تأثیر نوع بستر کشت، ماده آلی و شوری بر میزان و مواد موثره اسانس گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*)

شیما رحمانیان[۱]، عبدالحسین ابوطالبی جهرمی[۲]* و مهدی حسینی فرهی[۳]

۱-دانشجوی دکتری علوم باغبانی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران.

۲-دانشیار علوم باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران.

۳-دانشیار علوم باغبانی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

* ایمیل نویسنده مسئول: aa84607@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۱۱/٥- تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۱۱/۲۱)

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر نوع بستر کشت، ماده آلی و شوری بر میزان اسانس و مواد موثره بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. فاکتور اول بستر کشت در سه سطح ترکیب کمپوست + خاک زراعی، ورمی‌کمپوست + خاک زراعی و کمپوست + ورمی‌کمپوست + خاک زراعی و فاکتور دوم ماده‌آلی در دو سطح اسیدهیومیک (HA) و میکروارگانیسم‌های موثر (EM) (هر دو به نسبت ٥ در هزار) و فاکتور سوم شوری در ۳ سطح (شاهد، ٤۰ و ۸۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) بود. در بررسی اسانس به روش کروماتوگرافی گازی (GC) وجود ۳٤ ترکیب مشخص شد. عمده‌ترین ترکیب‌های اسانس از قبیل ترانس-کاروئول، کارواکرول استات، ایزوبورنئول، ایزوپولگل و گاما-۳-کارن در محیط کشت ترکیبی خاک زراعی + کمپوست + ورمی‌کمپوست و بیش‌ترین میزان ۸،۳،۱-پارامنتاتری ان، سیترونلول و گاما-ترپینن در محیط کشت ترکیبی خاک زراعی + کمپوست مشاهده گردید. با افزایش شوری میزان ترانس-کاروئول، کارواکرول استات، گاما-ترپینن، ایزوبورنئول، سیترونلول افزایش و گاما-۳-کارن، ایزوپولگل و ۸،۳،۱-پارامنتاتری‌ان کاهش معنی‌داری یافتند. در شوری ۸۰ میلی‌مولار در محیط کشت ترکیبی خاک زراعی + کمپوست + ورمی‌کمپوست بالاترین درصد ترکیبات ترانس-کاروئول (۲۱/۸٥)، ایزوبورنئول (۱۲/۹۰)، کارواکرول استات (۱۱/۷۸)، در محیط کشت کمپوست بالاترین درصد ترکیبات سیترونلول (۱۱/۱۲) و گاما-ترپینن (۹/۸۷)، در تیمار شاهد در محیط کشت ترکیبی خاک زراعی + کمپوست بالاترین درصد ترکیبات ۸،۳،۱-پارامنتاتری‌ان (۹/۹۳) و در محیط کشت ترکیبی خاک زراعی + کمپوست + ورمی‌کمپوست بالاترین درصد ایزوپولگل (۸/۹۸) و گاما-۳-کارن (۸/٤۷) مشاهده شد. کاربرد هیومیک‌اسید توانست ترکیبات اصلی در بادرنجبویه را افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: کمپوست، ورمی‌کمپوست، کلریدسدیم، ترکیبات اسانس

مقدمه

امروزه گیاهان دارویی از گیاهان مهم اقتصادی هستند که به صورت خام یا فرآوری‌شده در طب سنتی و مدرن صنعتی مورد استفاده و بهره‌برداری قرار می‌گیرند. این گیاهان دارای مواد فعال و اسانس هستند که می‌توانند به انواع داروها تبدیل شوند که برخی از آنها نجات دهنده زندگی هستند. با این حال، شروع کشت گسترده این گیاهان دشوار است زیرا بیش‌تر زمین‌های قابل کشت به‌طور غالب برای رشد محصولات غذایی ضروری استفاده می‌شود (Banerjee & Roychoudhury, 2018).

