

تأثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم بر رنگیزه‌های نورساختی، میزان و اجزای اسانس مرزۀ تابستانه (*Satureja hortensis* L. cv Saturn) رقم اصلاح‌شده ساترن

مصباح بابالار^{۱*}، سعیده محتمشی^۲، لیلا تبریزی^۳ و وحید روشن^۴

۱ و ۳. استاد و استادیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۲. دانشجوی سابق دکتری علوم باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

و عضو هیئت‌علمی گروه گیاهان دارویی و معطر دانشگاه جهرم

۴. استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس، بخش منابع طبیعی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۹/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱/۳۱)

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم بر رنگیزه‌های نورساختی (فتوسنتزی)، میزان و اجزای اسانس گیاه مرزۀ تابستانه (*Satureja hortensis* L.)، آزمایشی بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تیمار و سه تکرار در شرایط آب و هوایی کرج به اجرا درآمد. تیمارها شامل پنج سطح مختلف سولفات آمونیوم شامل: شاهد (۰)، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم بود که به‌صورت سرک به کرت‌ها اضافه شد. در مرحله گلدهی کامل، بوته‌های مربوط به هر تیمار برداشت شدند و صفات مورد بررسی شامل میزان سبزینه یا کلروفیل (a و b، کل)، میزان کاروتنوئید، درصد، عملکرد و اجزای اسانس اندازه‌گیری شد. نتایج، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار تیمارها بر برخی از صفات اندازه‌گیری شده بود. از ۲۶ ترکیب شناسایی‌شده در تیمارهای مختلف، تنها دوازده ترکیب تحت تأثیر سطوح کودی قرار گرفتند. همچنین درصد و عملکرد اسانس نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارها تغییر پیدا کردند. با افزایش سطوح مختلف سولفات آمونیوم درصد و عملکرد اسانس افزایش معنی‌داری پیدا کرد به‌طوری‌که بالاترین درصد و عملکرد اسانس (به ترتیب ۳/۵۵ درصد و ۴۹/۹۷ میلی‌لیتر) مربوط به تیمار ۱۰۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم و کمترین میزان (به ترتیب ۲/۶۸ درصد و ۱۶/۳۲ میلی‌لیتر) مربوط به تیمار شاهد بود. کارواکرول به‌عنوان ترکیب اصلی این گیاه تحت تأثیر تیمار کودی قرار گرفت. بالاترین میزان کارواکرول (۵۲/۰۶ درصد) و کمترین میزان (۴۶/۵۷ درصد) به ترتیب در تیمارهای ۴۰ و ۶۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم اندازه‌گیری شد. کمترین میزان محتوای سبزینه کل (۱۸/۶۹ میلی‌گرم بر گرم نمونه تر) مربوط به تیمار ۱۰۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم بود و دیگر تیمارها در یک گروه قرار داشتند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، تغذیه، کارواکرول، گاما ترپینن، مرزۀ.

The effect of different levels of Ammonium Sulfate on photosynthesis pigments, essential oil content, yield and component of improved summer Savory (*Satureja hortensis* L. cv. Saturn)

Mesbah Babalar^{1*}, Saeideh Mohtashami², Leila Tabrizi³ and Vahid Rowshan⁴

1, 3. Professor and Assistant Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2. Former Ph.D. Student, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran and Faculty Member of Medicinal and Aromatic Plants Department, Jahrom University, Iran

4. Assistant Professor, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Iran

(Received: Dec. 5, 2014 - Accepted: Apr. 20, 2015)

ABSTRACT

In order to study the effect of different levels of Ammonium Sulfate on photosynthesis pigments, essential oil content and components in summer Savory, an experiment was conducted based on randomized complete block design (RCBD) with five treatments and three replications on Karaj climate conditions. The treatments included five levels of ammonium sulfate consist of: control (without fertilizer), 40, 60, 80 and 100 kg/h of ammonium sulfate that were applied as split application (three weeks after sowing). At full flowering stage, the plant samples of all treatments were harvested and measured for the desired attributes such as Chlorophyll a, b and total, carotenoids, essential oil percentage, yield and components (consist of 26 compounds by GC-MS apparatus). The results showed significant differences among treatments on some traits measured. Among 26 identified components in different treatments, just 12 combinations were affected by ammonium sulfate fertilizer. Also, essential oil percentage and yield were significantly affected by treatments. With increasing ammonium sulfate concentration, essential oil percentage and yield significantly increased, so that the highest essential oil percentage and yield (3.55% and 49.97 ml, respectively) related to 100 kg ammonium sulfate and the lowest content (2.68% and 16.32 ml respectively) belonged to control. Carvacrol, as the main component in this plant was affected by treatments. The maximum content (52.06%) in 40 kg ammonium sulfate and the minimum content (46.57%) in 60 kg ammonium sulfate were detected. The lowest total chlorophyll content (18.69 mg/g FW) belonged to 100 kg ammonium sulfate and other treatments were placed in a same group.

Keywords: carvacrol, essential oil, fertility, gamma terpinene, *Satureja hortensis*.

مقدمه

مرزۀ یک‌ساله یا مرزۀ تابستانه (*Satureja hortensis* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان متعلق به خانواده نعناعیان^۱ است که بیش از سی گونه آن در شرق مدیترانه می‌رویند (Hadian et al., 2008). از این جنس در ایران تاکنون پانزده گونه شناسایی شده است که از میان آن‌ها ۹ گونه انحصاری ایران هستند و دیگر گونه‌ها افزون بر ایران به‌ویژه در تالش، ترکمنستان، ترکیه، قفقاز، ماورای قفقاز و عراق نیز می‌رویند (Jamzad, 2009; Mozaffarian, 2004). این گیاه یکی از قدیمی‌ترین گیاهانی است که به‌عنوان سبزی و گیاه دارویی و ادویه‌ای مورد استفاده بشر بوده است. مرزه به‌صورت خشک‌شده به‌عنوان یکی از مطبوع‌ترین ادویه‌ها معرفی شده است و سالانه سطوح گسترده‌ای از زمین‌های زراعی در بسیاری از کشورها (یوگسلاوی، فرانسه، اسپانیا، آمریکا و مجارستان) کشت می‌شود (Omidbaigi, 2005). به‌طورکلی قسمت‌های هوایی گیاه مرزه که به‌طورمعمول در زمان گلدهی چیده می‌شود، اثر درمانی همچون آسان‌کننده عمل هضم، بادشکن و مقوی معده، مدر و به‌طور خفیف اثر قابض، رفع اسهال و ضد کرم دارد. از اسانس مرزه در صنایع کنسروسازی و نوشابه‌سازی استفاده می‌شود. اسانس این گیاه خاصیت ضد میکروبی داشته و بازدارنده رشد برخی از باکتری‌ها می‌شود (Hajhashemi et al., 2000; Sefidkon et al., 2007). با توجه به رشد زیاد تقاضا برای گیاهان دارویی و داروهای گیاهی در جهان، کشت این گیاهان به‌طور شایان‌توجهی افزایش یافته است (Yazdani et al., 2004). اسانس گونه‌هایی از مرزه که کارواکرول و تیمول بالاتری دارند، اثر ضد میکروبی قوی‌تری دارند (Sefidkon et al., 2007). کارواکرول خاصیت ضد باکتری دارد و اسانس گونه‌هایی از مرزه که مقادیر بالایی از این ترکیب را دارد برای استفاده در صنایع داروسازی مناسب‌تر هستند. البته وجود مقادیر به نسبت مناسبی از دیگر ترکیب‌های اسانس به دلیل تقویت اثر ضد باکتریایی کارواکرول، نقش مهمی در

