که بیشترین میزان قندهای محلول، در تیمارهای کود دامی و کاه، در هر دو سال زراعی نسبت به شاهد (بدون کود) به‌دست آمد (شکل ۵).

کلروفیل

نتایج تجزیه واریانس، نشان‌دهنده اثر معنی‌دار حاصلخیزی خاک و تراکم کاشت، در سطح احتمال ۱٪ بر کلروفیل a، b و کل و معنی‌داری اثر متقابل، حاصلخیزی خاک×تراکم کاشت بر کلروفیل b و اثر متقابل سال×حاصلخیزی خاک×تراکم کاشت بر میزان کلروفیل a و کل گیاه مرزه در سطح احتمال ۵٪ بود (جدول ۳). بیشترین میزان کلروفیل a، در تیمار کاه و در تراکم ۲/۶۷ بوته در مترمربع، در سال دوم به‌دست آمد. بیشترین میزان کلروفیل b، در سطوح حاصلخیزی خاک با کود دامی و کاه و در تراکم ۴ بوته در مترمربع مشاهده شد. بیشترین میزان کلروفیل کل (۳/۸۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار کاه و در تراکم ۴ بوته در مترمربع و در سال دوم و کمترین میزان آن (۲/۱۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر) نیز در تیمار شاهد (بدون کود) و در تراکم ۸ بوته در مترمربع در سال اول مشاهده شد (شکل ۶).



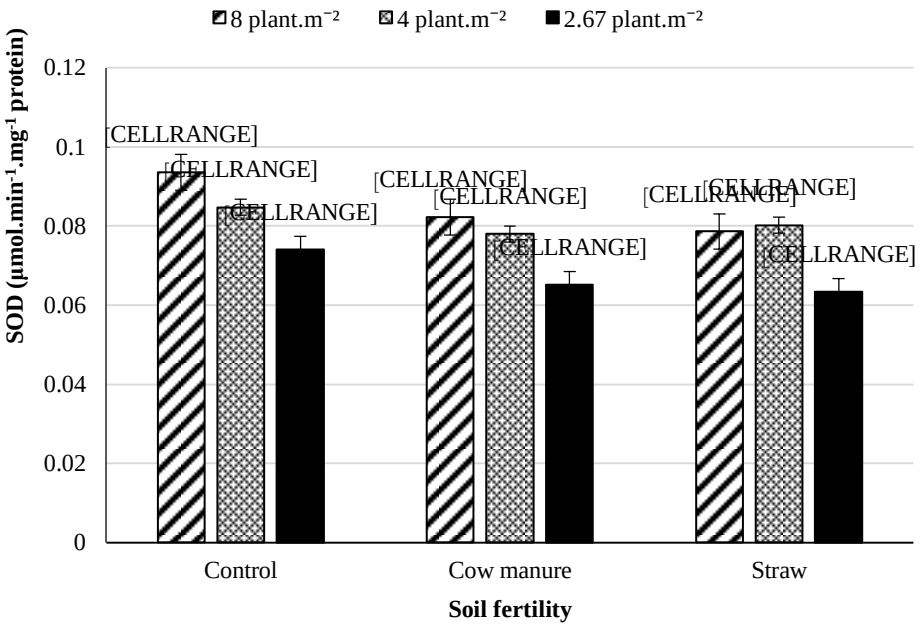
شکل ۶- مقایسه میانگین اثرمتقابل حاصلخیزی خاک × تراکم کاشت بر میزان کلروفیل کل مرزه (***Satureja spicigera***) در دو سال

Figure 6. Means comparison of soil fertility ×plant density interaction on *Satureja spicigera* total chlorophyll in two years

