بررسی اثر کود بیولوژیک تیوباسیلوس و کود شیمیایی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی اسانس گیاه دارویی *Satureja hortensis* L.

علی قادری[1*]، علی نوعی[2]، خدیجه احمدی[3]، حسین صبوری فرد[4]

[1]استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای استان خراسان رضوی، مشهد، ایران

[2]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان، استان خراسان رضوی، مشهد، ایران

[3]دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

[4]کارشناس‌ارشد، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای استان خراسان رضوی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۹/۶/۲۲

چکیده

مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.) یکی از گیاهان ارزشمند دارویی متعلق به خانواده نعناعیان (*Lamiaceae*) است. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی اثر کود بیولوژیک تیوباسیلوس و کود شیمیایی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی *Satureja hortensis* L. بود. مطالعه حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی شهر گلمکان در سال ۹۸-۱۳۹۷ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل کود بیولوژیک تیوباسیلوس (۰ (شاهد)، ۵ و ۱۲ کیلوگرم در هر هکتار) و کود شیمیایی (۰ (شاهد)، ۳۵ و ۷۰ کیلوگرم در هر هکتار) بودند. اسانس گیاه از برگ‌های مرزه در مرحله گلدهی توسط دستگاه کلونجر استخراج و سپس ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس توسط GC-MS مورد تجزیه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که همه صفات مورفولوژیکی گیاه و هم‌چنین کیفیت و کمیت مواد مؤثره اسانس تحت تأثیر تیمارهای کودی قرار گرفتند. به‌طوری‌که کاربرد تلفیقی کود بیولوژیک تیوباسیلوس و کود شیمیایی منجر به افزایش صفات مورد بررسی نسبت به شاهدگردید. بیشترین ارتفاع بوته (۴۸/۸ سانتی‌متر)، وزن خشک برگ (۹/۷ گرم) و دانسیته اسانس (۳/۶۷ درصد) در استفاده توأم کود تیوباسیلوس و کود شیمیایی بدست آمد. دو ترکیب اصلی اسانس مرزه شامل: کارواکرول (۶۲/۱۰ درصد) و گاما-ترپینن (۱۹/۰۴ درصد) بیشترین، افزایش را در ترکیب تیماری ۱۲ کیلوگرم در هکتار کود تیوباسیلوس و ۷۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی (NPK) نشان دادند. بر اساس نتایج بدست آمده مشخص شد که استفاده از ترکیب تیماری کود تیوباسیلوس و کود شیمیایی می‌تواند ویژگی‌های مورفولوژیکی، کمیت و کیفیت اسانس مرزه را نیز افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، *تیوباسیلوس*، صفات مورفولوژیکی، کود بیولوژیک، مرزه.

*نویسنده مسئول: Ghaderi885@yahoo.com

مقدمه

افزایش مصرف گیاهان دارویی باعث افزایش سریع در تقاضای بازار برای محصولات با اسانس طبیعی شده است. در دهه‌های اخیر حجم معاملات مواد خام گیاهان دارویی خود شاهد این ادعا می‌باشد (Weisany et al., 2015). مرزه تابستانی با نام علمی (*Satureja hortensis* L.) گیاهی یک ساله و مقاوم، دارای ریشه کوچک، فیبری، دوکی شکل و ساقه منشعب با خطوط طولی است. این گیاه علفی حالت بوته‌ای کوتاه و پرپشت داشته، ارتفاع آن به ۳۰ تا ٤٥ سانتی‌متر می‌رسد، با ساقه‌های افراشته، بسیار منشعب و پوشیده از کرک‌های کوتاه می‌باشد (Movahhedkhah et al., 2019). مرزه تابستانی در طب سنتی به‌عنوان داروی محرک، ضد نفخ، خلط‌آور، مقوی معده، ضداسهال و تقویت کننده قوای جنسی کاربرد دارد. تانن موجود در این گیاه موجب بروز اثرات قابض می‌شود (Šojić et al., 2019). برپا شدن نهضت جهانی موج سبز و اعلام ممنوعیت سازمان بهداشت جهانی مبنی برعدم استفاده از رنگ‌ها و اسانس‌های مصنوعی و عوارض جانبی داروهای شیمیایی در سال‌های اخیر سبب رونق کشت و کار گیاهان دارویی شده است (Rezaei et al., 2018).

امروزه استفاده از کودهای شیمیایی به عنوان سریع-ترین راه برای جبران کمبود عناصر عذایی خاک و عملکرد بالا گسترش چشمگیری یافته است، اما در بسیاری از موارد کاربرد این کودها باعث آلودگی‌های زیست محیطی و صدمات اکولوژیکی شده و هزینه تولید را افزایش داده است. کاربرد کودهای شیمیایی موجب مشکلات زیست محیطی شده و مصرف نامتعادل آن‌ها تغییرات خواص فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها را نیز به همراه دارد (Majidi and Amiri, 2013). از آنجا که رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت استفاده از نظام‌های کشاورزی پایدار و به‌کارگیری روش‌های مدیریتی آن‌ها نظیرکاربرد کودهای بیولوژیک به منظور ارتقای عملکرد کیفی و کمی گیاهان دارویی می‌باشد، در مدیریت صحیح استفاده از کودهای بیولوژیک علاوه بر حفظ عناصر غذایی مورد نیاز گیاه باید جنبه‌های زیست محیطی نیز مورد توجه قرار گیرد (Gong et al., 2018). کشاورزی پایدار یک نظام تلفیقی مبتنی بر اصول اکولوژیک است. در این نظام به جای استفاده از نهاده‌های خارجی نظیر کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها از بقایای گیاهی، کودهای دامی، کودهای آلی و بیولوژیک و کنترل بیولوژیک آفات استفاده می‌شود تا ضمن ذخیره مواد غذایی در خاک، علف‌های هرز و آفات کنترل شده و هم‌چنین تنوع بیولوژیک در مزارع افزایش یابد (Alvarenga et al., 2016).

ریزجانداران باکتریایی و قارچی به‌ویژه رایزوباکتری‌های از جمله مهم‌ترین کودهای محرک رشد گیاه PGPR[1] بیولوژیک محسوب شده و سبب تغییر در محتوی هورمون‌ها، تولید ترکیبات فرار و افزایش در دسترس بودن مواد غذایی می‌شوند (Ruzzi and Aroca, 2015). باکتری‌های موجود در کودهای زیستی یا بیولوژیک قادر به تثبیت نیتروژن، رهاسازی یون‌های فسفات و پتاسیم از ترکیبات نامحلول خاک هستند و گیاه را در بهبود جذب عناصر غذایی کمک می‌کنند (Moradi Marjaneh et al., 2016). محققین گزارش دادند که بیشترین مقادیر ارتفاع و وزن خشک بوته‌ها، وزن تر و خشک ریشه، وزن خشک ساقه و درصد اسانس گیاه دارویی ریحان در تیمارهای حاوی ورمی کمپوست مشاهده شد (Rahmanian et al., 2017). بالاترین عملکرد ماده خشک و اسانس در گیاه دارویی مرزه تابستانه در کاربرد کودهای زیستی حاصل شد (Habibzadeh et al., 2019). کاربرد کود زیستی نیتروکسین موجب افزایش عملکرد وزن

1. Plant Growth Promoting Rhizobacteria

خشک، عملکرد اسانس و اجزای اسانس گیاه دارویی مرزه نسبت به شاهد و کود شیمیایی اوره شد (Yazdi et al., 2018). استفاده از کودهای بیولوژیک نیتروکارا، بیوسولفور، فسفاته بارور-۲ محتوی رایزوباکتری‌های محرک رشد، به‌صورت خالص و ترکیب آن‌ها در گیاه به‌لیمو (*Lippia citriodora*) درصد اسانس را نسبت به شاهد افزایش داد (Mohammadi et al., 2013). در طی پژوهشی مهم‌ترین ترکیبات اسانس گیاه دارویی مرزه خوزستان (*Satureja khuzistanica* Jamzad) بالای ۹۶ درصد اسانس را شامل می‌شد که ترکیبات کارواکرول و گاماترپینن بود که این ترکیبات تحت اثر کودهای زیستی قرار گرفتند (Noosh Kam et al., 2015). در مطالعه‌ای گزارش شده است که کودهای بیولوژیک عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی مرزه تابستانی را تحت تأثیر قرار داد و بیش‌ترین میزان اجزای اسانس از جمله گاماترپینن، تیومول، لیمونن و آلفاترپینین مربوط به تلقیح توأم سه باکتری آزوسپریلیوم، ازتوباکتر و سودوموناس بود (Faraji Mehmani et al., 2015). هم‌چنین گزارش شد که عملکرد اسانس، زیست توده و هم‌چنین میزان مواد مؤثره گیاه دارویی ریحان تحت اثر ورمی‌کمپوست افزایش دو برابری داشت (Banchio et al., 2009). در گزارش جباری و همکاران (Jabari et al., 2012) کاربرد کود شیمیایی نیتروژن موجب کاهش درصد اجزای اسانس آویشن از جمله کارواکرول و تیمول نسبت به عدم استفاده از کود شیمیایی شد. گیاه دارویی مرزه تابستانی از جمله گیاهانی است که در طب ایرانی و مکمل مورد استفاده قرار می‌گرفته است. با مدیریت صحیح حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه می‌توان ضمن حفظ محیط زیست، افزایش کیفیت آب، کاهش فرسایش و حفظ تنوع بیولوژیک، کارایی نهاده‌های گیاهان دارویی را افزایش داد. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر کود بیولوژیک تیوباسیلوس و کود شیمیایی بر خصوصیات رشدی و ترکیب‌های اسانس گیاه دارویی مرزه تابستانی انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی واقع در ۳ کیلومتری شهر گلمکان توابع شهرستان چناران استان خراسان رضوی طی سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ انجام گرفت و آزمایش‌های آن در تابستان ۱۳۹۸ در دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. این مزرعه تحقیقاتی دارای عرض جغرافیایی ۳۶/۵۰ و طول جغرافیایی ۵۹/۱۷ و ارتفاع از سطح دریا ۱۳٤٦ متر بود. میانگین بارندگی سالیانه در منطقه حدود ۲۳۰ میلی‌متر، حداکثر درجه حرارت مطلق آن ٤۰/۱ و حداقل دمای مطلق آن ۱۲/٤- و متوسط دمای سالانه ۲۱/۳ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (داده‌های هواشناسی استان خراسان رضوی، ۱۳۹۷/۹۸). خصوصیات خاک مزرعه تحقیقاتی در جدول (۱) ارائه شده است.