کیفیت اسانس مرزه دارد (Ben Arfa et al., 2006). کارواکرول چندین ویژگی زیستی (بیولوژیکی)، از جمله اثر ضدعفونی‌کننده، ضد کرم، فعالیت‌های ضدالتهابی، ضد درد، ضد باکتریایی، ضد قارچی و مخمر، پاداکسنده (آنتی‌اکسیدان)، ساخت (سنتز) بعضی مواد آلی و ... دارد (Baghalian & Naghdibadi, 2000; Jamzad, 2009).

کاربرد بهینه عناصر غذایی در طول دوره رشد گیاه نه تنها نقش عمده‌ای در افزایش عملکرد دارد بلکه در کمیت و کیفیت مواد مؤثره آن‌ها نیز تأثیرگذار است اما جزئیات این همبستگی به‌طورکلی مشخص نیست و بررسی‌های فیزیولوژی و بیوشیمیایی دقیقی برای تعیین نحوه تأثیر این مواد بر ساخت متابولیت‌های خاص لازم است. در واقع مناسب‌ترین میزان کاربرد کود میزانی خواهد بود که افزون بر افزایش عملکرد تأثیر منفی بر متابولیت‌های ثانویه نداشته باشد (Bernath, 2008). در رابطه با واکنش گیاهان زراعی و باغی به سطوح مختلف کودهای شیمیایی تحقیقات زیادی صورت گرفته است ولی در رابطه با گیاهان دارویی این تحقیقات کمتر صورت گرفته و روابط تغذیه‌ای آن‌ها و به‌ویژه در ارتباط با کمیت و کیفیت مواد مؤثره کمتر بررسی شده است.

تحقیقات نشان داده است که مواد تشکیل‌دهنده اسانس تحت تأثیر ژنوتیپ، مرحله رشد، شرایط محیطی، آبیاری و تغذیه‌ای است (Ghani et al., 2009; Maerere et al., 2001; Omidbaigi et al., 2003; Sefidkon et al., 2003). همچنین گزارش شده است که زمان گردآوری در رابطه با گیاه دارویی کاکوتی^۲ (Amiri, 2009)، نحوه کشت (Sgherri et al., 2010) و عامل‌های تغذیه‌ای (Nguyen et al., 2010) در گیاه ریحان^۳ باعث تأثیر بر غلظت ترکیب‌های فنلی و پاداکسندگی شده است. مهم‌ترین عنصر غذایی پرکاربرد در گیاهان نیتروژن است که در ساختمان مولکول‌های پروتئینی گوناگون، آنزیم‌ها، کوآنزیم‌ها، اسیدهای نوکلئیک، سیتوکروم‌ها و تقسیم یاخته‌ای نقش دارد. نیتروژن افزون بر ایفای نقش در تشکیل

2. *Ziziphora clinopodioides* Lam.

3. *Ocimum basilicum*

1. Lamiaceae

گیاه و شمار شاخه جانبی بی‌تأثیر بود (Sifola & barbiere, 2006). همچنین کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار به‌صورت مصرف در خاک به همراه ۴/۵ درصد نیتروژن خالص به‌صورت محلول‌پاشی بیشترین عملکرد زیست‌توده، بذر و سرشاخه گل‌دار را در گیاه مرزه تولید کرد (Alizadeh *et al.*, 2007).

با توجه به اهمیت بالای تغذیه در عملکرد و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی و نظر به اینکه تاکنون تحقیقات بسیار کمی در رابطه با واکنش گیاهان اسانس‌دار خانواده نعنائیان و به‌ویژه گیاه مرزه انجام شده است این پژوهش با هدف تأثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم بر رنگیزه‌های نورساختی، میزان و اجزای اسانس مرزه تابستانه در شرایط آب و هوایی کرج انجام شد.

مواد و روش‌ها

اجرای این طرح در قطعه زمینی واقع در هشت‌دستگاه مربوط به گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (شهر کرج) انجام شد. پانزده کرت با ابعاد ۳×۴ برای انجام این تحقیق آماده شد. بذرها را این رقم اصلاح‌شده (که از کشور مجارستان تهیه شده بودند)، در ردیف‌های منظم کشت و در نهایت در مرحله ۶-۴ برگی بوته‌ها تنک شدند و بوته‌ها با فاصله ۳۰×۲۰ به‌صورت یکنواخت تراکم مورد نظر اعمال شد. حدود سه هفته پس از کاشت، سطوح مختلف کود سولفات آمونیوم شامل ۱۰۰، ۸۰، ۶۰، ۴۰ و ۰ کیلوگرم (شاهد) در هکتار در قالب یک طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به‌صورت سرک اعمال شد. همه عملیات داشت شامل آبیاری، حذف علف‌های هرز، سله‌شکنی و ... به‌صورت یکنواخت برای همه تیمارها انجام شد. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در جدول ۱ آمده است. در مرحله گلدهی کامل که بیشتر گیاهان این خانواده بیشترین میزان اسانس را دارند (Omidbaigi, 2005)، به‌منظور استخراج اسانس و محاسبه عملکرد آن، نمونه‌های گیاهی برداشت شدند و پس از حذف ساقه‌های ضخیم و زواید، نمونه‌ها در دمای محیط (۲±۳ °C) خشک شدند و دیگر مراحل آزمایش به‌صورت زیر دنبال شد. همچنین

پروتئین‌ها، یک جزء لازم مولکول سبزینه (کلروفیل) هم است. عرضه کافی نیتروژن با رشد رویشی زیاد و رنگ سبز تیره ارتباط دارد (Shafea *et al.*, 2011). نیتروژن به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم بر رشد گیاه تأثیر دارد، با این وجود رفتارهای فیزیولوژی گیاهان نسبت به منابع نیتروژن به‌طور کلی متفاوت بوده و به توانایی آن‌ها در جذب و تثبیت آن بستگی دارد.