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

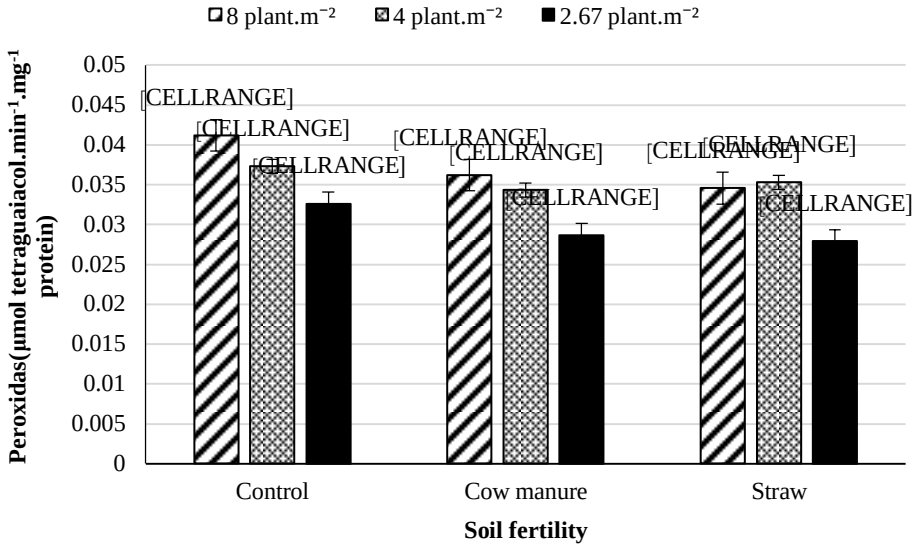
فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز) تحت تأثیر معنی‌دار، اثر حاصلخیزی خاک و تراکم کاشت در سطح احتمال ۱٪ و اثر متقابل حاصلخیزی خاک×تراکم کاشت، در سطح احتمال ۵٪ قرار گرفتند (جدول ۳). با افزایش تراکم، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، در کلیه سطوح حاصلخیزی خاک افزایش پیدا کرده است. کمترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۰/۰۶۳ و ۰/۰۶۵ میکرومول بر دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) به ترتیب در دو تیمار کود گاوی به میزان ۳۰ تن در هکتار و کاه به میزان ۱۰ تن در هکتار و تراکم ۲/۶۷ بوته در مترمربع و بیشترین میزان آن (۰/۰۹۳ میکرومول بر دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار شاهد (بدون کود) و در تراکم کاشت ۸ بوته در مترمربع مشاهده شد (شکل ۷). کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در کلیه سطوح حاصلخیزی، در تراکم ۲/۶۷ بوته در مترمربع و بیشترین میزان آن (۰/۰۴۱ میکرومول تتراگایاکول بر دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار شاهد (بدون کود) و در تراکم کاشت ۸ بوته در مترمربع به‌دست آمد (شکل ۸). بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۶/۷۵ و ۶/۴۵ میکرومول‌پراکسید هیدروژن بر دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) به ترتیب در تیمار شاهد (بدون کود) و در تراکم ۴ و ۸ بوته در مترمربع مشاهده شد (شکل ۹).



شکل ۷- مقایسه میانگین اثرمتقابل حاصلخیزی خاک × تراکم کاشت بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مرزه (***Satureja spicigera***)

Figure 7. Means comparison of soil fertility× plant density interaction on *Satureja spicigera* superoxide dismutase enzyme activity

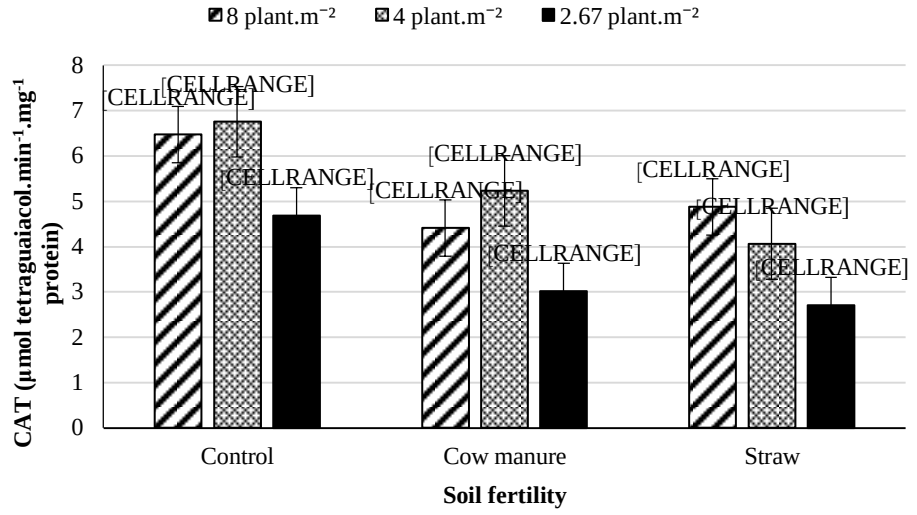
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).



شکل ۸- مقایسه میانگین اثرمتقابل حاصلخیزی خاک × تراکم کاشت بر فعالیت آنزیم پراکسیداز مرزه (***Satureja spicigera***)

Figure 8. Means comparison of soil fertility × plant density interaction on *Satureja spicigera* peroxidase enzyme activity

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).