جدول ۱: مشخصات خاک محل اجرای آزمایش

عمق (cm)	اسیدیته (pH)	هدایت الکتریکی (ds/m)	کربن آلی (٪)	ازت (٪)	پتاسیم (ppm)	فسفر (ppm)	رس (٪)	سیلت (٪)	شن (٪)
۳۰- ۰	۷/٦۹	۰/۹۲	۲/۹	۰/٤۹	۳۲۵	۷/۰۵	۳۰	۳۰	٤۰

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل سه سطح کود بیولوژیک تیوباسیلوس (۰، ۵ و ۱۲ کیلوگرم در هکتار به‌ترتیب A_1، A_2 و A_3) و کود شیمیایی (NPK) در سه سطح (۰، ۳۵ و ۷۰ کیلوگرم در هکتار به‌ترتیب B_1، B_2 و B_3) بود. در نیمه دوم اسفند ماه ۱۳۹۷ ابتدا بذرها در گلدان کشت و نشاءها در مرحله ٤ برگی گیاهچه به مزرعه انتقال داده شدند. نشاءها در کرت‌های به طول ۲ متر و عرض ۱/۵ سانتی‌متر قرار گرفته شد که در هر کرت ٤ ردیف ایجاد گردید. فاصله هر کرت با توجه به ابعاد زمین ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد که با آرایش کاشت ۱۵ × ۳۰ سانتی‌متر و عمق کاشت ۳ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. میزان بذر مصرفی بر اساس ۱۲ کیلوگرم در هکتار محاسبه شد. برای آماده‌سازی زمین ابتدا شخم برگردان دار با عمق ۳۰ سانتی‌متر استفاده شد. پس از شخم سبک با عمق کم و دو نوبت دیسک عمود برهم به منظور نرم کردن کلوخه‌ها به کار گرفته شد. در نهایت زمین تسطیح و کرت‌بندی صورت گرفت. کود بیولوژیک تیوباسیلوس و کود شیمیایی (NPK) در سطح کرت‌های مربوطه پخش و با بیل به عمق حدود ۲۰ سانتی‌متر به‌طور کامل با خاک مخلوط شد. کود بیولوژیک تیوباسیلوس (*Thiobacillus Bacteria*) و کود شیمیایی از شرکت دانش بنیان تمیشه گرگان تهیه گردید.

جدول ۲: نتایج تجزیه کود بیولوژیک تیوباسیلوس

عمق (cm)	اسیدیته (pH)	هدایت‌الکتریکی (ds/m)	کربن آلی (٪)	ازت (٪)	پتاسیم (ppm)	فسفر (ppm)	کلسیم (ppm)	آهن (ppm)	منگنز (ppm)	روی (ppm)	مس (ppm)
۰ -۳۰	٦/۳۳	۱/۲	۱۳/٦۰	۱/۲۲	۳٤۱	۹/۵	۹/۵	۲۰۱۰	۸٤/۳	۲۹۰	۲۰

مواد شیمیایی و استانداردها از شرکت‌های مرک آلمان[1] و سیگما امریکا[2] تهیه شدند. به منظور بررسی وضعیت کود بیولوژیک تیوباسیلوس خصوصیات آن در آزمایشگاه خاک‌شناسی مشهد تعیین شد (جدول ۲). دور آبیاری هفته‌ای یک بار با توجه به نیاز آبی گیاه، بافت و ساختمان خاک و شرایط اقلیمی و به‌صورت قطره‌ای بود.

تهیه مواد گیاهی: جمع‌آوری برگ‌های گیاه دارویی مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.) در مرحله گلدهی مزرعه انجام گرفت. در هر کرت دو ردیف کناری و یک بوته از ابتدا و انتهای کرت به‌عنوان اثر حاشیه‌ای حذف شد. سپس مقدار ۳۰۰ گرم از توده نهایی از هر کرت برداشت و پس از توزین و به‌منظور حفظ کمیت و کیفیت اسانس گیاه، نمونه‌های مذکور در دمای اتاق و در سایه خشک شدند و سپس برای تعیین درصد اسانس به آزمایشگاه منتقل شدند (Rezvani Moghaddam et al., 2013). برگ‌های خشک شده با آسیاب برقی مدل توس شکن خراسان پودر شدند. نمونه‌های پودر شده تا زمان انجام آزمایشات کیفی در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد یخچال نگهداری شدند.

اندازه‌گیری خصوصیات مورفولوژیکی: در طول دوره رویش یادداشت برداری و بعد از برداشت محصول نمونه‌برداری از ۲ ردیف وسط با حذف دو ردیف حاشیه‌ای انجام گردید. تعداد پنج بوته به‌طور تصادفی انتخاب و ویژگی‌های مورفولوژیکی تعیین

1. Merck (Darmstadt, Germany)
2. Sigma (St. Louis, MO, USA)

شدند. صفات اندازه‌گیری شده شامل: ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی در بوته، تعداد گره در ساقه اصلی، تعداد و مساحت برگ ها (مساحت برگ به وسیله دستگاه تعیین سطح برگ[1] ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد) و وزن تر و خشک، در تیمارهای مختلف بودند.

استخراج اسانس: استخراج اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر با آب مقطر به روش تقطیر انجام شد و برای این کار مقدار ۳۰۰ گرم از نمونه‌های آسیاب شده پس از توزین، درون بالن اسانس‌گیری دستگاه کلونجر ساخت کشور انگلستان ریخته شد و تا دو سوم حجم آن آب مقطر اضافه گردید. اسانس‌گیری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤ ساعت انجام شد. اسانس بدست آمده از هریک از تیمارهای آزمایش و شاهد در ویال‌های استریل که با فویل آلومینیم پوشانده شده بود و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد.

تعیین دانسیته اسانس: ابتدا وزن سرنگ انسولین توسط ترازوی دیجیتال سنجیده شد. مقدار یک میلی‌لیتر اسانس را با سرنگ انسولینی که در مرحله قبل وزن شده بود برداشته و دوباره وزن گردید. تفاوت وزن‌ها نشان‌دهنده جرم اسانس بود. دانسیته اسانس بر حسب گرم بر میلی‌لیتر (جرم واحد حجمی) محاسبه گردید. برای بررسی درصد دانسیته اسانس حاصل از هر یک از تیمارها از رابطه (۱) استفاده شد:

رابطه (۱):

درصد دانسیته اسانس = (وزن خشک برگ / وزن اسانس) × ۱۰۰

شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس با استفاده از آنالیز گاز- کروماتوگرافی/ اسپکترومتری جرمی (GC-MS): شناسایی و تعیین درصد ترکیب‌های موجود در اسانس استخراج شده توسط دستگاه جی سی مس[2] انجام شد. دستگاه گاز کروماتوگرافی جرمی استفاده شده از نوع Agilent ۵۹۷۵ با ستونی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5ms بود. برنامه دمایی ستون به این صورت تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، افزایش دما تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه در هر دقیقه، ۱۰ دقیقه توقف در دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد. دمای اتاقک تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۱/۱ میلی‌متر در دقیقه استفاده گردید. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزارهای JMP 8 (SAS Campus Drive, Cary, NC 27513) و Sigma Plot 12.0 استفاده شد. مقایسه میانگین با آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته: طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثر کود بیولوژیک تیوباسیلوس، کود شیمیایی و اثر متقابل

1. Area matter

2. GC-MS

آنها در سطح احتمال ۵ درصد بر صفت ارتفاع بوته گیاه دارویی مرزه تابستانه معنی‌دار گردید (جدول ۳). این امر می تواند به دلیل تأمین متعادل و رفع نیاز مرزه در نتیجه کاربرد کود بیولوژیک تیوباسیلوس باشد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کاربرد توأم کودهای بیولوژیک و شیمیایی موجب افزایش ارتفاع بوته نسبت به سطح شاهد شد. به‌طوریکه بیشترین ارتفاع بوته (۴۸/۸ سانتی‌متر) مربوط به تیمار کود بیولوژیک تیوباسیلوس و کود شیمیایی بود. ارتفاع بوته (۱۲/۳ سانتی‌متر) در تیمار شاهد کم‌ترین مقدار را داشت (جدول ٤).

جدول ۳: تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.)