در تحقیقی تأثیر کودهای مختلف نیتروژن بر رشد و عملکرد بوته‌های چای^۱ سه ساله بررسی شده است. کودهای نیتروژنی مورد استفاده شامل سولفات آمونیوم، کلسیم آمونیوم نترات، اوره و نیتروفوس^۲ بودند. در این تحقیق، تأثیر نوع کود بر برخی صفات معنی‌دار بود (Sarwar *et al.*, 2007). در پژوهش دیگری تأثیر تاریخ‌های مختلف کشت و کاربرد مقادیر مختلف سولفات آمونیوم بر عملکرد و اجزای عملکرد کلزا رقم هایولا در کشت پاییزه در شرایط آب و هوایی شهرستان مانه و سملقان تحت تیمار سه تاریخ کاشت و چهار تیمار کودی (شامل سطوح مختلف سولفات آمونیوم به‌صورت تقسیطی) بررسی شد (Sadri *et al.*, 2008). در بررسی که در رابطه با تأثیر منابع نیتروژنی (سولفات آمونیوم، نترات آمونیوم و اوره) و سولفور (۰ و ۵/۰ درصد) و فصل رشد بر عملکرد و میزان نترات و ویتامین C کلم بروکلی انجام شد، عملکرد کلم بروکلی در فصل رشد پاییز-زمستان بیشتر از بهار بود و کاربرد سولفور نیز عملکرد را در هر دو فصل و همه ترکیب‌های نیتروژن افزایش داد (Elwan & El-Hamed, 2011). تأثیر سولفور و سولفات آمونیوم بر گیاه بادرشبی^۳ نشان داد، بیشترین عملکرد اسانس مربوط به بیشترین میزان کاربرد سولفات آمونیوم بود، درحالی‌که کمترین میزان کاربرد کود پس از شاهد، میزان ترکیب‌های نرال، ژرانیا استات و ژرانیا را افزایش داد (Aziz *et al.*, 2010). در پژوهشی کاربرد سولفات آمونیوم موجب افزایش عملکرد پیکر رویشی، زیست‌توده (بیومس) برگ تر و عملکرد اسانس در گیاه ریحان شد درحالی‌که بر نسبت برگ به ساقه، ارتفاع

1. *Camellia sinensis*
2. Nitrophos
3. *Dracocephalum moldavica*

وزنی (V/W) در ۱۰۰ گرم نمونه خشک انجام شد. عملکرد اسانس در واحد مترمربع بر پایه میزان ماده خشک در واحد سطح و درصد اسانس هر تیمار محاسبه شد. شناسایی اجزای اسانس با استفاده از دستگاه فامنگار (کروماتوگراف گازی، GC) و فامنگار گازی متصل به طیفنگار جرمی (GC/MS) صورت گرفت.

اندازه‌گیری رنگیزه‌های نورساخت (فتوستنتز) به صورتی که در زیر آمده است انجام شد از نمونه‌های برگ تازه انجام شد. پس از خشک شدن نمونه‌ها، اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب با استفاده از کلونجر به مدت سه ساعت پس از جوش آمدن و در شرایط کامل یکسان صورت گرفت. محاسبه درصد اسانس به صورت حجمی -

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

Table 1. Some physico-chemical properties of the soil of experimental field

Soil texture	Saturation percentage	EC (ds/m)	pH	Organic matter (%)	Soil particles		
					Sand %	Silt %	Clay %
Loamy	43.11	4.2	7.87	3.07	36	40	24
CaCO ₃ (%)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Total N (%)	Available K (ppm)	Available P (ppm)
10.33	۶	17.4	1.52	3	0.31	1164.9	65.64

مورد پس از تزریق مقادیر بسیار جزئی اسانس، منحنی فامنگار به دست آمده و طیف‌های جرمی ترکیب‌های مختلف موجود در آن بررسی شد. شناسایی طیف‌ها به کمک بانک اطلاعات جرمی (Wiley 7.0)، زمان بازداری (RI) و شاخص بازداری (KI)، بررسی طیف-های جرمی هر یک از اجزای اسانس و بررسی الگوهای شکست آن‌ها، مقایسه آن‌ها با طیف‌های استاندارد و استفاده از منابع معتبر صورت گرفت (Adams, 2001). همچنین با توجه به سطح زیر منحنی هر یک از نقطه اوج منحنی فامنگار GC و مقایسه آن‌ها با سطح کل زیر منحنی، درصد نسبی هریک از ترکیب‌های اسانس تعیین شد.

برای اندازه‌گیری میزان سبزینه (کلروفیل) ۲۰۰ میلی‌گرم برگ تازه از برگ‌های جوان کامل توسعه یافته گیاه جدا و استخراج با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد انجام شد. میزان جذب در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۵۳ و ۶۶۶ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری انجام شد. در نهایت نیز بر پایه روابط زیر میزان سبزینه a، b، کل و میزان کاروتنوئید محاسبه شد (Dere et al., 1998).

$$C_a = 15.65A_{666} - 7.34 A_{653}$$

$$C_b = 27.05 A_{653} - 11.21 A_{666}$$

$$C_{total} = C_a + C_b$$

$$\text{Carotenoide} = 1000 A_{470} - 2.86 C_a - 129.2 C_b / 245$$

C_a: میزان سبزینه (a)، C_b: میزان سبزینه (b)، C_{total}:

سبزینه کل و Carotenoide: کاروتنوئید.