شکل ۹- مقایسه میانگین اثرمتقابل حاصلخیزی خاک × تراکم کاشت بر فعالیت آنزیم کاتالاز مرزه (***Satureja spicigera***)

Figure 9. Means comparison of soil fertility × plant density interaction on *Satureja spicigera* catalase enzyme activity

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر حاصلخیزی خاک و تراکم کاشت بر برخی صفات مرزه (***Satureja spicigera***) در دو سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ و ۹۸-۱۳۹۷

Table 3. ANOVA of soil fertility and plant density effects on some *Satureja spicigera* traits in two 2017-2018 and 2018-2019 crop years

S.O.V.	d.f.	RWC	ELI	Prolin	Soluble sugars	MDA	Chlorophyll *a*	Chlorophyll *b*	Total chlorophyll	SOD	Peroxidase	CAT
Year (Y)	1	1.540 ^{ns}	29.644 ^{ns}	0.219 ^{ns}	19.460 ^{ns}	2.435*	0.229 ^{ns}	0.028 ^{ns}	0.416 ^{ns}	0.000002 ^{ns}	0.00004 ^{ns}	0.913 ^{ns}
Y*Repetition	4	3.058	13.253	0.078	62.576	0.449	0.086	0.011	0.144	0.000211	0.0000409	0.313
Soil fertility (SF)	2	122.59*	404.23**	4.159**	66.328*	39.57**	1.272**	0.107**	2.115**	0.00055**	0.00011**	22.64**
Y×SF	2	26.476 ^{ns}	4.805 ^{ns}	0.204 ^{ns}	2110.1**	2.335**	0.011 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.025 ^{ns}	0.000016 ^{ns}	0.00003 ^{ns}	1.741**
Experimental error (a)	8	30.845	27.548	0.122	19.913	0.151	0.091	0.007	0.140	0.000282	0.0000547	0.070
Plant density (PD)	2	528.09**	587.73**	6.634**	5.981 ^{ns}	38.10**	1.516**	0.165**	2.670**	0.00148**	0.00028**	21.82**
Y×PD	2	12.792 ^{ns}	4.519 ^{ns}	0.071 ^{ns}	4.118 ^{ns}	0.062 ^{ns}	0.123*	0.006 ^{ns}	0.177*	0.000036 ^{ns}	0.000007 ^{ns}	0.164 ^{ns}
SF×PD	4	77.755*	65.090*	0.342*	7.815 ^{ns}	0.333	0.025 ^{ns}	0.013*	0.068 ^{ns}	0.000342*	0.000058*	0.856*
Y ×SF ×PD	4	1.736 ^{ns}	22.667 ^{ns}	0.116 ^{ns}	4.557 ^{ns}	1.265*	0.113*	0.002 ^{ns}	0.19*	0.000006 ^{ns}	0.0000011 ^{ns}	0.068 ^{ns}
Experimental error (b)	24	16.664	19.377	0.080	29.833	0.373	0.047	0.004	0.068	0.000091	0.0000175	0.209
C.V. (%)	-	5.06	7.61	8.16	8.51	9.80	8.93	8.22	8.15	12.24	12.23	9.75

$^{n.s.}$, *, and **: non-significant, significant at 5, and 1% probability levels, respectively.

RWC= Relative water content, ELI= electrolyte leakage, MDA= malondialdehyde, SOD= Superoxide dismutase, CAT= Catalase

بحث

در شرایط تراکم بالا، رقابت بین گیاهان بر سر دسترسی به منابع موجود، مانند رطوبت و مواد غذایی افزایش می‌یابد و این منابع در تراکم‌های بالاتر، بین تعداد بوته‌های بیشتری تقسیم می‌شود. همچنین در این شرایط، فضای قابل دسترسی کمتری برای هر بوته وجود دارد، به همین علت تنش بیشتری به گیاه وارد می‌شود (Hassanpour *et al*., 2012). اثر مثبت کود دامی در عملکرد گیاهی و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، در بسیاری از مطالعات به تأیید رسیده است. در گیاه مرزه، کودهای آلی از طریق بهبود جذب آب و فراهمی مطلوب عناصر غذایی، موجب کاهش اثرهای سوء تنش خشکی در گیاه شده است. در مطالعات Mirjalili و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شده است که تیمارهای کود آلی در گیاه دارویی مرزه بختیاری، موجب کاهش اثر سوء تنش خشکی در شرایط دیم شده است، به‌طوری‌که گیاه مرزه بختیاری به عنوان گونه مناسب دیم‌کاری برای بهبود الگوی کشت، در زراعت‌های دیم کم بازده معرفی شده است، همچنین در مطالعه مشابهی نشان داده شده است که در شرایط دیم و تراکم بالا، تیمارهای کود آلی در گیاه دارویی مرزه موتیکا، با بهبود ظرفیت نگهداری و جذب آب و کاهش اثر تنش خشکی، موجب افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در سال دوم شده است (Saki *et al.*, 2019).