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته	تعداد برگ	سطح برگ	وزن تر	وزن خشک	دانسیته اسانس
تکرار	۲	۰/۲۵^{ns}	۰/۱٤*	۱/۷۰*	۰/۱۵*	۰/۰۹*	۰/۰۵*
کود بیولوژیک تیوباسیلوس	۲	۰/۱۲*	۱۵/۱۰*	۱٦۸/۱۵*	۰/٦٦*	۰/۱۰*	٤/۳۳*
کود شیمیایی (NPK)	۲	۱/٤۲*	۲۱/۳۰*	۱۷۳/۱۰*	۰/۹۰*	۰/۲۱*	۳/۰٦*
کود بیولوژیک × کود شیمیایی	۲	۲۲۸/۹۰*	۹۳/۵۰*	۲۰۷/۵۲*	۳/۱۸*	۲/۱۰*	۰/۱۲*
خطا	۲۱	۰/۱۵*	۰/۱۰*	۰/۱۲*	۰/۲۲*	۰/۳۰*	۰/۳۳*
ضریب تغییرات		۱/۳۵	۲/۰۵	۰/۳۰	۱۰/۸٤	٦/۷۰	۷/٤۳

* معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ^{ns} غیر معنی‌دار

تعداد برگ: در پژوهش حاضر اثر تیمارهای کودی و هم‌چنین اثر متقابل کود بیولوژیک در کود شیمیایی در بررسی صفت تعداد برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). بنابر نتایج حاصله از مقایسات میانگین تیمارهای کود اثر افزایشی در تعداد برگ مرزه داشتند. به‌طوریکه بیشترین و کمترین تعداد برگ به ترتیب مربوط به تیمار ترکیب همزیستی کود بیولوژیک تیوباسیلوس و کود شیمیایی در سطح ۳ و شاهد به ترتیب با میانگین‌های (٤۷/۲ تعداد برگ در شاخه) و (۹/۳ تعداد برگ در شاخه) بود (جدول ٤).

سطح برگ: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطح برگ در اثر کاربرد کودبیولوژیک، کود شیمیایی و اثر متقابل این دو تفاوت آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشتند (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که کودهای زیستی با ترکیب کود شیمیایی موجب افزایش سطح برگ می‌شوند. پهن‌ترین برگ در تیمار سطح سه کود بیولوژیک تیوباسیلوس و کود شیمیایی با میانگین ٦/٦ سانتی‌متر و کوچکترین برگ در نمونه‌های شاهد با میانگین ۱/۳ سانتی‌متر به دست آمد (جدول ٤).

وزن تر بوته: وزن‌تر بوته مرزه تحت تأثیر کود بیولوژیک تیوباسیلوس، کود شیمیایی و اثر متقابل کود بیولوژیک تیوباسیلوس در کود شیمیایی در سطح احتمال ۵ درصد قرار گرفت (جدول ۳). تیمار سطح سه از هر دو کود با مقدار وزن تر بوته ۱۲/۲ گرم بهترین عملکرد وزنی را نشان داد. همچنین در نمونه‌های شاهد کم‌ترین وزن تر بوته ۷/۱ گرم مشاهده گردید. به‌طوری که با دخالت مقادیر سطح دو و سه کود بیولوژیک تیوباسیلوس به کود شیمیایی افزایش یافت (جدول ٤).

وزن خشک بوته: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارهای کودی و اثر متقابل آن‌ها بر وزن خشک بوته مرزه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شدند (جدول ۳). عدم مصرف کود بیولوژیک تیوباسیلوس و کود شیمیایی موجب کاهش در وزن خشک بوته گردید. این در حالی بود که مصرف توام کود بیولوژیک تیوباسیلوس و کود شیمیایی در سطوح مختلف، افزایش وزن خشک بوته را به همراه داشت. بالاترین وزن خشک در تیمار سطح سه کود بیولوژیک تیوباسیلوس و کود شیمیایی (۹/۷ گرم)، و کم‌ترین آن در نمونه‌های شاهد (۲/٤ گرم) اندازه‌گیری شد (جدول ٤).

جدول ٤: مقایسه میانگین اثر متقابل کود تیوباسیلوس و کود شیمیایی بر صفات اندازه‌گیری شده مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.)

ترکیب تیماری کود تیوباسیلوس × کود شیمیایی	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	تعداد برگ	سطح برگ	وزن تر بوته (گرم)	وزن خشک بوته (گرم)
A_1B_1	۱۲/۳g	۹/۳g	۱/۳f	۷/۱fg	۲/٤h
A_1B_2	۲٤/۱d	۱۷/۵de	۲/۹d	۸/۹de	۵/۳e
A_1B_3	۲۹/۲c	۲۰/۵d	۳/۳cd	۹/۵d	٦/۷d
A_2B_1	۱۵/٦ef	۱۱/٤f	۱/۹e	۷/۸f	۳/۵g
A_2B_2	۳۱/۱c	۲۲c	٤/۳c	۱۰/۲c	۷/۳c
A_2B_3	۳۸/۳b	۲۷/۲b	۵/۷b	۱۱/۷b	۸/۸b
A_3B_1	۱۹e	۱٤/۱e	۲/٤de	۸/۲e	٤/٦f
A_3B_2	۳٦/٤bc	۲٦/۹bc	٤/۹bc	۱۰/۹bc	۸/۰bc
A_3B_3	٤۸/۸a	٤۷/۲a	٦/٦a	۱۲/۲a	۹/۷a

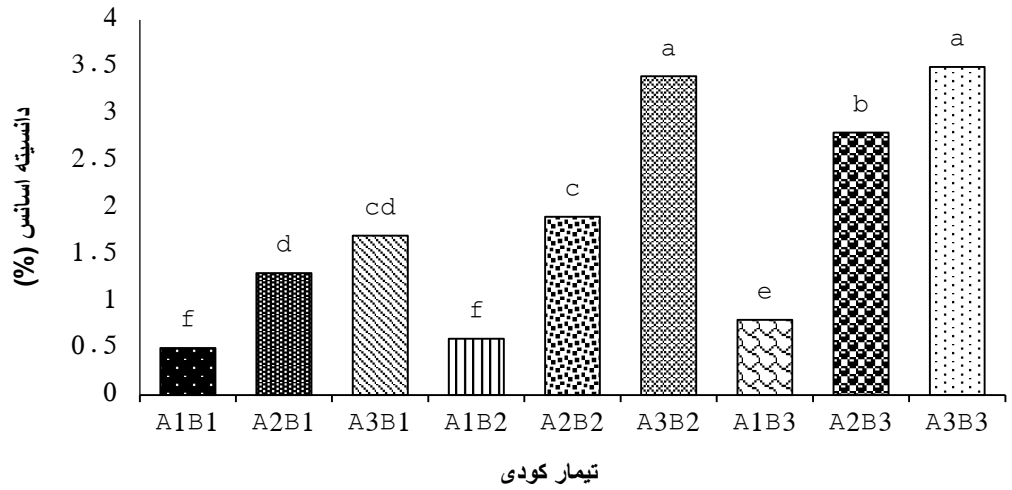
میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

(A_1B_1): شاهد، (A_1B_2): کود شیمیایی سطح ۲، (A_1B_3): کود شیمیایی سطح ۳.

(A_2B_1): کود بیولوژیک سطح ۲، (A_2B_2): کود بیولوژیک سطح ۲×کود شیمیایی سطح ۲، (A_2B_3): کود بیولوژیک سطح ۲× کود شیمیایی سطح ۳

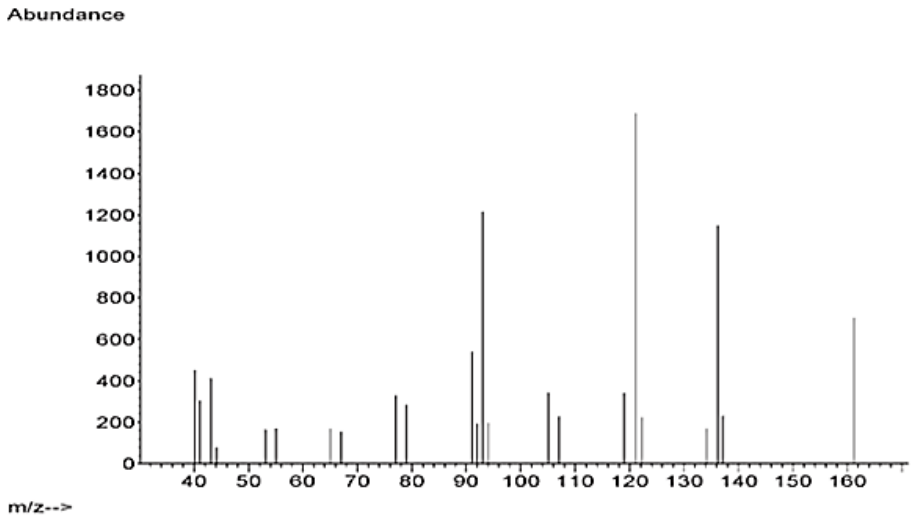
(A_3B_1): کود بیولوژیک سطح ۳، (A_3B_2): کود بیولوژیک سطح ۳× کود شیمیایی سطح ۲، (A_3B_3): کود بیولوژیک سطح ۳× کود شیمیایی سطح ۳

نتایج صفات کیفی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس (میانگین مربعات) نشان داد که کاربرد کود بیولوژیک تیوباسیلوس، کود شیمایی و اثر متقابل آنها بر دانسیته اسانس در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۵). مقایسه میانگین دانسیته اسانس در میان تیمارهای مختلف نشان داد که مقدار اسانس از ۰/۵۲ درصد در نمونه‌های شاهد تا ۳/٦۷ درصد در تیمار سطح سه کود بیولوژیک تیوباسیلوس و کود شیمیایی متغیر بود. در سطوح تیماری شاهد و کود شیمیایی کم‌ترین دانسیته اسانس مشاهده شد. کاربرد توأم کود بیولوژیکی و کود شیمیایی بیش‌ترین تأثیر را بر دانسیته اسانس با میانگین ۳/٦۷ درصد داشت و با افزایش سطوح کود زیستی و شیمیایی درصد دانسیته اسانس نیز بیش‌تر شد (شکل ۱).