در بین گیاهان دارویی بادرنجبویه متعلق به خانواده *Lamiaceae* و یک گیاه دارویی باارزش است که بومی جنوب اروپا و غرب آسیا است. بیش‌تر خواص دارویی آن به عناصر تشکیل‌دهنده اسانس آن نسبت داده شده است. مقدار اسانس در گونه‌های مختلف متفاوت و بین ۰/۲ تا ۰/۵ درصد است. اسانس این گیاه در صنایع داروسازی، غذایی و آرایشی-بهداشتی کاربرد زیادی دارد (Menezes *et al*., 2015). در گیاهان دارویی و معطر، تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله اسانس‌ها با اجزای تشکیل دهنده آن‌ها تحت کنترل عوامل ژنتیکی است، ولی عوامل محیطی بویژه شرایط تنش‌زا، نقش عمده‌ای را در کمیت و کیفیت این مواد به عهده دارند. شواهد زیادی بر افزایش چند برابری متابولیت‌های ثانویه تحت تنش‌های محیطی وجود دارد، اما برخی تحقیقات نیز نشان می دهد که این تأثیر همیشگی نبوده و حتی کاهش میزان متابولیت‌های ثانویه تحت شرایط تنش‌های محیطی دیده می‌شود (Akula & Ravishankar, 2011).

تنش شوری با ایجاد اختلال در عملکرد فیزیولوژیکی گیاهان، محدودیت‌های عمده‌ای در رشد، نمو، بهره-وری و کیفیت محصول در بسیاری از مناطق جهان ایجاد می‌کند. اما تولید متابولیت ثانویه (در مقایسه با گیاهان بدون تنش) در گیاهان ممکن است تحریک شده و بیش از حد انباشته شود. در این زمینه، گیاهان در معرض تنش ممکن است به عنوان منابع بالقوه متابولیت‌های ثانویه برای مصارف اقتصادی (Valifard *et al*., 2018) ارزیابی شوند؛ اما این موضوع به حساسیت گیاهان به شوری بستگی دارد.

در گزارش‌های قبلی، با افزایش سطح شوری، اسانس و ترکیبات اصلی آن در بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* L. (Ahmed *et al*., 2017; Khalid & Cai, 2011) ، ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum* L. (Bahcesular *et al*., 2020)، جعفری با نام علمی *Petroselinum crispum* Mill (Álvaro *et al*., 2016) ، مرزنجوش اروپایی با نام علمی *Origanum majorana* L. (Baâtour *et al*., 2011) و پونه با نام علمی *Mentha pulegium* L. (Aziz *et al*., 2008) افزایش یافت.

ویژگی‌های خاک زراعی یکی دیگر از عوامل تاثیرگذار در میزان تولید و کیفیت متابولیت‌های ثانویه در کشت گیاهان دارویی می‌باشد. لذا کاربرد کودهای آلی با بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمایی خاک زراعی، باعث افزایش عملکرد گیاهان دارویی می‌گردد. ورمی‌کمپوست یک کود بیوارگانیک شامل یک مخلوط بیولوژیکی بسیار فعال از باکتری‌ها، کپسول‌های کرم خاک زراعیی، آنزیم‌ها، بقایای گیاهی و کود حیوانی می‌باشد (Lakhdar *et al*., 2009). در حقیقت ورمی‌کمپوست حاوی مواد مغذی مورد نیاز برای رشد گیاهان در شکل قابل جذب نظیر نیترات، منیزیم، فسفات، کلسیم قابل تبادل، پتاسیم محلول و سایر مواد در مقایسه با سایر کودهای آلی می‌باشد و از طرفی دیگر به‌علت داشتن سطح تماس مناسب و

گسترده‌ای برای فعالیت‌های میکروبی و در نتیجه آماده‌سازی انواع مواد مغذی، در طول دوره رشد گیاه، راهکاری مناسب برای مقابله با شوری می‌باشد (Hosseinzadeh *et al.*, 2016). نتایج بررسی‌های پژوهشگران در مورد گیاه دارویی به‌لیمو، نشان داد که کاربرد مقادیر مناسب ورمی‌کمپوست (۱۰ درصد) رشد و ترکیبات فنلی گیاهان تحت تنش شوری را بهبود بخشید (Mohsenzadeh & Zamanpour Shahmansouri, 2019). همچنین گزارش کردند که کود ورمی کمپوست کود بهتری نسبت به کمپوست است. در پژوهشی استفاده از ورمی‌کمپوست را روشی مناسب در کاهش اثرات منفی سمیت کلرید سدیم بر رشد و صفات کمی و کیفی گیاه بادرشبی در شرایط آبیاری با آب شور و توسعه کشاورزی پایدار گزارش کردند (Gohari *et al.*, 2019).