کاهش محتوای نسبی آب و افزایش نشت الکترولیت، در شرایط تراکم بالا، به علت افزایش رقابت گیاهان و بیشتر شدن تنش وارد شده به گیاهان، به علت تراکم بالاتر و رقابت آنها بر سر آب می‌باشد. بیشترین میزان محتوای نسبی آب و کمترین میزان نشت الکترولیت، در تیمار کود گاوی با میزان ۳۰ تن در هکتار و تراکم ۲/۶۷ بوته در مترمربع مشاهده شد. افزایش محتوای نسبی آب و کاهش میزان نشت الکترولیت، در شرایط تنش خشکی، به عنوان یک پاسخ دفاعی گیاه به تنش خشکی مطرح است. Asghari pour و Rafie (۲۰۱۱) نشان دادند که کاربرد کودهای آلی، با افزایش محتوای نسبی آب، سبب افزایش وزن خشک گیاه ریحان شده است. در گیاه گشنیز نیز کود دامی باعث افزایش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ و کاهش نشت الکترولیت شد (Kadhim *et al*., 2021). افزایش پرولین در شرایط تنش خشکی، به عنوان یک پاسخ دفاعی گیاه به تنش خشکی مطرح است. تجمع زیاد پرولین در سلول‌های تحت تنش، سبب محافظت از سلول در شرایط تنش و جلوگیری از ایجاد سمیت در سلول می‌شود (Tawfik, 2008). پرولین همچنین در حفظ ساختار غشاء، ایجاد سازگاری اسمزی و حفظ ساختار آنزیم‌ها در سلول، ایفای نقش می‌کند (Ashraf & Harris, 2004). به دلیل خاصیت هیدروفیلی پرولین، این مولکول ممکن است جایگزین مولکول‌های آب، در اطراف نوکلئیک اسیدها، پروتئین‌ها و مولکول‌های غشایی گردد و از این طریق اثر یون‌های تخریب‌کننده برای ترکیبات را کاهش داده و بدین وسیله محافظت از این ترکیبات و ساختار غشاء را انجام دهد (Dien *et al*, 2019). افزایش پرولین در شرایط تراکم بالا، به علت افزایش رقابت گیاهان و بیشتر شدن تنش وارد شده به گیاهان، به علت تراکم بالاتر و رقابت آنها بر سر آب می‌باشد. Atik (۲۰۱۳) گزارش کرد که از مزایای کاربرد کودهای آلی در خاک، افزایش نیتروژن قابل دسترس برای گیاه است. در نتایجی مشابه نیز گزارش شد که استفاده از کود آلی منجر به افزایش ماده آلی و نیتروژن کل در خاک می‌گردد (Bender Ozenc, 2008). همچنین در تحقیق دیگری استفاده از کود آلی در بادرنجبویه، در شرایط تنش خشکی موجب افزایش محتوای نسبی آب و پرولین شده است (Kazeminasab *et al*, 2016). ترکیباتی مانند پرولین، ساختار نیتروژنی دارند، به همین علت با افزایش جذب نیتروژن توسط گیاه، این ترکیب در مسیر بیوسنتزی پرولین قرار گرفته و منجر به افزایش آن در گیاه می‌گردد (Dien *et al*., 2019). براساس نتایج حاصل از این تحقیق، میزان کلروفیل با افزایش تراکم کاهش پیدا کرد و کود دامی و کاه، باعث افزایش میزان کلروفیل شدند. در مطالعات مختلف بر روی کود آلی گزارش کردند که بالا بودن میزان عناصر غذایی مانند ازت، فسفر و پتاسیم از مهمترین ویژگی‌های آن است (Khormizy *et al*., 2013). از سوی دیگر، کاهش مقدار کلروفیل a و b در

شرایط تنش خشکی، می‌تواند به دلیل تغییر متابولیسم نیتروژن، در رابطه با ساخت موادی مانند پرولین باشد که در تنظیم اسمزی به‌کار می‌رود (De La Rosa-Ibarra & Maiti, 1995). افزایش میزان پرولین، باعث می‌شود تا گلوتامات که پیش‌ماده ساخت کلروفیل و پرولین است، کمتر در مسیر ساخت کلروفیل شرکت کند. به نظر می‌رسد کود دامی و کاه با نگهداری و در دسترس قرار دادن آب و عناصری مانند پتاسیم و نیتروژن در تنظیم فشار اسمزی دخالت دارند. بنابراین گلوتامات بیشتری در بیوسنتز کلروفیل‌ها شرکت می‌کند و در افزایش و ثبات کلروفیل نقش دارد.