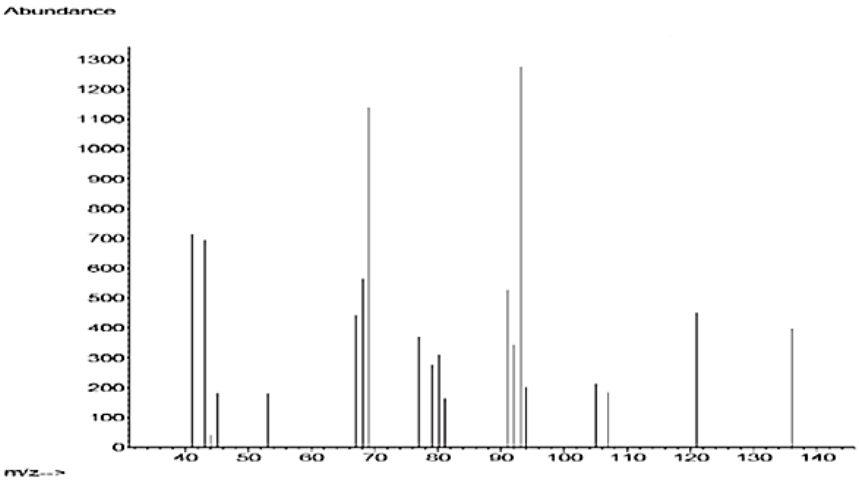


شکل ۱: مقایسه میانگین دانسیته اسانس تیمارهای مختلف (A_1B_1): شاهد، (A_1B_2): کود شیمیایی سطح ۲، (A_1B_3): کود شیمیایی سطح ۳، (A_2B_1): کود بیولوژیک سطح ۲، (A_2B_2): کود بیولوژیک سطح ۲×کود شیمیایی سطح ۲، (A_2B_3): کود بیولوژیک سطح ۲× کود شیمیایی سطح ۳، (A_3B_1): کود بیولوژیک سطح ۳، (A_3B_2): کود بیولوژیک سطح ۳× کود شیمیایی سطح ۲، (A_3B_3): کود بیولوژیک سطح ۳× کود شیمیایی سطح ۳)

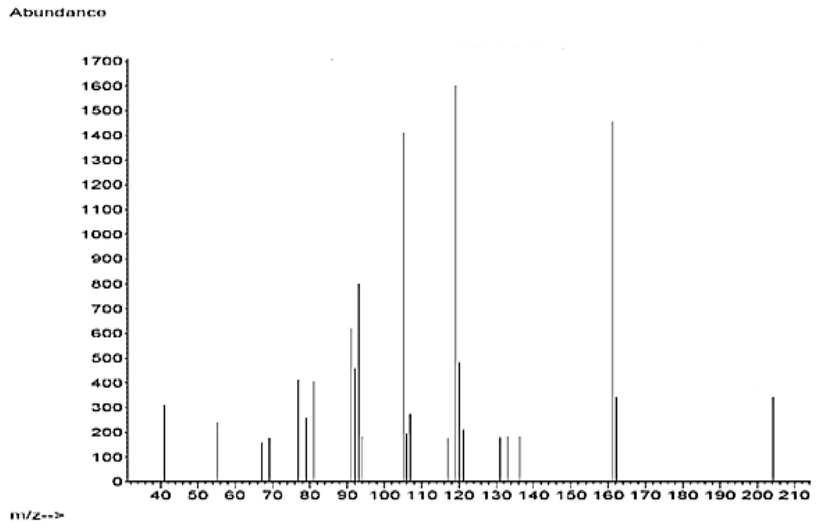
شناسایی و درصد ترکیب‌ها شیمیایی اسانس در تیمارهای مختلف کودی: کروماتوگرام حاصل از شناسایی و درصد ترکیب ها شیمیایی اسانس در شکل‌های (۲، ۳ و ٤) آورده شده است. طبق جدول‌های (۵) و (٦)، از میان ۳۵ ترکیب شناسایی شده در اسانس گیاه دارویی مرزه تابستانی، اجزای اصلی اسانس به ترتیب کارواکرول و گاماترپینن بودند. بیش‌ترین میزان این دو ترکیب شیمیایی به ترتیب در تیمارهای A_3B_3، A_2B_3، A_3B_2، A_2B_2، A_1B_3، A_1B_2، A_3B_1، A_2B_1 و A_1B مشاهده گردید. درصد افزایش میزان مقادیر ترکیب‌ها شیمیایی اسانس در دو ترکیب گاماترپینن و کارواکرول بیشتر از سایر ترکیب‌ها بود. گاماترپینن از ۱۷/۲ درصد در نمونه شاهد به ۱۹/۰٤ درصد در تیمار A_3B_3 رسید. این در حالی است که درصد ترکیب اصلی کارواکرول در نمونه شاهد برابر ٦۰/۱ درصد و در تیمار A_3B_3 ٦۲/۱۰ درصد بود. علاوه بر تغییر در میزان ترکیب‌های اصلی در ترکیب‌های جزئی هم تفاوت‌هایی مشاهده شد. مقادیر برخی از ترکیب‌ها در نمونه‌های شاهد و تیمارهای کودی فاقد تیوباسیلوس زیر ۰/۰۵ درصد (tr) بود، که با اضافه کردن سطوح مختلف کود تیوباسیلوس مقادیر آن‌ها به بالاتر از این حد رسید. از طرفی مجموع مقادیر ترکیب‌ها شیمیایی اسانس از ۸۸/۹ درصد در نمونه شاهد تا ۹۸/۳٦ درصد در تیمار A_3B_3 متغیر بود. میزان سایر ترکیبات اسانس دارای تغییرات اندک بوده، به‌طوری که در تیمارهای مختلف، تفاوت چندانی در میزان آنها ایجاد نشده و بیش‌ترین تغییرات در میزان ترکیبات اصلی اسانس دیده می‌شود.



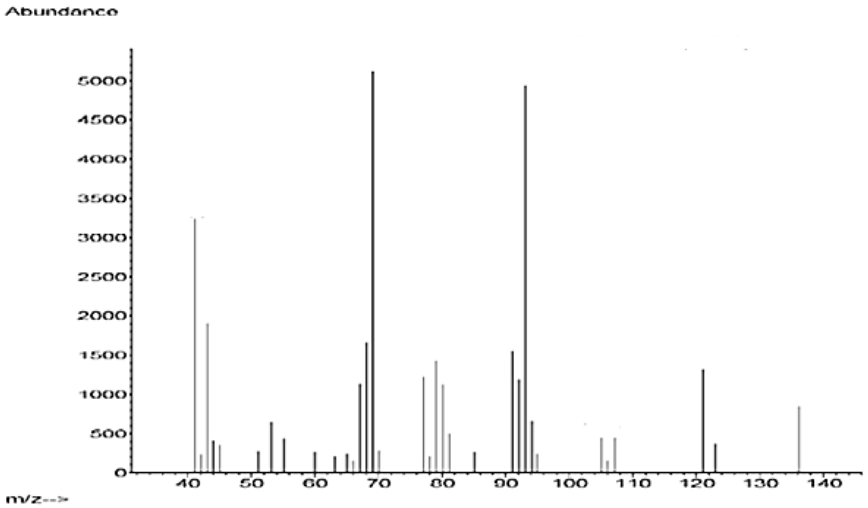
شکل ۱: کروماتوگرام جرمی اسانس گیاه دارویی مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.) تیمارهای (A1B1)، (A1B2) و (A1B3)



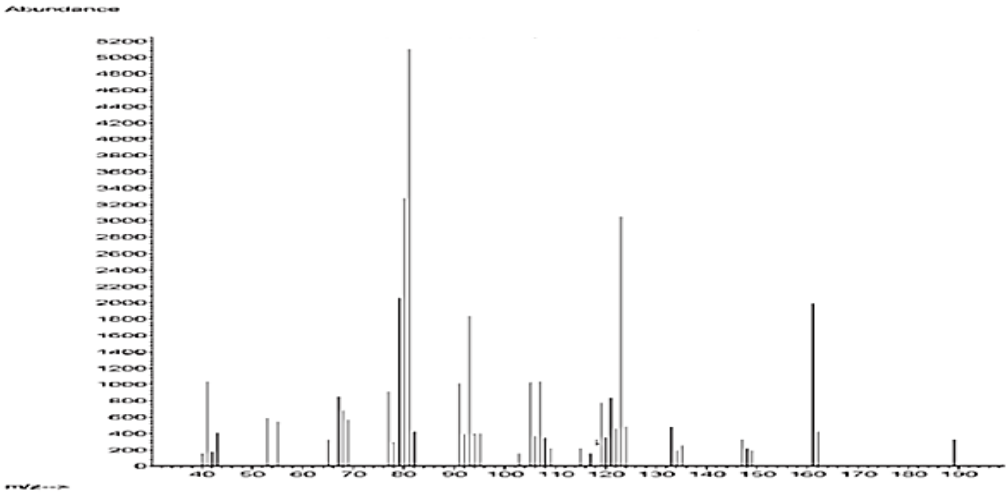
شکل ۲: کروماتوگرام جرمی اسانس گیاه دارویی مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.) تیمارهای (A2B1) و (A2B2)