مشخصات دستگاه‌های GC و GC-MS

فامنگار گازی مدل Agilent Technologies-7890A مجهز به ستون HP-5 با طول ۳۰ متر و قطر درونی ۰/۳۲ میلی‌متر و قطر فیلم ۰/۲۵ میکرون. برنامه‌ریزی گرمایی ستون از ۶۰ درجه سلسیوس تا ۲۱۰ درجه سلسیوس با سرعت ۳ درجه سلسیوس در دقیقه تنظیم شد، پس از ۸/۵ دقیقه توقف در همان دما با سرعت ۲۰ درجه در دقیقه افزایش یافت تا به ۲۴۰ درجه سلسیوس رسید. دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سلسیوس و دمای دتکتور ۲۹۰ درجه سلسیوس تنظیم شده بود. دتکتور مورد استفاده در دستگاه GC از نوع FID بود و از گاز N₂ با سرعت ۰/۵ میلی‌متر در دقیقه استفاده شد.

فامنگار گازی مدل Agilent Technologies-5975C مجهز به ستون موئینه HP-5MS با قطر درونی ستون ۰/۲۵ میلی‌متر، قطر فیلم ۰/۲۵ میکرون و طول دستگاه ۳۰ متر. برنامه‌ریزی گرمایی ستون از ۶۰ تا ۲۱۰ درجه سلسیوس با سرعت ۳ درجه سلسیوس در دقیقه تنظیم شد و پس از ۸/۵ دقیقه توقف در همان دما با سرعت ۲۰ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به ۲۴۰ درجه سلسیوس رسید. دمای محفظه تزریق و دتکتور ۲۸۰ درجه سلسیوس تنظیم شده بود. دتکتور مورد استفاده در دستگاه GC-MS از نوع MS بوده و از گاز هلیم به عنوان گاز حامل با سرعت ۰/۵ میلی‌متر در دقیقه استفاده شد. در هر

۶۰ کیلوگرم افزایش یافت و به بیشترین میزان (۵/۱۹ میلی‌گرم در گرم نمونه تر) رسید و در سطوح بالاتر بار دیگر کاهش یافت. البته بین تیمارهای ۶۰ و ۸۰ کیلوگرم تفاوت معنی‌داری از این نظر وجود نداشت (شکل ۱). کمترین میزان سبزینه a، (۱۴/۸۳ میلی‌گرم در گرم نمونه تر) مربوط به تیمار ۱۰۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم و بیشترین میزان (۱۹/۷۹ میلی‌گرم در گرم نمونه تر) مربوط به تیمار شاهد بود. البته بین تیمار شاهد و سطوح ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم نیز تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. کمترین میزان محتوای سبزینه کل (۱۸/۶۹ میلی‌گرم بر گرم نمونه تر) مربوط به تیمار ۱۰۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم بود و دیگر تیمارها در یک گروه قرار داشتند (شکل ۱).

تجزیه واریانس داده‌ها توسط نرم‌افزار MINITAB و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها، از آزمون کمینه اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

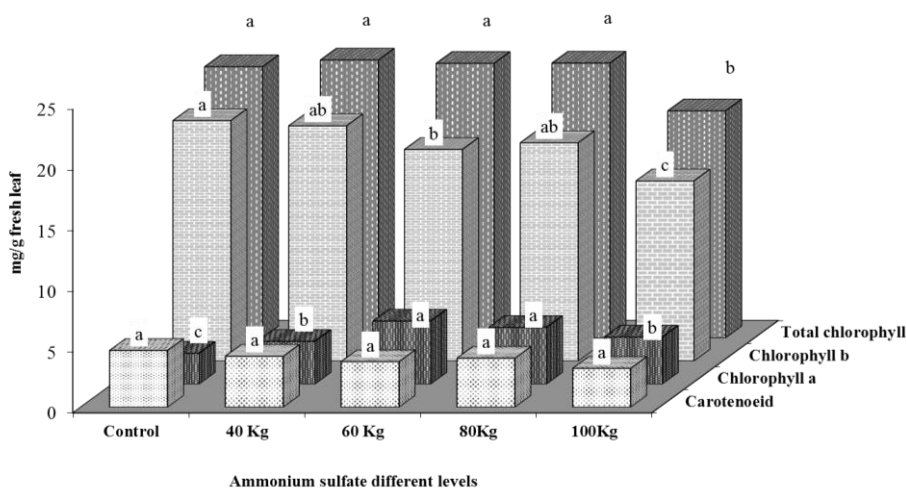
نتایج ارائه شده در جدول شماره ۲ نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار تیمارها بر میزان محتوای سبزینه (b, a و کل) است در حالی که میزان کاروتنوئید تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. از نظر میزان سبزینه b، کمترین میزان (۲/۵۳ میلی‌گرم در گرم نمونه تر) مربوط به تیمار شاهد بود و با افزایش میزان سولفات آمونیوم تا سطح

جدول ۲. تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم بر رنگی‌های نورساختی، درصد و عملکرد اسانس مرزه (میانگین مربعات)
Table 2. Analysis of variance of effect of different levels of ammonium sulfate on photosynthetic pigments, essential oil percentage and yield of *Satureja hortensis*

Source of variation	df	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total Chlorophyll	Carotenoids	Essential oil percentage	Essential oil yield
Treatment	4	11.53**	3.19**	9.31*	0.896ns	0.375**	509.7**
Error	8	1.1	0.126	1.36	0.276	0.042	16.34

*, **, و ns: اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود اختلاف معنی‌دار.

*, **, and ns: Significant differences in levels of 5 and 1% and no significant difference, respectively.



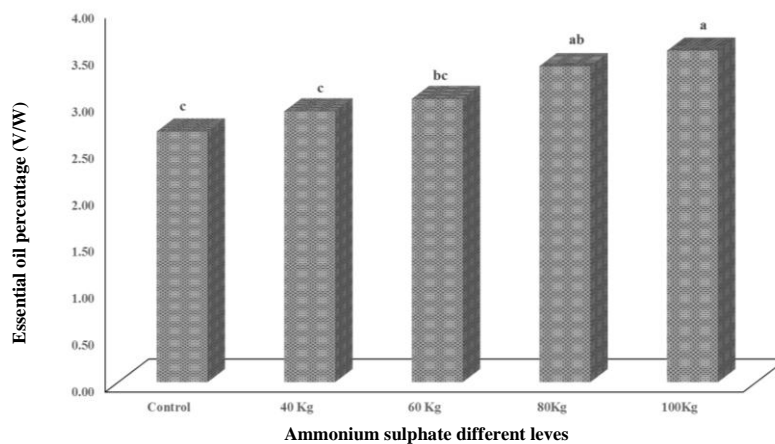
شکل ۱. تأثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم بر رنگی‌های نورساختی گیاه مرزه

Figure 1. Effect of Ammonium sulfate different levels on photosynthesis pigments of *Satureja hortensis* L.