کشاورزی نوین در حال ظهور به عنوان علمی با پتانسیل قوی برای طراحی مجدد سیستم‌های زراعی پایدارتر و افزایش نقش عوامل میکروبیولوژیکی در خاک زراعی است. از جمله میکروارگانیسم‌هایی که از نظر کارآیی، سازگاری زیست محیطی و مقرون به صرفه بودن می‌توانند به افزایش تولید محصولات کشاورزی کمک کنند، میکروارگانیسم‌های موثر هستند که میکروارگانیسم‌های موثر، ماده‌های تلقیحی تشکیل شده توسط قارچ‌ها و باکتری‌های جدا شده از خاک زراعی هستند که قادر به همزیستی در محیط مایع تخمیر می‌باشند (Bonfim *et al.*, 2011).

کشور ایران از لحاظ آب و هوا و موقعیت جغرافیایی برای کشت و کار گیاهان دارویی یکی از بهترین مناطق جهان محسوب می‌گردد اما سطح وسیعی از کشور تحت تنش شوری قرار دارد. استفاده از راهکارهای مناسب برای کاهش اثرات منفی شوری و کشت گیاهان متحمل به شوری امری ضروری می باشد. تولید ورمی‌کمپوست در کشور به سرعت رو به افزایش است، لذا با توجه به تأثیر مطلوب این ماده بر خصوصیات خاک زراعی و رشد و نمو محصولات زراعی و همچنین با در نظر گرفتن اهمیت گسترش کشت گیاهان در این پژوهش تلاش شده است تا اثرات کاربرد کودهای کمپوست و ورمی‌کمپوست بر اجزای تشکیل‌دهنده اسانس گیاه بادرنجبویه در شرایط تنش شوری بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر نوع بستر کشت، شوری و ماده آلی بر میزان اسانس و مواد موثره گیاه بادرنجبویه آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در کشور ایران و استان فارس در گلدان در فضای باز انجام شد. فاکتورهای این آزمایش شامل (جدول ۱): ۱- سه نوع بستر کشت (ترکیب کمپوست + خاک زراعی، ورمی‌کمپوست + خاک زراعی و مخلوط کمپوست + ورمی‌کمپوست + خاک زراعی (همگی به نسبت مساوی)، ۲- ماده آلی (صفر، هیومیک‌اسید (HA) و میکروارگانیسم‌های موثر (EM) (هر دو به نسبت ۵ در هزار)، EM ترکیبی از ۱۲۰ گونه میکروارگانیسم هوازی و بی هوازی است که ۳ گروه اصلی مخمرها، باکتری‌های فتوسنتزکننده و باکتری‌های اسیدلاکتیک تشکیل شده است که اغلب در تولید فرآورده‌های خوراکی بکار می‌رود و برای سلامتی بسیار مفید می‌باشد و ۳- شوری کلرید سدیم در ۳ سطح (تیمار شاهد، ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار) بود.

جهت تولید نشاء، ابتدا بذرهای مورد نظر به‌مدت ۴۸ ساعت در آب خیسانده شدند و سپس بذر در سینی-

های نشاء حاوی Cocopeat کشت گردیدند. پس از رشد، نشاءهای آماده شده به گلدان‌های ۵ لیتری حاوی بسترهای مورد نظر انتقال داده شدند و پس از استقرار گیاهان، تیمار شوری به‌صورت آب آبیاری اعمال شد. پس از اعمال شوری به فاصله هر ۱۰ روز یکبار مواد آلی به غلظت ۵ در هزار همراه آب آبیاری با هدایت الکتریکی مورد (۰، ٤۰ و ۸۰ میلی‌مولار) نظر به گیاهان داده شد. به گیاهان تا ظهور اولین گل اجازه رشد داده شد. گیاهان برداشت شدند و سپس نمونه‌ها بلافاصله به محل سایه در مکان خشک با دمای ۲۵ تا ۲٦ درجه سانتی‌گراد دارای تهویه (زیر سایه‌بان در هوای آزاد) منتقل و سپس با استفاده از آون با دمای ۵۰-٤۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤۸ ساعت خشک شدند. بعد از خشک کردن نمونه‌ها در پاکت‌های کاغذی در هر پاک ۳۰ گرم جدا جمع-آوری شده و به وسیله آسیاب به قطعات ریز با الک با مش ۲۰۰ تبدیل شده و در نهایت برای عصاره-گیری و تجزیه آن به آزمایشگاه منتقل شدند. و پس از آن نسبت به اندازه‌گیری میزان و ترکیبات اسانس اقدام گردید.