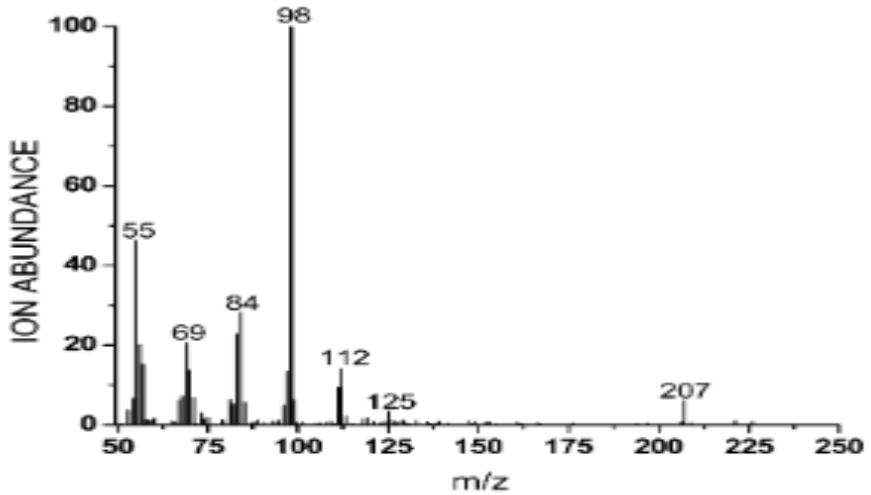
شکل ۳: کروماتوگرام جرمی اسانس گیاه دارویی مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.) تیمار (A2B3)



شکل ٤: کروماتوگرام جرمی اسانس گیاه دارویی مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.) تیمار (A3B1)



شکل ٥: کروماتوگرام جرمی اسانس گیاه دارویی مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.) تیمار (A3B2)



شکل ٦: کروماتوگرام جرمی اسانس گیاه دارویی مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.) تیمار (A_3B_3)

جدول ۵: درصد اجزای موجود در اسانس مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.) تحت تیمارهای کودی (برحسب وزنی–وزنی)

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد وزنی در تیمار شاهد $(A_1B_1)^*$	شاخص بازداری	درصد وزنی در تیمار $(A_2B_1)^*$	شاخص بازداری	درصد وزنی در تیمار $(A_3B_1)^*$	شاخص بازداری	درصد وزنی در تیمار $(A_1B_2)^*$
۱	α-Thujene	۹۳۰	۱/۱	۹۳۰	۱/۱	۹۳۱	۱/۳	۹۳۲	۱/۳۳
۲	α-Pinene	۹۳۹	۰/۵	۹۳۹	۰/۵	۹۳۹	۰/٦	۹٤۰	۰/٦۱
۳	Camphene	۹۵۰	tr	۹۵۰	tr	۹۵۰	tr	۹۵۰	tr
٤	Sabinene	۹۷۵	tr	۹۷۵	tr	۹۷۵	tr	۹۷۵	tr
۵	β-Pinene	۹۷۷	tr	۹۷۷	tr	۹۷۷	tr	۹۷۷	tr
٦	Myrcene	۹۹۳	۱/۲	۹۹٤	۱/۵	۹۹۵	۱/٦	۹۹۷	۱/٦۳
۷	α-Phellandrene	۱۰۰۳	۰/۲	۱۰۰۳	۰/۲	۱۰۰٤	۰/۲۲	۱۰۰٦	۰/۲۵
۸	δ-3-Carene	۱۰۰۹	tr	۱۰۰۹	tr	۱۰۰۹	tr	۱۰۰۹	tr
۹	α-Terpinene	۱۰۱۸	۳/۱	۱۰۱۹	۳/۳	۱۰۱۹	۳/۳	۱۰۲۰	۳/۳۳
۱۰	ρ-Cymene	۱۰۲۷	۲/۱	۱۰۲۷	۲/۱	۱۰۲۷	۲/۱	۱۰۲۹	۲/۱٤
۱۱	β-Phellandrene	۱۰۳۱	۰/۳	۱۰۳۱	۰/۳	۱۰۳۳	۰/٤	۱۰۳۵	۰/٤۱
۱۲	1,8-Cineol	۱۰۳۳	۰/۷	۱۰۳۵	۱/۰۱	۱۰۳۵	۱/۰۱	۱۰۳٦	۱/۰۳
۱۳	*trans*-β-ocimene	۱۰۵۵	tr	۱۰۵۵	tr	۱۰۵۵	tr	۱۰۵۵	tr
۱٤	**γ-Terpinene**	**۱۰٦۳**	**۱۷/۲**	**۱۰٦٤**	**۱۷/٤**	**۱۰٦۵**	**۱۷/۵**	**۱۰٦۸**	**۱۸/۰۱**
۱۵	Terpinolene	۱۰۸۹	tr	۱۰۸۹	tr	۱۰۸۹	tr	۱۰۸۹	tr
۱٦	Methyl benzoate	۱۰۹۵	tr	۱۰۹۵	tr	۱۰۹۵	tr	۱۰۹۵	tr
۱۷	Borneol	۱۱٦۷	tr	۱۱٦۷	tr	۱۱٦۷	tr	۱۱٦۷	tr
۱۸	Terpinen-4-ol	۱۱۷۸	۰/۲	۱۱۷۸	۰/۲	۱۱۸۰	۰/٤	۱۱۸۲	۰/٤۲
۱۹	α-Terpineol	۱۱۸٦	۰/۱	۱۱۸٦	۰/۱	۱۱۸۷	۰/۱۳	۱۱۸۸	۰/۱٤
۲۰	ρ-Cymene-9-ol	۱۲۰۱	tr	۱۲۰۱	tr	۱۲۰۱	tr	۱۲۰۱	tr
۲۱	*iso*-Dihydrocarveol	۱۲۱۰	tr	۱۲۱۰	tr	۱۲۱۰	tr	۱۲۱۰	tr
۲۲	Carvacrol, Methyl ether	۱۲٤٦	۰/۱	۱۲٤٦	۰/۱	۱۲٤٦	۰/۱	۱۲٤۸	۰/۱۱
۲۳	Thymol	۱۲۹۱	۰/۱	۱۲۹۱	۰/۱	۱۲۹۱	۰/۱	۱۲۹۲	۰/۱۲
۲٤	**Carvacrol**	**۱۳۰٤**	**٦۰/۱**	**۱۳۰۷**	**٦۰/٤**	**۱۳۰۸**	**٦۰/۵**	۱۳۱۰	٦۱/۰٤
۲۵	Eugenol	۱۳٦۳	tr	۱۳٦۳	tr	۱۳٦۳	tr	۱۳٦۳	tr
۲٦	Carvacrol acetate	۱۳۷۷	tr	۱۳۷۷	tr	۱۳۷۷	tr	۱۳۷۷	tr
۲۷	β-Caryophyllene	۱٤۱۸	۰/۲	۱٤۱۸	۰/۲	۱٤۱۹	۰/۲۲	۱٤۲۰	۰/۲۵
۲۸	α-*Trans*-bergamotene	۱٤۳۷	tr	۱٤۳۷	tr	۱٤۳۷	tr	۱٤۳۷	tr
۲۹	α-Humulene	۱٤۵۳	tr	۱٤۵۳	tr	۱٤۵۳	tr	۱٤۵۳	tr
۳۰	Unknown	۱٤۵۷	۰/٦	۱٤۵۷	۰/٦	۱٤۵۸	۰/٦۱	۱٤۵۹	۰/٦۲
۳۱	*Trans*-β-Farnesene	۱٤٦۰	tr	۱٤٦۰	tr	۱٤٦۰	tr	۱٤٦۵	۰/۱
۳۲	*Trans*-β-Ionene	۱٤۸۷	tr	۱٤۸۷	tr	۱٤۸۷	tr	۱٤۸۹	۰/۱
۳۳	Bicyclogermacrene	۱٤۹۵	tr	۱٤۹۵	tr	۱٤۹۵	tr	۱٤۹۵	tr
۳٤	β-Bisabolene	۱۵۱۰	۰/۵	۱۵۱۰	۰/۵	۱۵۱۱	۰/۵٤	۱۵۱۳	۰/۵۵
۳۵	β-Sesquifelandrene	۱۵۲۵	tr	۱۵۲۵	tr	۱۵۲۵	tr	۱۵۲۵	tr
مجموع			۸۸/۹		۸۹/٦۱		۹۰/٦۳		۹۲/۱۹

*تیمارها: (A_1B_1): شاهد، (A_2B_1): کود بیولوژیک سطح ۲، (A_3B_1): کود بیولوژیک سطح ۳، (A_1B_2): کود شیمیایی سطح ۲

جدول ٦: درصد اجزای موجود در اسانس مرزه تابستانی (*Satureja hortensis* L.) تحت تیمارهای کودی (برحسب وزنی–وزنی)