افزایش فعالیت آنزیم‌های APX، SOD و CAT تحت تنش نشان‌دهنده این است که این آنزیم‌ها، نقش کلیدی در حذف ROSها دارند. در حقیقت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، به عنوان اولین خط دفاعی سیستم آنتی‌اکسیدانی در مقابل ROS فعال می‌شود و باعث تبدیل رادیکال O_2^- به H_2O_2 می‌شود، در ادامه H_2O_2 ایجاد شده به مولکول آب و اکسیژن تجزیه شده که این عمل توسط آنزیم کاتالاز انجام می‌شود (Mehrabad Pour-Benab *et al*., 2019). افزایش فعالیت APX باعث تجزیه بیشتر H_2O_2 و تحمل بیشتر گیاه در برابر صدمات اکسایشی القا شده، به وسیله تنش می‌شود. به‌طورکلی آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز نقش جاروب کردن هیدروژن پراکسید را برعهده دارند، اما تمایل آسکوربات پراکسیداز برای هیدروژن پراکسید نسبت به پراکسیداز بالاتر بوده و می‌تواند نقش ویژه‌ای را در تنظیم میزان ROS در شرایط تنش داشته باشد (Cham *et al*., 2022). اعتقاد بر این است که کودهای معدنی ممکن است سطوح آنتی‌اکسیدانی گیاه را کاهش دهند. در حالی که ثابت شده است که کودهای آلی سبب کاهش محتوای آنتی‌اکسیدانی گیاهان می‌شوند (Cham *et al*., 2022). کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با کود آلی، ممکن است به دلیل در دسترس بودن بهتر آب و سایر عناصر، ازجمله ریزمغذی‌ها باشد. کاهش سطح آنزیم پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز، ممکن است به عنوان یک تلاش از گیاه، برای غلبه بر شرایط نامطلوب رشد، به دلیل استفاده از کودهای آلی و کاهش سطح تنش باشد. Verma و همکاران (۲۰۱۰) اثر کود آلی در مریم‌گلی را مورد مطالعه قرار داده و کاهش در محتوای آنتی‌اکسیدانی، ازجمله مقدار آنزیم پراکسیداز در تیمار کود آلی را مشاهده کردند. به نظر می‌رسد در شرایط تنش کمبود آب، افزایش تراکم کاشت به دلیل رقابت برای جذب رطوبت خاک و جذب عناصر غذایی، با افزایش تنش‌اکسیداتیو، تجمع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه را افزایش دهد. بنابراین مقدار کمترآنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، بیانگر مناسب بودن شرایط و کاهش تنش اکسیداتیو، به دلیل انتخاب تراکم کمتر، در سطوح بالاتر تنش کمبود آب می‌باشد. البته افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ، تحت تنش رطوبتی در تراکم بالا، در تحقیقات دیگران گزارش شده است (Cham *et al*., 2022). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مرحله رویشی گیاه پونه معطر، در شرایط تنش شدید خشکی، تا ۹۶ درصد در برگ‌ها افزایش نشان داد (Hassanpour *et al*., 2012). از سوی دیگر، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه پونه معطر تحت تنش گزارش شده است (Merati *et al*., 2014).

در شرایط دیم انتخاب گیاهی که بتواند در شرایط کمبود بارندگی و تابستان طولانی و گرم با افزایش ظرفیت منفی آب در خاک و با ایجاد ظرفیت منفی‌تر در گیاه، آب مورد نیاز برای رشد را تأمین کند، یک اصل مهم و تعیین‌کننده می‌باشد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در شرایط دیم، با افزایش تراکم کاشت، رقابت برای جذب رطوبت خاک و جذب عناصر غذایی و تجمع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه افزایش یافت. تجمع و افزایش آنزیم‌ها، برای خنثی‌کردن و پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده ناشی از تنش کم‌آبی، به عنوان یک سازوکار مقاومت در گیاهان شناخته شده است، به‌نحوی‌که هر چقدر این میزان کمتر باشد، مقاومت گیاه به تنش بیشتر است. کاهش سطح آنزیم پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز با کود آلی، به دلیل در دسترس بودن بهتر آب و عناصر ریزمغذی می‌باشد، به‌طوری‌که کود، گیاه را در شرایط مناسب‌تری قرارداده و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کمتری تولید شده‌است. همچنین حاصلخیزی خاک با کودهای آلی و

تراکم مطلوب بوته باعث بهبود خصوصیات بیوشیمیایی گیاه در شرایط دیم شد. بنابراین به نظر می‌رسد، گیاه مرزه سنبله‌ای با توجه به صفات فیزیولوژیک ذکرشده به عنوان یک گیاه دارویی مقاوم و سازگار با شرایط دیم، در مناطق نیمه استپی دماوند، می‌تواند کشت شود.