اندازه‌گیری اسانس

از هر تکرار مربوط به هر تیمار مقدار ۲۵ گرم از ماده خشک گیاهی الک‌شده با مش ۱۲۰۰وزن شد. با ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مخلوط گردید و سپس اسانس گیاه به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت استخراج گردید. اسانس به دست آمده با استفاده از سولفات سدیم آب‌گیری شد. اسانس‌ها پس از آب‌گیری توسط سولفات سدیم بدون آب، توسط سرنگ به درون ویال شیشه‌ای ریخته شد، برای خارج شدن ان هگزان از اسانس، از هوای خنک سشوار به مدت ۳ دقیقه استفاده شد. اسانس تا زمان آنالیز در ویال شیشه‌ای قرار گرفت، درِ شیشه‌ها با پارافیلم پیچیده شد و سپس ویال‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جداسازی و شناسایی محتویات ترکیبات اسانس روش کروماتوگرافی گازی و طیف سنجی جرمی(GC/MS)

بدین منظور از دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل Hewlett-Packard-5890 دارای سیستم تله یونی استفاده گردید که در آن انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و درجه حرارت ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد برای تولید منبع یون تنظیم گردید. رقیق کردن نمونه-ها به روش شکافت با نسبت ۱:۱۰۰ انجام گردید. ستون موئینه به طول ۵۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۰ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۲۵ میکرومترو ذرات از جنس متیل سیلیکون با اتصال عرضی بودند. اشکارساز از نوع انتخاب‌گر جرمی (HP-5970 mass-selective (detector-USA بود. برنامه حرارتی از ۱۰۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با تغییرات ٤ درجه در دقیقه استفاده گردید. از هلیم فوق خالص با سرعت عبور ۱ میلی‌لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و درجه حرارت ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد برای تولید منبع یون تنظیم گردید. شناسایی هر ترکیب بر اساس زمان بازداری و جرم ثبت شده آنها انجام شد (Davies, 1990).

ارزیابی مواد موثره موجود در اسانس با استفاده از روش GC

بدین منظور از دستگاه گاز کرو ماتوگراف مدل Hewlett-Packard 6890 دارای انجکتور splitless و ستون موئینه بطول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی-متر و ضخامت فیلم ۲۵ میلی‌متر مدل DB-WAX (Agilent/J and W Scientific, Folsom, CA, USA) بود. دتکتور از نوع یونیزآن اشعه با حرارت ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد بود که در آن گاز هیدروژن و هوا با سرعت ٤٠ میلی‌لیتر بر دقیقه عبور داده می‌شد. دمای اولیه در ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ دقیقه نگه داشته شد و سپس با تغییرات ۱۰ درجه در دقیقه به ١٤٠ درجه رسید و پس از ۱ دقیقه با تغییرات ٤ درجه در دقیقه به ۱۹۰ درجه رسید به مدت ۲ دقیقه نگه داشته شد و سپس با تغییرات ۲ درجه در دقیقه به ۲۱۰ درجه رسید. از هلیم فوق خالص با سرعت عبور ۱ میلی‌لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. پیک‌های خروجی براساس زمان باز داری با نمونه‌های استاندارد مقایسه و تعیین هویت شد و بر اساس سطح زیر منحنی تعیین غلظت گردید (Young-Cheol *et al*., 2005).

نتایج

ترکیبات اسانس

براساس نتایج جدول ۳ در این تحقیق، ٣٤ ترکیب در اسانس گیاه بادرنجبویه شناسایی گردید که ترکیبات عمده بادرنجبویه ترانس-کاروئول، ایزوبورنئول، کارواکرول استات، سیترونلول، ۸،۳،۱-پارامنتاتری‌ان، گاما-ترپینن، ایزوپولگل و گاما-۳-کارن بودند و در زیر به اختصار به اثر محیط کشت، شوری و ماده آلی بر روی این ترکیبات پرداخته شد.

ترانس-کاروئول

براساس نتایج تجزیه واریانس، میزان ترانس-کاروئول تحت تأثیر اثرات ساده محیط کشت، شوری و ماده آلی و همچنین برهمکنش سه فاکتور محیط کشت، شوری و ماده آلی در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). مقایسه میانگین درصد ترانس-کاروئول تحت تاثیر اثر متقابل محیط کشت، شوری و ماده آلی نشان داد که بیش‌ترین میزان ترانس-کاروئول (٢٢/٤٥ درصد) در محیط کشت حاوی خاک زراعی + کمپوست + ورمی‌کمپوست با استفاده از ماده آلی HA در بالاترین سطح شوری و کمترین آن (۸ درصد) در محیط کشت حاوی خاک زراعی + - کمپوست در شوری ٤٠ میلی‌مولار با استفاده از ماده آلی EM مشاهده شد (جدول ۲).