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد وزنی در تیمار (A_1B_3)*	شاخص بازداری	درصد وزنی در تیمار (A_2B_2)*	شاخص بازداری	درصد وزنی در تیمار (A_3B_2)*	شاخص بازداری	درصد وزنی در تیمار (A_2B_3)*	شاخص بازداری	درصد وزنی در تیمار (A_3B_3)*
۱	α-Thujene	۹۳۳	۱/۳۵	۹۳۵	۱/٤۰	۹۳٦	۱/٤۲	۹۳۷	۱/٤٥	۹٤۰	۱/٥۱
۲	α-Pinene	۹٤۱	۰/٦۲	۹٤۳	۰/٦٥	۹٤٤	۰/۷۰	۹٤٥	۰/۷۳	۹٤٦	۰/۷٥
۳	Camphene	۹٥۰	tr	۹٥۰	tr	۹٥۱	tr	۹٥۱	tr	۹٥۳	۰/۱
٤	Sabinene	۹۷٥	tr	۹۷٥	tr	۹۷٦	tr	۹۷٦	tr	۹۷۷	۰/۱
٥	β-Pinene	۹۷۷	tr	۹۷۷	tr	۹۷۹	tr	۹۷۹	tr	۹۸۰	۰/۱
٦	Myrcene	۹۹۷	۱/٦۳	۹۹۷	۱/٦۳	۹۸۰	۱/۷۰	۹۸۲	۱/۷۳	۹۸۳	۱/۷٤
۷	α-Phellandrene	۱۰۰٦	۰/۲٥	۱۰۰۹	۰/۳۰	۱۰۱۱	۰/۳٥	۱۰۱٤	۰/٤۰	۱۰۱٥	۰/٤٤
۸	δ-3-Carene	۱۰۰۹	tr	۱۰۱۲	۰/۱	۱۰۱۳	۰/۱۳	۱۰۱٥	۰/۱٥	۱۰۱۷	۰/۲۰
۹	α-Terpinene	۱۰۲۱	۳/۳٤	۱۰۲۲	۳/۳٥	۱۰۲۳	۳/٤۰	۱۰۲٤	۳/٤۲	۱۰۲٥	۳/٤۳
۱۰	ρ-Cymene	۱۰۳۰	۲/۱٥	۱۰۳٥	۲/۲۰	۱۰۳٦	۲/۲۲	۱۰۳۷	۲/۲٥	۱۰۳۸	۲/۳۰
۱۱	β-Phellandrene	۱۰۳٦	۰/٤۲	۱۰۳۸	۰/٤۳	۱۰٤۰	۰/٤٤	۱۰٤۱	۰/٤٥	۱۰٤۳	۰/٥۰
۱۲	1,8-Cineol	۱۰۳۷	۱/۰٤	۱۰۳۹	۱/۰٥	۱۰٤۰	۱/۱۰	۱۰٤۳	۱/۱٥	۱۰٤٥	۱/۲۱
۱۳	trans-β-ocimene	۱۰٥٥	tr	۱۰٥٦	tr	۱۰٥۷	tr	۱۰٥۸	۰/۱	۱۰٥۹	۰/۱۳
۱٤	γ-Terpinene	**۱۰٦۹**	**۱۸/۰۳**	**۱۰۷۳**	**۱۸/۱۱**	**۱۰۷٥**	**۱۸/۱٥**	**۱۰۷۸**	**۱۸/۲۰**	**۱۰۸۰**	**۱۹/۰٤**
۱٥	Terpinolene	۱۰۸۹	tr	۱۰۹۰	tr	۱۰۹۲	tr	۱۰۹۳	۰/۱	۱۰۹٤	۰/۱۲
۱٦	Methyl benzoate	۱۰۹٥	tr	۱۰۹٥	tr	۱۰۹٦	۰/۱	۱۰۹۷	۰/۱٥	۱۱۰۰	۰/۲۰
۱۷	Borneol	۱۱٦۷	tr	۱۱٦۸	tr	۱۱۷۰	۰/۱	۱۱۷۱	۰/۱۳	۱۱۷۲	۰/۱٤
۱۸	Terpinen-4-ol	۱۱۸۳	۰/٤٤	۱۱۸٥	۰/٤٥	۱۱۸٦	۰/٥۰	۱۱۸۷	۰/٥٥	۱۱۹۰	۰/٦۰
۱۹	α-Terpineol	۱۱۸۹	۰/۱٥	۱۱۹۰	۰/۲۱	۱۱۹۱	۰/۲۲	۱۱۹۳	۰/۲٥	۱۱۹۷	۰/۳۰
۲۰	ρ-Cymene-9-ol	۱۲۰۱	tr	۱۲۰۲	tr	۱۲۰۲	tr	۱۲۰۲	tr	۱۲۰۲	tr
۲۱	iso-Dihydrocarveol	۱۲۱۰	tr	۱۲۱۰	tr	۱۲۱۱	tr	۱۲۱۱	tr	۱۲۱۱	tr
۲۲	Carvacrol, Methyl ether	۱۲٤۹	۰/۱۲	۱۲٥۳	۰/۱٥	۱۲٥٤	۰/۲۰	۱۲٥٥	۰/۲۳	۱۲٥٦	۰/۲٥
۲۳	Thymol	۱۲۹٤	۰/۱۳	۱۲۹٥	۰/۱٥	۱۲۹۸	۰/۲۰	۱۲۹۹	۰/۲۳	۱۳۰۰	۰/۲٥
۲٤	Carvacrol	**۱۳۱۳**	**٦۱/۱۱**	**۱۳۱٥**	**٦۱/۲۰**	**۱۳۱۸**	**٦۱/٤۰**	**۱۳۲۱**	**٦۱/٥٥**	**۱۳۲٦**	**٦۲/۱۰**
۲٥	Eugenol	۱۳٦۳	tr	۱۳٦٥	۰/۱	۱۳٦٦	۰/۱۳	۱۳٦۷	۰/۱٥	۱۳٦۹	۰/۲۰
۲٦	Carvacrol acetate	۱۳۷۷	tr	۱۳۷۷	tr	۱۳۷۷	tr	۱۳۷۷	tr	۱۳۷۷	tr
۲۷	β-Caryophyllene	۱٤۲۰	۰/۲٥	۱٤۲۲	۰/۳۰	۱٤۲۳	۰/۳۰	۱٤۲٤	۰/۳۳	۱٤۲٦	۰/۳٥
۲۸	α-Trans-bergamotene	۱٤۳۷	tr	۱٤۳۷	tr	۱٤۳۷	tr	۱٤۳۷	tr	۱٤۳۸	۰/۱
۲۹	α-Humulene	۱٤٥۳	tr	۱٤٥۳	tr	۱٤٥۳	tr	۱٤٥۳	tr	۱٤٥٥	۰/۱
۳۰	Unknown	۱٤٥۹	۰/٦۲	۱٤٦۰	۰/٦۳	۱٤٦۱	۰/٦٤	۱٤٦۲	۰/٦٥	۱٤٦٥	۰/۷۰
۳۱	Trans-β-Farnesene	۱٤٦٥	۰/۱	۱٤٦٦	۰/۱۲	۱٤٦۷	۰/۱۳	۱٤٦۸	۰/۱٥	۱٤٦۹	۰/۲۰
۳۲	Trans-β-Ionene	۱٤۹۰	۰/۱٤	۱٤۹۲	۰/۱٥	۱٤۹۲	۰/۱٥	۱٤۹٥	۰/۲۰	۱٤۹۷	۰/۲٥
۳۳	Bicyclogermacrene	۱٤۹٥	tr	۱٤۹٥	tr	۱٤۹٥	tr	۱٤۹٥	tr	۱٤۹۹	۰/۱
۳٤	β-Bisabolene	۱٥۱٥	۰/٦۰	۱٥۱۸	۰/٦۲	۱٥۲۰	۰/٦٥	۱٥۲٤	۰/۷۰	۱٥۲٥	۰/۷۳
۳٥	β-Sesquifelandrene	۱٥۲٥	tr	۱٥۲٥	tr	۱٥۲٥	tr	۱٥۲٦	۰/۱	۱٥۲۸	۰/۱۲
	مجموع		۹۲/٥		۹۳/۳		۹٤/۳۳		۹٥/٥۰		۹۸/۳٦

*تیمارها: (A_1B_3): کود شیمیایی سطح ۳. (A_2B_2): کود بیولوژیک سطح ۲ × کود شیمیایی سطح ۲، (A_3B_2): کود بیولوژیک سطح ۳ × کود شیمیایی سطح ۲، (A_2B_3): کود بیولوژیک سطح ۲ × کود شیمیایی سطح ۳، (A_3B_3): کود بیولوژیک سطح ۳ × کود شیمیایی سطح ۳

بحث

ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) قادرند تا از طریق تولید و ترشح مواد تنظیم کننده رشد مثل اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها باعث افزایش درصد جوانه زنی بذرها، ریشه زایی و گسترش ریشه شده و از این طریق با فراهم نمودن عناصر غذایی مورد نیاز گیاه از جمله نیتروژن و فسفر سبب افزایش رشد گیاه شوند (Khaled et al., 2011). استفاده تلفیقی از کود بیولوژیک تیوباسیلوس در دو سطح مورد استفاده به همراه کود شیمیایی منجر به افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته گیاه مرزه گردید. یکی از عوامل تعیین کننده ارتفاع گیاه، تأمین مواد غذایی مورد نیاز گیاه است، کودهای آلی، با تأمین تدریجی عناصر غذایی این عمل را به خوبی انجام داده و باعث افزایش ارتفاع بوته گیاه می‌شوند. در پژوهشی غلامی شرفخانه و همکاران (Gholami Sharafkhane et al., 2015) ضمن بررسی اثر کود بیولوژیک و کود شیمایی بر خصوصیات مورفولوژیکی گیاه دارویی مرزه گزارش نمودند که کاهش ارتفاع گیاه مزره در عدم کاربرد کود بیولوژیک مشاهد شد و تلقیح با کود زیستی باعث افزایش ارتفاع بوته شد که با نتایج این تحقیق نیز هم‌خوانی داشت. همچنین در برخی منابع نیز به تأثیر مثبت کودهای بیولوژیک در رشد گیاه دارویی مرزه تابستانه (Yazdi et al., 2018)، ریحان (Rahmanian et al., 2017) و مرزه خوزستانی (Noosh Kam et al., 2015) گزارش شده است. همچنین گزارش شد که بیش‌ترین افزایش در ارتفاع بوته گیاه دارویی ریحان در نتیجه مصرف کود آلی ورمی کمپوست (۷ تن در هکتار) مشاهده شد. فراهمی متعادل و آزاد شدن عناصر غذایی در طول دوره رشد گیاه از منابع آلی توانست در بهبود رشد رویشی ریحان نقش مثبتی ایفا کند (Tahami Zarandi et al., 2010).