هر دو صفت درصد و عملکرد اسانس افزایش یافت، به طوری که بالاترین درصد اسانس (۳/۵۵ درصد) مربوط به تیمار ۱۰۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم و کمترین میزان (۲/۶۸ درصد) مربوط به تیمار شاهد

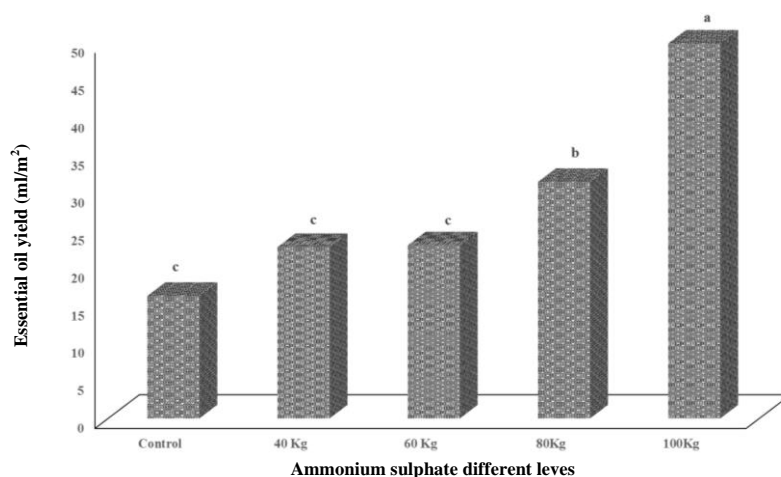
نتایج تجزیه واریانس در رابطه با میزان اسانس و عملکرد اسانس، نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار ($p < 0.01$) تیمارها بر این صفات بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که با افزایش سطوح کودی

بود (شکل ۲). بیشترین عملکرد اسانس (۴۹/۹۷ میلی لیتر) مربوط به تیمار ۱۰۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم و کمترین میزان (۱۶/۳۲ میلی لیتر) مربوط به تیمار شاهد بود (شکل ۳).



شکل ۲. تأثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم بر درصد اسانس گیاه مرزه

Figure 2. The effect of ammonium sulfate different levels on essential oil percentage of *Satureja hortensis* L.



شکل ۳. تأثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم بر عملکرد اسانس گیاه مرزه

Figure 3. The effect of ammonium sulfate different levels on essential oil yeild of *Satureja hortensis* L.

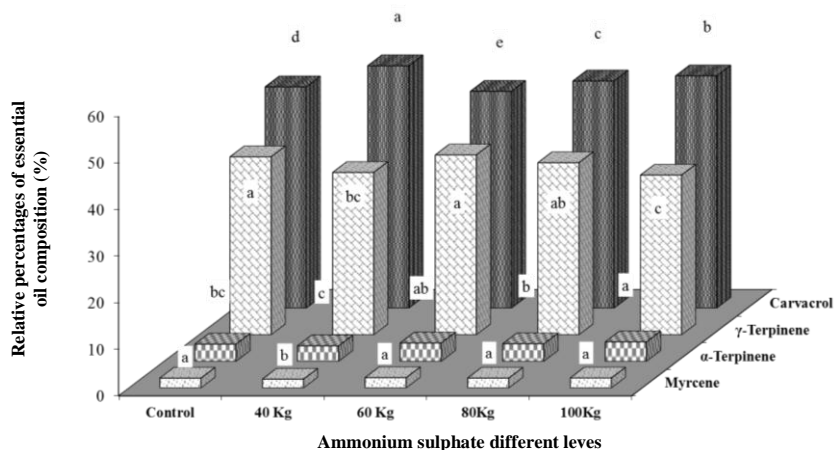
میرسن، آلفاترپینن، لیمونن، بتا فلاندرن، گاما ترپینن، ترپینن-۴-ال، کارواکرول، بیسیکلوجرماکرن و بتا بیسابولن بود. نتایج مقایسه میانگین این اجزا در جدول ۴ آورده شده است. همان طور که مشاهده می شود حدود ۹۰ درصد از اجزای اسانس این گیاه به ترتیب مربوط به چهار ترکیب اصلی کارواکرول، گاماترپینن، آلفا ترپینن و میرسن است و حدود ۱۰ درصد از اجزای تشکیل دهنده اسانس مربوط به دیگر ترکیبها است. ترکیبهای دیگری که میزان آنها بیش از ۱ درصد بود، شامل آلفا توژن، پاراسیمن و لیمونن بود که میزان پاراسیمن تحت تأثیر سطوح تغذیه ای قرار

لازم به یادآوری است که بین تیمار شاهد و سطوح کودی ۴۰ و ۶۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم تفاوت معنی داری از نظر درصد و عملکرد اسانس وجود نداشت، ولی تیمارهای ۸۰ و ۱۰۰ کیلوگرم از این نظر در بالاترین میزان قرار داشتند (شکل های ۲ و ۳).

نتایج تجزیه واریانس در رابطه با اجزای اسانس مرزه در جدول ۳ منعکس شده است همان طور که ملاحظه می شود از ۲۶ ترکیب شناسایی شده در اسانس این گیاه، تنها دوازده ترکیب به طور معنی داری تحت تأثیر تیمارهای تغذیه ای کودی قرار گرفتند که شامل ترکیبهایی چون آلفا توژن، آلفا پینن، سابینن،

جزء اصلی اسانس مرزه در شکل شماره ۴ منعکس شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود کمترین میزان میرسن (۱/۸۹ درصد) مربوط به تیمار ۴۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم بود و دیگر تیمارها در یک گروه قرار داشتند. همچنین کمترین میزان آلفا ترپینن (۳/۳۳ درصد) مربوط به تیمار ۴۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم و بیشترین میزان (۴/۱۸ درصد) مربوط به تیمار ۱۰۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم بود.