References

- Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology,24:1-13. http://dx.doi.org/10.1104/pp.24.1.1
- Asgharipour, M.R. and Rafiei, M., 2011. Effect of different organic amendments and drought on the growth and yield of basil in the greenhouse. Advances in Environmental Biology, 5(6): 1233-1239. https://scispace.com/journals/advances-in-environmental-biology-l7ecprnu/2011
- Ashraf, M.P.J.C. and Harris, P.J.C., 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science, 166: 3-16. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.10.024
- Atik, A., 2013. Effects of planting density and treatment with vermicompost on the morphological characteristics of oriental beech (*Fagus orientalis* Lipsky.). Compost Science and Utilization, 21: 87-98. https://doi.org/10.1080/1065657X.2013.836066
- Aziz, E.E., Al-Amier, H. and Craker, L.E., 2008. Influence of salt stress on growth and essential oil production in peppermint, pennyroyal, and apple mint. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants, 14(1-2):77-87. http://dx.doi.org/10.1080/10496470802341375
- Baher, Z.F., Mirza, M., Ghorbanli, M. and Bagher Rezaii, M., 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. Flavour and Fragrance Journal, 17: 275-277. https://doi.org/10.1002/ffj.1097
- Bates, L.S., Walderen, R.D. and Taere, L.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207. http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060
- Bender-Ozenç, D., 2008. Growth and transpiration of tomato seedlings grown in hazelnut husk compost under water deficit stress. Compost Science and Utilization, 16(2): 125-131. http://dx.doi.org/10.1080/1065657X.2008.10702367
- Borna, F., Nazeri, V., Ghaziani, F. and Shokrpour, M., 2021. Morphological and physiological response of some Iranian ecotypes of *Leonurus cardiaca* L. to drought stress. Journal of Horticulture and Postharvest Research, 4: 289-302. https://doi.org/10.22077/jhpr.2020.2918.1108
- Cham, R., Abtahi, S.A., Jafarinia, M. and Yasrebi, J., 2022. Physiological responses of *Dracocephalum kotschyi* Boiss. to drought stress and bio-fertilizers. South African Journal of Botany, 148(10): 180-189. http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2022.04.008
- De La Rosa-Ibarra, M. and Maiti, R.K., 1995. Biochemical mechanism in glossy sorghum lines for resistance to salinity stress. Journal of Plant Physiology, 146:515-519. https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)82017-1
- Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T.A., 1981. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental botany,32(1):93-101. http://dx.doi.org/10.1093/jxb/32.1.93
- Dien, D.C., Mochizuki, T. and Yamakawa, T., 2019. Effect of various drought stresses and subsequent recovery on proline, total soluble sugar and starch metabolisms in rice (*Oryza sativa* L.) varieties. Plant Production Science, 22: 530-545. https://doi.org/10.1080/1343943X.2019.1647787
- Du, Q., Jiang, M., Sun, S., Wang, L., Liu, S., Jiang, C. and Liu, C., 2022. The complete chloroplast genome sequence of *Clerodendranthus spicatus*, a medicinal plant for preventing and treating kidney diseases from Lamiaceae family. Molecular Biology Reports, 49: 3073-3083. https://doi.org/10.1007/s11033-022-07135-4
- Farahani, H.A., Valadabadi, S.A., Daneshian, J., Shiranirad, A.H. and Khalvati, M.A., 2009. Medicinal and aromatic plants farming under drought conditions. Journal of Horticulture and Forestry, 1(6): 086-092. https://doi.org/10.5897/JHF.9000075
- Gómez-Galera, S., Pelacho, A.M., Gené, A., Capell, T. and Christou, P., 2007. The genetic manipulation of medicinal and aromatic plants. Plant Cell Reports, 26(10):1689-1715. http://dx.doi.org/10.1007/s00299-007-0384-x
- Hassan, E.A., Mohamed, N.H., Hamad, E.H. and Khater Rania, M.R., 2020. Response of black cumin (*Nigella sativa* L.) plants to the addition of natural fertilizers and the inoculation by bacteria mix and