کود بیولوژیک از طریق افزایش قدرت جذب آب و فراهم نمودن مقدار مطلوب عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف تأثیر مثبتی بر وزن تر و خشک گیاهان دارد (Mafakheri et al., 2011). افزایش وزن تر و خشک بوته مرزه تابستانه با کاربرد تلفیقی کود بیولوژیک و کود شیمیایی نسبت به شاهد و کود شیمیایی مشاهده شد. به نظر می‌رسد کاربرد کود بیولوژیک با تأثیر بر جذب عناصر غذایی باعث افزایش غلظت آن در اندام هوایی مرزه و افزایش رشد و نمو گیاه شده است. منابع معتددی اثر مثبت و افزایشی کاربرد کودهای زیستی بر وزن تر اندام هوایی و عملکرد وزن خشک در گیاهان دارویی مختلف مشاهده کردند که با نتایج این آزمایش نیز مطابقت داشت. بررسی شد که کاربرد کودهای بیولوژیک و ورمی کمپوست باعث افزایش ارتفاع و وزن خشک گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) شد (Naiji and Souri, 2015). گزارش شده است که کودهای بیولوژیک تأثیر مثبتی بر وزن تر بوته، وزن خشک بوته، تعداد و سطح برگ گیاه دارویی انیسون (Zand et al., 2013) و گیاه دارویی مور تلخ (Ghesmati and Moradinezhad, 2019) داشتند. همانطور که نتایج این مطالعه نشان داد کاربرد تلفیقی کود بیولوژیک و کود شیمیایی (NPK) تأثیر مثبتی بر تعداد و سطح برگ گیاه دارویی مرزه داشت که به نظر می‌رسد به دلیل بهبود حاصلخیزی خاک از جمله تأمین عناصر غذایی باشد که سبب بهبود رشد رویشی می‌گردد. نایبجی و سوری (Naiji and Souri, 2015) طی بررسی اثر کودهای بیولوژیک در گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) نتایج مشابهی را در ارتباط با تأثیر مثبت کودهای بیولوژیک بر تعداد و سطح برگ گزارش کردند. هم‌چنین گزارش شد که کاربرد کودهای بیولوژیک نقش مفید و مؤثری در بهبود ویژگی‌های رشد، عملکرد اندام‌های هوایی و

خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*) داشت (Chua et al., 2018). مصرف خاکی قارچ مایکوریزا شاخص‌های مورفولوژیک تعداد و مساحت سطح برگ، وزن خشک برگ، ساقه و ریشه گیاه مرزه را در مقایسه با تیمارهای تلقیح نشده به‌طور معنی‌داری افزایش داد (Esmaielpour et al., 2013). با توجه به این که عملکرد اسانس تابعی از درصد اسانس و وزن خشک می‌باشد، بنابراین هر گونه افزایش در این دو مورد می‌تواند منجربه افزایش عملکرد اسانس تولیدی گردد.

تلفیق کود زیستی تیوباسیلوس و کود شیمیایی تأثیر افزایشی بر میزان اسانس گیاه دارویی مرزه تابستانه داشت. که در نتایج تحقیقی استفاده از ورمی‌کمپوست و کودهای بیولوژیک حاوی ریزموجودات باکتریایی یا قارچی، به تنهایی و یا در ترکیب با یکدیگر، در بهبود عملکرد اسانس و درصد اسانس گیاه دارویی مرزه تأثیر مثبت داشت (Rezvani Moghaddam et al., 2013) که با نتایج این پژوهش نیز هم‌خوانی دارد. همان طور که از نتایج ترکیبات اسانس پیداست دو ترکیب اصلی اسانس مرزه تابستانی شامل کارواکرول و گاماترپینن بیشترین افزایش را در تیمارهای مورد بررسی نشان دادند. میزان سایر ترکیبات اسانس دارای تغییرات اندک بوده، به‌طوری که در تیمارهای مختلف، تفاوت چندانی در میزان آنها ایجاد نشده و بیش‌ترین تغییرات در میزان ترکیبات اصلی اسانس دیده می‌شود. طی آزمایشی ۳۵ ترکیب در اسانس شناسایی شده عمده‌ترین اجزاء موجود در آن، کارواکرول (٪٦٥/٠٤) و گاماترپینن (۲۱/۷۸ درصد) بودند (Mehdizadeh et al., 2012) که طبق نتایج تجزیه اجزای اسانس گیاه مرزه تیمار شاهد این آزمایش، دو ترکیب اصلی اسانس شامل کارواکرول و گاماترپینن دارای بیش‌ترین درصد وزنی بودند. نتایج بدست آمده در این آزمایش با نتایج سایر محققان مطابقت دارد، به‌طوری که نوش‌کام و همکاران (Rezaei et al., 2020) در تحقیقات خود بر گیاه دارویی مرزه تابستانی با اعمال تیمارهای کود آلی جلبک دریایی به‌صورت مصرف در خاک نتیجه گرفتند که بیش‌ترین افزایش درصد و عملکرد اسانس در مصرف ۵ میلی‌لیتر کود جلبک دریایی بدست آمد. هم‌چنین در مطالعه‌ای جهت شناسایی اجزاء تشکیل دهنده اسانس مرزه تانبستانه انجام گرفت نتایج نشان داد که کارواکرول (٦٠/٥ درصد) و گاماترپینن (٢٦/٥ درصد) را به عنوان عمده‌ترین ترکیب‌های موجود در اسانس معرفی کردند که تحت تأثیر کود زیستی قرار گرفتند (Adams et al., 2007) که در نتایج این مطالعه نیز مشاهده شد. طی پژوهش فرجی مهمانی و همکاران (Faraji Mehmany et al., 2015) شاخص‌ترین ترکیب اسانس گیاه دارویی مرزه (*S.thymbra* L.) گاماترپینن که با بیش‌ترین میزان ٥٣/٠٦ درصد مربوط به ترکیب تیمار کود زیستی ازتوباکتر و سودوموناس بود. هم‌چنین نتایج آزمایش احمدیان و همکاران (Ahmadian et al., 2011) در بررسی اثر کود آلی بر میزان اسانس و اجزای اسانس گیاه دارویی زیره سبز نشان داد که ترکیبات گاماترپینن، آلفاپینن، بتاپینن و پاراسیمن تحت تأثیر کود آلی قرار گرفتند و در با نتایج بدست آمده در این آزمایش هم‌خوانی داشت. ترکیبات اجزای اسانس مرزه تابستانی تحت تأثیر تیمارهای کودی قرار گرفت، به‌طوری که کاربرد کود زیستی فسفر و نیتروژن به همراه ۵۰ درصد کود شیمیایی بالاترین میزان کارواکرول (۸۱/۰۳ درصد) را داشت (Makizadehtafti et al., 2011) که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. بنابراین کاربرد کود بیولوژیک نیتروکسین می‌تواند در بهبود صفات مورد بررسی مرزه تابستانی مؤثر بود.

نتیجه‌گیری نهایی

مصرف تلفیقی کود تیوباسیلوس به عنوان راهکاری اکولوژیک در راستای دستیابی به افزایش رشد و تولید کمی و کیفی گیاهان دارویی مد نظر قرار می‌باشد. با توجه به نتایج، استفاده از سطوح ۵ و ۱۲ کیلوگرم در هکتار کود تیوباسیلوس سبب افزایش پارامترهای رشد، وزن تر و خشک برگ، کمیت و کیفیت اسانس مرزه شد. عملکرد اسانس تابعی از درصد اسانس و عملکرد پیکر رویشی می‌باشد. با افزایش وزن خشک برگ تحت ترکیب تیماری کود تیوباسیلوس و کود شیمیایی میزان اسانس نیز افزایش یافت. نتایج نشان داد که تلقیح توأم کود بیولوژیک تیوباسیلوس (۱۲ کیلوگرم در هکتار) و کود شیمیایی (NPK) (۷۰ کیلوگرم در هکتار) دارای بیش‌ترین مقدار صفات مورفولوژیکی و دانسیته اسانس بود و در بین ترکیبات اسانس مرزه نیز بیش‌ترین مقدار کارواکرول (٦٢/١٠ درصد) و گاماترپینن (١٩/٠٤ درصد) در این ترکیب تیماری حاصل شد. کاربرد کودهای زیستی به‌تنهایی و یا در شرایط تلفیقی می‌توانند در کاهش مشکلات ناشی از مصرف کودهای شیمیایی مفید باشد.

References

1. Adams, R.P. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy, 4th edition; Allured Publishing Corporation Carol Stream, USA.
2. Ahmadian, A., Ghanbari, A., Gholavi, M., Siahsar, 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.
3. Alvarenga, P., Farto, M., Mourinha, C. and Palma P. 2016. Beneficial use of dewatered and composted sewage sludge as soil amendments: behaviour of metals in soils and their uptake by plants. Waste and Biomass Valorization, 7: 1189-1201.
4. Banchio, E., Xie, X., Zhang, H. and Pare, P.W. 2009. Vermicompost elevate essential oil accumulation and emissions in sweet basil. Journal Agriculture and Food Chemistry, 57: 653-657.
5. Chua, L.S., Lau, C.H., Chew, C.Y., Ismail, N.I.M. and Soontorngun, N. 2018. Phytochemical profile of Orthosiphonaristatus extracts after storage: Rosmarinic acid and other caffeic acid derivatives.Phytomedicine, 39: 49-55.
6. Esmaielpour, B., Jalilvand, P. and Hadian, J. 2013. Effects of drought stress and arbuscular mycorrhizal fungi on some morphophysiological traits and yield of savory (*Satureja hortensis* L.). Agroecology, 5(2): 169-177.
7. Faraji Mehmany, A., Esmaielpour, B., Sefidkon F., Abbaszadeh B., Khavazi K. and Ghanbari, A.R. 2015. Effects of biofertilizers on growth criteria, quantitative and qualitative yield of summer savory (*Satureja hortensis* L.). Agroecology, 6(4): 870-879.
8. Ghesmati, M. and Moradinezhad, F. 2019. Influence of different levels of organic fertilizers on quantitative and biochemical properties of *Salvia mirzayanii* Rech. F. & Esfand. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 7(2): 78-90.
9. Gholami Sharafkhane, E., Jahan, M., Banayan Avval, M., Koocheki, A. and Rezvani moghaddam, P. 2015. The effect of organic, biological and chemical fertilizers on yield, essential oil percentage and some agroecological characteristics of summer savory (*Satureja hortensis* L.) under Mashhad conditions. Agroecology, 7(2): 179-189.
10. Gong, X., Li, S., Sun, X., Wang, L., Cai, L., Zhang, J. and Wei, L. 2018. Green waste compost and vermicompost as peat substitutes in growing media for

geranium (*Pelargonium zonale* L.) and calendula (*Calendula officinalis* L.). Journal of Scientia Horticulturae, 236: 186-191.