نگرفت، ولی در رابطه با آلفا توژن، با افزایش میزان کود از سطح ۴۰ کیلوگرم تا ۱۰۰ کیلوگرم میزان آن افزایش یافت (از ۱/۱۵ به ۱/۵۶ درصد) درحالی‌که در رابطه با لیمونن حالت عکس رخ داد و بیشترین میزان (۱/۵۷ درصد) در تیمارهای شاهد و ۴۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم بود و با افزایش میزان کود میزان آن کاهش یافت و کمترین میزان (۰/۸ درصد) در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم تعیین شد. تغییرپذیری مربوط به چهار



شکل ۴. تغییر مهم‌ترین اجزای اسانس مرزه تحت تأثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم
Figure 4. Changes in important components of the essential oil of *Satureja hortensis* under ammonium sulfate different levels

جدول ۳. تجزیه واریانس اجزای اسانس مرزه تحت تأثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم
Table 3. Analysis of variance of Summer savory essential oil components under different levels of ammonium sulfate

Source of variation	DF	α-Thujene	α-Pinene	Camphene	Sabinene	β-Pinene	Myrcene	α-Phellandrene	Δ-3-Carene
Treatment	4	0.083**	0.044*	0.0002ns	0.001**	0.014 ns	0.041*	0.004 ns	0.001 ns
Error	8	0.006	0.010	0.00006	0.00007	0.009	0.006	0.001	0.00003

ادامه جدول ۳. تجزیه واریانس اجزای اسانس مرزه تحت تأثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم
Continued table 3. Analysis of variance of Summer savory essential oil components under different levels of ammonium sulfate

Source of variation	α-Terpinene	ρ-Cymene	Limonene	β-Phellandrene	(E)-β-Ocimene	γ-Terpinene	cis-Sabinene hydrate	Terpinolene	trans-Sabinene hydrate
Treatment	0.298**	ns	0.698	0.344**	0.0018*	0.0006 ns	11.42**	0.00008 ns	0.00009 ns
Error	0.041	0.197	0.016	0.0005	0.0004	1.57	0.0007	0.001	0.001

ادامه جدول ۳. تجزیه واریانس اجزای اسانس مرزه تحت تأثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم
Continued table 3. Analysis of variance of Summer savory essential oil components under different levels of ammonium sulfate

Source of variation	Terpinene-4-ol	Carvacrol methyl ether	Thymol	Carvacrol	Carvacrol acetate	(E)-Caryophyllene	α-Humulene	Bicyclogermacrene	β-Bisabolene
Treatment	0.0028**	0.00001 ns	0.006 ns	13.7*	0.0002 ns	0.010 ns	0.00007 ns	0.0055**	0.023**
Error	0.0003	0.00007	0.007	3.04	0.0006	0.014	0.00005	0.0003	0.0006

*, ** و ns: اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد و نبود اختلاف معنی‌دار.
*, ** and ns: Significant differences in levels of 5% and 1% and no significant difference respectively.

جدول ۴. تأثیر سطوح مختلف سولفات آمونیوم بر اجزای اسانس گیاه مرزه

Table 4. Effect of ammonium sulfate on Essential Oil Composition of *Satureja hortensis* L.

Compound name	Retention time*	Different levels of ammonium sulfate fertilizer				
		Control	40 Kg	60 Kg	80 Kg	100 Kg
α -Thujene	926	1.40b	1.15c	1.54ab	1.46ab	1.56a
α -Pinene	933	0.90a	0.65b	0.98a	0.89a	0.87a
Camphene	948	0.08	0.07	0.08	0.08	0.09
Sabinene	972	0.17a	0.13b	0.16a	0.17a	0.17a
β -Pinene	977	0.58	0.43	0.59	0.55	0.50
Myrcene	990	2.10a	1.89b	2.20a	2.11a	2.14a
α -Phellandrene	1005	0.33	0.30	0.35	0.34	0.39
Δ -3-Carene	1010	0.07	0.06	0.07	0.07	0.08
α -Terpinene	1018	3.71bc	3.33c	3.95ab	3.76b	4.18b
ρ -Cymene	1026	1.21	1.17	1.19	1.26	2.28
Limonene	1028	1.56a	1.57a	1.35a	1.03b	0.80b
β -Phellandrene	1029	0.52a	0.47b	0.53a	0.51ab	0.49ab
(E)- β -Ocimene	1046	0.13	0.12	0.10	0.13	0.14
γ -Terpinene	1063	38.22a	34.85bc	38.61a	36.94ab	34.28c
cis-Sabinene hydrate	1071	0.11	0.12	0.11	0.12	0.11
Terpinolene	1088	0.04	0.04	0.05	0.04	0.05
trans-Sabinene hydrate	1096	0.04	0.04	0.04	0.04	0.08
Terpinene-4-ol	1177	0.08b	0.07b	0.07b	0.06b	0.14a
Carvacrol methyl ether	1245	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Thymol	1292	0.04	0	0.04	0	0.11
Carvacrol	1301	47.53d	52.06a	46.57e	48.80c	49.89b
Carvacrol acetate	1374	0.06	0.07	0.08	0.08	0.08
(E)-Caryophyllene	1420	0.48	0.59	0.58	0.62	0.62
α -Humulene	1455	0.03	0.04	0.04	0.04	0.05
Bicyclogermacrene	1500	0.08c	0.13b	0.16ab	0.17a	0.18a
β -Bisabolene	1505	0.24d	0.35b	0.30c	0.42a	0.46a
The number of known composition	--	26	25	26	25	26

* شاخص بازداري مربوط به ان آلکانهای C₈ تا C₂₄ در ستون DB-5 است.

وجود حروف مشترک در هر ردیف نشان دهنده نبودن اختلاف معنی دار بر پایه آزمون LSD است.

ردیف‌های بدون گروه بندی نشان دهنده نداشتن اختلاف معنی دار بین تیمارها است.

* Retention time is related to C₈ to C₂₄ n-alkanes in DB-5 column.
Means with similar letter test are not significant in %5 level of LSD.
The rows without grouping show no significant difference between treatments.

افزایش دوباره کود، افزایش میزان کارواکرول رخ داد. به طوری که با افزایش میزان کود از ۴۰ کیلوگرم به ۶۰ کیلوگرم میزان کارواکرول ۱۱/۷۹ درصد کاهش یافت در حالی که در تیمار ۸۰ کیلوگرم میزان کارواکرول ۴/۷۹ درصد بار دیگر افزایش پیدا کرد و در تیمار ۱۰۰ کیلوگرم نسبت به ۸۰ کیلوگرم به میزان ۲/۲۳ درصد دوباره افزایش کارواکرول را در پی داشت.