seaweed liquid extract. Archives of Agriculture Sciences Journal, 3: 1-15. http://dx.doi.org/10.21608/aasj.2020.103899
- Hassanpour, H. and Niknam, V., 2014. Investigation of drought stress effect on growth and antioxidant enzymes activity in *Mentha pulegium* L. Journal of Plant Process and Function, 3(8): 25-34. (In Persian) https://jispp.iut.ac.ir/article-1-159-en.pdf
- Hassanpour, H., Khavari-Nejad, R.A., Niknam, V., Najafi, F. and Razavi, K., 2012. Effects of penconazole and water deficit stress on physiological and antioxidative responses in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). Acta Physiologiae Plantarum, 34(4): 1537-1549. http://dx.doi.org/10.1007/s11738-012-0952-8
- Heath, R.L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125(1): 189-198. https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1
- Hemeda, H. and Klein, B., 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. Journal of Food Science, 55(1): 184-185. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06048.x
- Inotai, K., Radácsi, P., Czövek, P., Sárosi, S., Ladányi, M. and Németh, É., 2012. Lipid peroxidation and changes in the activity of superoxide dismutase caused by water deficit in basil (*Ocium basilicum* L.) and savory (*Satureja hortensis* L.). The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 87(5): 499-503. https://doi.org/10.1080/14620316.2012.11512901
- Irrigoyen, J.H., Emerich, D.W. and Sanchez, M., 1992. Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plant. Physiologia Plantarum, 84(1): 55-66. http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x
- Jami, M.G., Ghalavand, A., Modarres-Sanavy, S., Makhtassi-Bidgoli, A., Baghbani Arani, A. and Namdari, A., 2019. The response of quantitative and qualitative traits of sunflower seed to various nitrogen sources (organic and chemical fertilizers) and zeolite under different regimes of irrigation. Environmental Stresses in Crop Sciences, 12(1): 141-152. https://doi.org/10.22077/escs.2018.1297.1265
- Kazeminasab, A., Yarnia, M., Lebaschy, M.H., Mirshekari, B. and Rejali, F., 2016. The effect of vermicompost and PGPR on physiological traits of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) plant under drought stress. Journal of Medicinal plants and By-products, 5(2): 135-144. https://doi.org/10.22092/jmpb.2016.109389
- Kadhim, A.J., 2021. Effect of biofertilizers and animal manure on morphophysiological characteristics and amount of coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil under drought stress conditions. 2nd Virtual International Scintific Agrticultural Conference, IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 735(1): 012047. http://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/735/1/012047
- Khormizi, A.B., Hajati, M. and Aghamohammadi, M.R., 2013. An analytical method to parameter estimation by dynamic performance evaluation. International Journal of Energy and Power, 2(1): 1-7. https://www.airitilibrary.com/Article/Detail/P20150618003-201302-201509100009-201509100009-1-7
- Kheiri, A. and Toori, A., 2016. The most important medicinal plants for cultivation under dry farming condition. First National Conference on Medicinal Plants, Traditional Medicine and Organic Agriculture. Hamedan, 11 August: 8p. https://en.civilica.com/doc/330045/
- Lebaschi, M.H., Sharifi Ashoorabadi, E., Makizadeh Tafti, M., Asadi-Sanam, S. and Karimzadeh Asl, Kh., 2018. Effects of plant density on quantitative and qualitative yield of three *Thymus* species of in dry farming conditions of three provinces of Iran. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 33(6): 897-914. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2018.109432.1959
- Luo, Z., Liu, H., Li, W., Zhao, Q., Dai, J., Tian, L. and Dong, H., 2018. Effects of reduced nitrogen rate on cotton yield and nitrogen use efficiency as mediated by application mode or plant density. Field Crops Research, 218: 150-157. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.01.003.
- Markewich, H., Pell, A., Mbugua, D., Cherney, D., Van Es, H., Lehmann, J. and Robertson, J., 2010. Effects of storage methods on chemical composition of manure and manure decomposition in soil in small-scale Kenyan systems. Agriculture, Ecosystems and Environment, 139(1-2): 134-141. http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2010.07.010
- Mehrabad Pour-Benab, S., Fabriki-Ourang, S. and Mehrabi, A.A., 2019. Expression of dehydrin and antioxidant genes and enzymatic antioxidant defense under drought stress in wild relatives of wheat. Biotechnology and Biotechnological Equipment, 33: 1063-1073. http://dx.doi.org/10.1080/13102818.2019.1638300
- Mendoza, N. and Silva, E.M.E., 2018. Introduction to phytochemicals: Secondary metabolites from plants with active principles for pharmacological

importance: 25-47. In: Asao, T. and Asaduzzaman, M., (Eds.). Phytochemicals - Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention. IntechOpen, London,218p. http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.78226