11. Habibzadeh, F., Hazrati, S., Gholam Hosseini, M. and Nikjouyan, M.J. 2019. The effect of nitrogenous biological and chemical fertilizers on summer medicinal plant (*Satureja hortensis* L.). The Second International Conference and the Sixth National Conference on Organic and Conventional Agriculture. Mohaghegh Ardabili University.
12. Jabari, R., Amini Dehaghi, M., Modarres Sanavi, S.A.M., Kordnaiej, A. and Ganji Anjanki, F. 2012. Effects of nitrogen application methods and plant density on growth, yield, essential oil and oil compositions of thyme (*Thymus vulgaris* L.) in temperate and cold regions. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology, 13(1): 31-44.
13. Khaled, H. and Fawy, H. 2011. Effect of different levels of humic acids on the nutrient content, plant growth, and soil properties under conditions of salinity. Soil and Water Research, 6: 21-29.
14. Mafakheri, S., Omidbegi, R., Sefidkon, F. and Rejali, F. 2011. The effect of application of biological fertilizers on some physiological, morphological and essential factors of herb medicine (*Dracocephalum moldavica*). Journal of Iranian Horticultural Science, 42: 245-254.
15. Majidi, A. and Amiri, P. 2013. Biofertilizers of *Mycorrhiza* fungi are a turning point in reducing the effects of environmental stress on crop production. Journal of Engineering and Natural Resources, 11 (42): 21-18.
16. Makizadehtafti, M., Chaichi, M.R. Naghdeibadi, H.A., Soltanimiri, G. and Sadatasilan, K. 2011. The effect of biofertilizers on yield growth and composition of savory essential oil (*Satureja rechingeri* Jamzad). Plant and Ecosystem, 8(2-31): 27-37.
17. Mehdizadeh, M. 2012. Investigation of the effects of essential antioxidants and various extracts of safflower. PhD Thesis in Pharmacy. Faculty of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences.
18. Mohammadi, M., Tobeh, A., Vahidipour, H.R. and Fakhari R. 2013 Effects of biological fertilizers on essential oil components and quantitative and qualitative yield of lemon verbena (*Lippia citriodora*). International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5 (12): 1374-1380.
19. Moradi Marjaneh, A., Glovi, M., Ramroodi, M. and Saloki, M. 2016. Investigation of some quantitative and physiological characteristics of rosemary medicinal plant under the influence of biological and chemical fertilizers in different folds. To agricultural agriculture, 19 (4): 1076-1061.
20. Movahhedkhah, S., Rasouli, B., Seidavi, A., Mazzei, D., Laudadio, V. and Tufarelli, V. 2019. Summer Savory (*Satureja hortensis* L.) extract as natural feed additive in broilers: effects on growth, plasma constituents, Immune Response, and Ileal Microflora. Animals, 9*:* 87- 95.
21. Naiji, M. and Souri, M. 2015. Evaluation of growth and yield of savory (*Satureja hortensis*) under organic and biological fertilizers toward organic production. Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture), 38 (3): 93-103.
22. Noosh Kam, A., Majnoon Hosseini, N., Hadian, J., Jahansuz, M.R., Khavazi, K., Salehnia, A.N. and Hedayatpour, S. 2015. Study of the effect of bio-chemical fertilizers on the quantitative and qualitative characteristics of Khuzestani medicinal plant (*Satureja khuzistanica* Jamzad). Journal of Crop Production, 8 (4): 87-103.
23. Rahmanian, M., Esmaielpour, B., Hadian, J., Shahriari, M.H. and Fatemi, H. 2017. The effect of organic fertilizers on morphological traits, essential oil content and components of Basil (*Ocimum basilicum* L). Agricultural Science and Sustainable Production, 27(3): 103-118.
24. Rezaei, A., Ebadi, M.T. and Pirani, H. 2020. Effect of different levels of

seaweed fertilizer on growth parameters, yield and essential oil content of summer savory (*Satureja hortensis* L.). Journal of Horticultural Science, 33(4): 685-696.

25. Rezaei, R., Valdabadi, S., Shirani Rad, A., Seifzadeh, S. and Hadidi Masouleh, A. 2018. Effects of biological fertilizer application and different amounts of urea fertilizers in conditions of dehydration stress on yield, nitrogen consumption efficiency and active ingredients of marigold (*Calendula officinalis* L.). Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research in Iran, 34: 564-547.
26. Rezvani Moghaddam, P., Aminghafori, A., Bakhshaie, S. and Jafari, L. 2013. The effect of organic and biofertilizers on some quantitative characteristics and essential oil content of summer savory (*Satureja hortensis* L.). Agroecology, 5 (2): 105-112.
27. Ruzzi, M. and Aroca, R. 2015. Plant growthpromoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. Scientia Horticulturae, 6024: 1-11.
28. Šojić, B., Pavlić, B., Tomović, V., Ikonić, P., Zeković, Z., Kocić-Tanackov, S., Durović, S., Škaljac, S., Jokanović, M. and Ivić, M. 2019. Essential oil versus supercritical fluid extracts of winter savory (*Satureja montana* L.) Assessment of the oxidative, microbiological and sensory quality of fresh pork sausages. Food Chemistry, 287: 280-286.
29. Tahami Zarandi, M.K., Rezvani Moghaddam, P. and Jahani, M. 2010. Compared Tasyrkvdhay organic chemical yield and essential oil herbs basil (*Osmium basilicum* L.). Ecological Agriculture, 2: 70.
30. Weisany, W., Raei, Y. and Pertot, I. 2015. Changes in the essential oil yield and composition of dill (*Anethum graveolens* L.) as response to arbuscular mycorrhiza colonization and cropping system. Industrial Crops and Products, 77: 295-306.
31. Yazdi, O., Alaei, Sh. and Rahmany, H. 2018. The effect of nitrogen biological and chemical fertilizers on savory in north of Khuzestan. Journal of Plant Ecophysiology, 10 (33): 23-33.
32. Zand, A., Darzi, M.T. and Haj Seyed Hadi, M.R. 2013. Effects of phosphate solubilizing microorganisms and plant density on seed yield and essential oil content of anise (*Pimpinella anisum*). Middle-East Journal of Scientific Research, 14: 340-346.

Evaluation the effects of *Thiobacillus* biological and chemical fertilizers on morphological and phytochemical characteristics of *Satureja hortensis* L.

Ghaderi, A.[1*], Noee, A.[2], Ahmadi, Kh.[3], Sabouri Fard, H.[4]

[1]Department of Plant Production Engineering, Faculty of Agriculture, Technical and Vocational University of Khorasan Razavi Province.

[2]PhD student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shirvan Branch, Islamic Azad University, Khorasan Razavi Province

[3]PhD student in Plant Physiology, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University. Tehran

[4]Department of Plant Production Engineering, Faculty of Agriculture, Technical and Vocational University of Khorasan Razavi province

Received: 11-5-2020; Accepted: 12-9-2020

Abstract

Satureja hortensis L. is one of the valuable plants belonging to the Lamiaceae family that its leaves and flowering branches contain essential oil. The aim of this study was to evaluate the effects of *Thiobacillus* biological and chemical fertilizers on morphological and phytochemical characteristics of this plant. The present study was carried out as a factorial experiment based on randomized complete block design with 3 replications in the research farm of Golmakan town in 2019. Experimental treatments included *Thiobacillus* biological fertilizer (0, 5 and 12 kg/ha) and chemical fertilizer (0, 35 and 70 kg/ha). Plant essential oil was extracted from savory leaves at flowering stage by Clevenger apparatus, then the constituents of the essential oil were analyzed by GC-MS. The results showed that all morphological traits of the plant as well as the quality and quantity of the active ingredients of the essential oil were affected by fertilizer treatments. The combined application of biological and chemical fertilizers led to an increase in the studied traits compared to the non-application of fertilizer. The highest plant height (48.8 cm), leaf dry weight (9.7 g) and essential oil density (3.67%) were obtained in the combined use of fertilizers. The two main constituents of savory essential oil including carvacrol (62.10%) and gamaterpinen (19.04%) showed the highest increase in the treatment composition of 12 kg/ha of *Thiobacillus* fertilizer and 70 kg/ha of chemical fertilizer (NPK). Based on the results, we found that combinations of biofertilizer and chemical fertilizer could increase the morphological characteristics, quantity and quality of savory essential oil.

***Keywords*:** Essential oil, *Thiobacillus*, Morphological traits, Biological fertilizer, *Satureja hortensis* L.

[*]Corresponding author; Ghaderi885@yahoo.com