تأمین عناصر نیتروژن و گوگرد در چرخه رشد گیاه می تواند نقش زیادی در بهبود کمیت و کیفیت گیاهان دارویی داشته باشد. گوگرد در بین عناصر غذایی، به عنوان چهارمین عنصر غذایی اصلی شناخته شده است. اکسایش (اکسیداسیون) گوگرد و تبدیل آن به سولفات به خاطر نقشی که گوگرد در تشکیل پروتئین، روغن ها و بسیاری از ویتامین ها در گیاه دارند، اهمیت دارد. در صورت فراهم نبودن گوگرد، گیاه نمی تواند از نیتروژن استفاده کند. در فرآیند استفاده از کودهای گوگردی،

بالاترین میزان گاما ترپینن (۳۸/۶۱ درصد) مربوط به تیمار ۶۰ کیلوگرم و پس از آن تیمار شاهد قرار داشت در حالی که کمترین میزان (۳۴/۲۸ درصد) مربوط به تیمار ۱۰۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم بود. البته بین تیمارهای شاهد، ۶۰ کیلوگرم و ۸۰ کیلوگرم از این نظر تفاوت معنی داری وجود نداشت.

کارواکرول به عنوان اصلی ترین ترکیب اسانس گیاه مرزه یک ساله بوده و بسیاری از ویژگی های اسانس این گیاه را به این ترکیب نسبت می دهند، این ترکیب نیز تحت تأثیر تیمارهای کودی قرار گرفت. به طور کلی، کمترین میزان کارواکرول (۴۶/۵۷ درصد) در تیمار ۶۰ کیلوگرم و بیشترین میزان (۵۲/۰۶ درصد) در تیمار ۴۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم شناسایی شد. در واقع با افزایش ۴۰ کیلوگرم کود در مقایسه با شاهد میزان کارواکرول به میزان ۹/۵۴ درصد افزایش پیدا کرد. اما با بیش از این میزان کود، در آغاز کاهش ولی با

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق به‌خوبی نشان داد، تیمارهای سولفات آمونیوم کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاه مرزه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تاکنون تحقیقات بسیار کمی در رابطه با رفتار گیاهان دارویی و تغییر مواد مؤثره آن‌ها در واکنش به تیمارهای تغذیه‌ای کودهای شیمیایی انجام شده است و لذا تصمیم‌گیری برای تعیین بهترین تیمارهای کودی کار سختی است. زیرا برای تعیین بهترین تیمار باید مجموعه‌ای از عوامل را در کنار هم قرار داد. در اینجا نیز باید تأثیر سطوح مختلف کودی بر ویژگی‌های رشد و همچنین دیگر مواد مؤثره به‌ویژه رزمارینیک اسید به‌عنوان یک ماده فنلی مهم در این گیاه را مورد توجه قرار داد و از سوی دیگر با توجه به مورد استفاده قرار گرفتن اندام‌های رویشی مرزه به‌عنوان یک گیاه دارویی تا حد ممکن باید کمترین میزان کود شیمیایی نیز استفاده شود. به نظر می‌رسد که تغذیه ۶۰ و ۸۰ کیلوگرم سولفات آمونیوم برای دستیابی به این هدف نسبت به دیگر تیمارها سودمندتر باشند.

سپاسگزاری

این تحقیق در قالب طرح پژوهشی ۷۱۰۳۸۷۰۳۶ با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه تهران انجام شده است که نویسندگان بر خود لازم می‌دانند کمال قدردانی خود را از مسئولان مربوط اعلام دارند.

اکسایش این عنصر به سولفات، تحت تأثیر دمای خاک، رطوبت، تهویه و pH خاک قرار می‌گیرد (Najafi *et al.*, 2012). از سوی دیگر، خاک بیشتر مناطق به‌ویژه جنوب کشور pH بالایی داشته و در نتیجه ترکیب قابل جذب عناصر غذایی در آن‌ها کم است. پژوهشگران سعی کرده‌اند با کاربرد مواد اسیدزای، اسیدیته این نوع از خاک‌ها را به‌طور موضعی کاهش داده و عناصر تثبیت‌شده را برای جذب گیاه آزاد سازند که با توجه به بررسی‌های انجام‌گرفته، در بین مواد اسیدزای، گوگرد بهترین و اقتصادی‌ترین آن‌ها به شمار می‌آید. تحقیقات انجام‌شده نشان می‌دهد که کاربرد گوگرد در خاک به دلیل اکسایش آن، ضمن تأمین سولفات مورد نیاز گیاه باعث کاهش موضعی pH خاک در منطقه ریزوسفر گیاه، افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی از جمله فسفر، آهن، روی، مس و ... و در نهایت بهبود وضعیت تغذیه گیاه می‌شود (Dialami & Mohebbi, 2010).

بسته به وضعیت تغذیه گیاه، مرحله رشد، عملیات داشت و پس از برداشت و ژنوتیپ، مواد مؤثره موجود در گیاهان دارویی تغییر می‌یابند. در رابطه با اجزای اسانس نیز این ترکیب‌ها قابل تبدیل به یکدیگر بوده است و به‌طورمعمول کاهش یک ترکیب افزایش ترکیب دیگری را در پی خواهد داشت و به‌طور مسلم مدیریت بهینه کشت و پرورش گیاهان دارویی به‌منظور حفظ ترکیب‌های اصلی اسانس در حد استانداردهای بین‌المللی را به دنبال خواهد داشت.