- Merati, M.J., Hassanpour, H., Niknam, V. and Mirmasoumi, M., 2014. Exogenous application of penconazole regulates plant growth and antioxidative responses in salt-stressed *Mentha pulegium* L. Journal of Plant Interactions, 9: 791-801. https://doi.org/10.1080/17429145.2014.948084
- Michel, J., Abd Rani, N.Z. and Husain, K., 2020. A review on the potential use of medicinal plants from Asteraceae and Lamiaceae plant family in cardiovascular diseases. Frontiers in Pharmacology, 11:852-865. https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00852
- Mirjalili, A., Lebaschy, M.H., Ardakani, M.R., Hydari Sharifabad, H. and Mirza, M., 2020. Evaluation of morphological traits and yield of *Satureja bachtiarica* affected by density and organic fertilizers under dryland farming conditions. Iranian Journal of Field Crops Research, 18(3): 357-371. https://doi.org/10.22067/gsc.v18i3.86519
- Nayyar, H., 2003. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water-stressed wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. Environmental and Experimental Botany, 50(3): 253-264. http://dx.doi.org/10.1016/S0098-8472(03)00038-8
- Rasool, S., Ahmad, A., Siddiqi, T.O. and Ahmad, P., 2013. Changes in growth, lipid peroxidation and some key antioxidant enzymes in chickpea genotypes under salt stress. Acta Physiologiae Plantarum, 35(4): 1039-1050. http://dx.doi.org/10.1007/s11738-012-1142-4
- Rebey, I.B., Jabri-Karoui, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F. and Marzouk, B., 2012. Effect of drought on the biochemical composition and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. Industrial Crops and Products, 36: 238-245.
- Saki, A., Mozafari, H., Karimzadeh Asl, K., Sani, B. and Mirza, M., 2019. Plant yield, antioxidant capacity and essential oil quality of *Satureja mutica* supplied with cattle manure and wheat straw in different plant densities. Journal of Communications in Soil Science and Plant Analysis, 50(1): 1670835. http://dx.doi.org/10.1080/00103624.2019.1670835
- Sánchez, F.J., Manzanares, M., de Andres, E.F., Tenorio, J.L. and Ayerbe, L., 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. Field Crops Research, 59(3): 225-235. https://doi.org/10.1016%2FS0378-4290%2898%2900125-7
- Sefidkon, F. and Emami Bistgani, Z., 2021. Integrative review on ethnobotany, essential oil, phytochemical, agronomy, molecular and pharmacological properties of *Satureja* species. Journal of Essential Oil Research, 33: 114-132. http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2021.1885512
- Shakoi, M., Abasi, H.R. and Aliha, M., 2005. Soil formation and development in Homand range research station. Iranian Journal of Range and Desert Research, 12(4): 376-394. In persian https://ijrdr.areeo.ac.ir/article_119558_415e40dde748929f024c346601793b1a.pdf?lang=en
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessarakli, M., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany, 3: 11-24. http://dx.doi.org/10.1155/2012/217037
- Tawfik, K.M., 2008. Evaluating the use of rhizobacterin on cowpea plants grown under salt stress. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 4: 26-33. http://www.aensiweb.net/AENSIWEB/rjabs/rjabs/2008/26-33.pdf
- Verma, R.K., Verma, R.S., Amit, C., Anand, S. and Alok, K., 2010. Effect of nitrogen and phosphorus levels on plant growth and yield attributes of clary sage (*Salvia sclarea* L.). International Journal of Agronomy and Plant Production, 1: 129-137. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20123384688
- Yousefi, B., Sefidkon, F., Khamisabadi, H. and Jalilian, N., 2021. Chemical compounds of essential oil in *Satureja mutica* and *Satureja spicigera* under dry farming: extraction, identification and comparison. Journal of Medicinal Herbs, 12: 75-81. https://doi.org/10.30495/medherb.2021.689109
- Zhanassova, K., Kurmanbayeva, A., Gadilgereyeva, B., Yermukhambetova, R., Iksat, N., Amanbayeva, U. and Masalimov, Z., 2021. ROS status and antioxidant enzyme activities in response to combined temperature and drought stresses in barley. Acta Physiologiae Plantarum, 43(8): 114. http://dx.doi.org/10.1007/s11738-021-03281-7