REFERENCES

1. Adams, R.P. (2001). *Identification of essential oil components by Gas Chromatography and Mass Spectrometry*. Allured: Carol Stream IL.
2. Alizadeh Sahzabi, A., Sharifi Ashorabadi, E., Shiranirad, A.H. & Abaszadeh, B. 2007. The effects of different methods and levels of using nitrogen on some quality and quantity characteristics of *Satureja hortensis* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(3), 416-431. (in Farsi)
3. Amiri, H. (2009). Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanolic Extract of *Ziziphora Clinopodioides* Lam. in Pre-flowering Stage. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*, 16(1): 79-86. (in Farsi).
4. Aziz Eman, E., El Danasoury, M. M. & Craker, L. (2010). Impact of Sulfur and Ammonium Sulfate on Dragonhead Plants Grown in Newly Reclaimed Soil. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 16, 126-135.
5. Baghalian, K. & Naghdibadi, H. (2000). *Oil-bearing plants*, Andarz Publication. 248p. (in Farsi)
6. Ben Arfa, A., Combes, S., Preziosi-Belloy, L., Gontard, N. & Chalier, P. (2006). Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Letters in Applied Microbiology*, 43, 149-154.
7. Bernath, J. (2008). Production ecology of secondary plant productions. In: L.E. Craker and J.E. Simon (eds) *Herbs, Spices, and Medicinal Plants: Recent Advances in Botany, Horticulture and Pharmacology*, Vol.1. Oryx Press, Phoenix, Arizona.

8. Dere, S., Gunes, T. & Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric determination of chlorophyll - a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Journal of Botany*, 22, 13-17.
9. Dialami, H., & Mohebbi, H. (2010). Effect of Applying of Sulfur Along with *Thiobacillus* Inoculant and Manure on Leaf Nutrient Contents and Vegetative Growth Characteristics in Date Palm 'Barhee'. *Journal of Horticultural Science*, 24(2), 189-194. (in Farsi)
10. Elwan, M. W. M. & Abd El-Hamed, K. E. (2011). Influence of nitrogen form, growing season and sulfur fertilization on yield and the content of nitrate and vitamin C of broccoli. *Scientia Horticulturae*, 127, 181-187.
11. Ghani, A., Saharkhiz, M. J., Hassanzadeh, M. & Massada, K. (2009). Changes in the Essential Oil Content and Chemical Compositions of *Echinophora platyloba* DC. During Three Different Growth and Developmental Stages. *J. Essential Oil Bearing Plants*, 12(2), 162-171.
12. Ghani, A., Azizi, M., Pahlavanpour, A. & Hassanzadeh-Khayyat, M. (2009). Comparative study on the essential oil content and composition of *Achillea eriophora* DC. in field and wild conditions. *Journal of Medicinal Plants*, 8(2), 120-128. (in Farsi)
13. Hadian, J., Tabatabaei, S. M. F., Naghavi, M. R., Jamzad, Z., & Ramak-Masoumi, R. (2008). Genetic diversity of Iranian accessions of *Satureja hortensis* L. based on horticultural traits and RAPD markers. *Scientia Horticulturae*, 115, 196-202.
14. Hajhashemi, V., Sadraei, H., Ghannadi, A.R. & Mohseni, S. (2000). Antispasmodic and antidiarrhoeal affect of *Satureja hortensis* L. essential oil. *Journal Ethnopharmacol*, 71, 1-2.
15. Jamzad, Z. (2009). *Thymus and Satureja species of Iran*. Research, Institute of Forests and Rangelands Publication. 171p. (in Farsi)
16. Maerere, A.P., Kimbi, G.G. & Nonga, D.L.M. (2001). Comparative effectiveness of animal manures on soil chemical properties, yield and root growth of Amaranthus (*Amaranthus cruentus* L.). *African Journal of Science and Technology*, 1(4), 14-21.
17. Mozaffarian, V. (2004). *A Dictionary of Iranian Plant Names*. Farhange Moaser Publication: Tehran. 671p. (in Farsi)
18. Najafi, S., Mirseyed Hosseini, H. & Alaei, E. (2012). Study of the Effect of Micronutrient Enriched Sulfur Fertilizer Application in a Calcareous Soil. *Journal of Water and Soil*, 26(1), 95-103. (in Farsi)
19. Nguyen, Ph., Kwee, E. & Niemeyer, E. (2010). Potassium rate alters the antioxidant capacity and phenolic concentration of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chemistry*, 123, 1235-1241.
20. Omidbaigi, R., Hadjiakhoondi, A. & Saharkhiz M.J. (2003). Changes in content and chemical composition of *Pimpinella anisum* oil at various harvest times. *J. Essential Oil Bearing Plants*, 6(1), 46-50.
21. Omidbaigi, R. (2005a). *Production and processing of medicinal plants*. Volume 1. Behnashr Publication, 347p. (in Farsi)
22. Omidbaigi, R. (2005 b). *Production and processing of medicinal plants*. Volume 2. Behnashr Publication, 438p. (in Farsi)
23. Sadri, A., Kamali, H., & Eskandari, M. (2008). The effect of different date culture and ammonium sulfate levels on yield and yield characteristics of Rapeseed in autumn planting on Maneh and Samalghan zone. *The New Agricultural Findings Journal*, (4), 376-386. (in Farsi)
24. Sarwar, S., Ahmad, F., Hamid, F. S., Khan, B. M. & Khurshid, F. (2007). Effect of different nitrogenous fertilizers on the growth and yield of three years old tea (*Camellia sinensis*) plants. *Sarhad Journal of Agriculture*, 23(4), 907-910.
25. Sefidkon, F., Kalvandi, R. & Mirza, M. (2003). Chemical variation of the essential oil of *Nepeta heliotropifolia* in different stage of plant growth. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 19(3), 255-267.
26. Sefidkon, F., Sadeghzadeh, L., Teimouri, M., Asgari F. & Ahmadi, Sh. (2007). Antimicrobial effects of the essential oils of two *Satureja* species (*S. Khuzistanica* Jamzad and *S. bachtiarica* Bunge) in two harvesting time. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(2), 174-182. (in Farsi)
27. Sgherri, C., Ceconami, S., Pinzino, C., Navari-Izzo, F. & Izzo R. (2010). Levels of antioxidants and nutraceuticals in basil grown in hydroponics and soil. *Food Chemistry*, 123, 416-422.
28. Shafea, L., Safari, M., Emam, Y. & Mohammadi nejad, Gh. (2011). Effect of Nitrogen and Zinc Fertilizers on Leaf Zinc and Chlorophyll Contents, Grain Yield and Chemical Composition of Two Maize (*Zea mays* L.) Hybrids. *Seed and Plant Production Journal*, 27(2), 235-246. (in Farsi)
29. Sifola, M. I. & Barbieri, G. (2006). Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. *Scientia Horticulturae*, 108, 408-413.
30. Yazdani, D., Shahnazi, S. & Seyfi, H. (2004). *Medicinal plant cultivation*. Medicinal Plants Central Research Publication. 169p. (in Farsi)