اسانس‌ها متابولیت‌های ثانویه هستند که حاوی ترکیبات مختلفی هستند. گیاه بادرنجبویه سرشار از اسانس است که به‌طور گسترده‌ای در محصولات غذایی و بهداشتی، داروها و مواد آرایشی استفاده می‌شود (Mokhtarzadeh *et al*., 2016). ارزش تجاری گیاهان بادرنجبویه به عملکرد و ترکیب شیمیایی اسانس آن‌ها بستگی دارد (Bonacina *et al*.,). مطالعات نشان داده که عوامل محیطی و فاکتورهای تنش‌زا، همواره ترکیب‌های شیمیایی اسانس گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد و سبب تغییر در میزان درصد ترکیب‌های اسانس گیاه می‌شود که این اختلافات تأثیر شرایط فیزیولوژیک گیاه را بر مسیرهای بیوسنتزی ترکیب‌ها توجیه می‌کند (Banerjee & Roychoudhury, 2018). نتایج این پژوهش نشان داد که میزان ترکیب‌های اصلی و مهم شناسایی شده اسانس از قبیل: ترانس-کاروئول، ایزوبورنئول، سیترونلول، کارواکرول استات و گاما-

ترپینن تحت تنش شوری در گیاه بادرنجبویه افزایش داشته است که با نتایج (Khadem Al-Husseini *et al.*, 2018) در مورد بادرنجبویه مطابقت دارد. آنان نیز افزایش ترکیبات کاریوفیلن-اکسید، ژرانیل‌استات، ژرانیول و نئو-منتول را با افزایش تنش شوری گزارش کردند. در پژوهشی به ارزیابی گیاه بادرنجبویه، تحت تنش شوری پرداخته شد و گزارش دادند که عملکرد اسانس کاهش یافت اما تعداد ترکیبات در تمام تیمارهای شوری افزایش یافت. ترکیبات نریل‌استات و گرانیل‌استات در ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار شوری تشخیص داده شدند که نشان می‌دهد تحت تنش شوری، گیاهان بادرنجبویه مسیرهای متابولیکی برای تولید ترپنوئیدها را فعال و در نتیجه مونوترپن تولید می‌کنند. شوری بیشتر پارامترهای ارزیابی شده در گیاهان بادرنجبویه را تحت تأثیر قرار داد. نتایج آنها نشان داد که گیاهان بادرنجبویه نسبت به غلظت‌های کم شوری (تا ۵۰ میلی‌مول) تحمل کردند (Bonacina *et al.*, 2017). در پژوهشی، گزارش کردند که شوری آب آبیاری تجمع محتوای اسانس بادرنجبویه و اجزای اصلی آن (سیترونلال، سیترونلال و ژرانیل‌استات) را افزایش داد (Khalid & Cai, 2011).

افزایش ترکیبات گیاه بادرنجبویه در این تحقیق را می توان به این صورت توجیه نمود. با توجه به اینکه تنش شوری نتایجی از قبیل بسته شدن روزنه‌ها، کاهش در سرعت انتقال مواد غذایی در گیاهان، کاهش پتانسیل آب در بافت های گیاهی، کاهش فتوسنتز، بازدارندگی از رشد، افزایش در تجمع اسید آبسیزیک و پرولین، تشکیل رادیکال‌های آزاد و تنش اکسیداتیو را به همراه دارد، لذا هنگامی‌که این گیاهان در شرایط تنش محیطی قرار می‌گیرند از طریق تولید متابولیت‌های ثانویه مختلف از خود در برابر این شرایط محافظت می‌کنند (Akula & Ravishankar, 2011). اثرات متضاد تنش شوری بر تولید اسانس تاکنون بر اساس گزارشات موجود برای گونه‌های مختلف گیاهی مهم دارویی مورد بحث قرار گرفته است. همچنین پیشنهاد شده است که افزایش تراکم غده روغن، همراه با تعداد بسیار بیش‌تری از تولید غده در هنگام تنش، می‌تواند دلایل تجمع اسانس در برخی از گونه‌های گیاهی باشد. سایر عوامل می‌توانند ساخت مواد فتوسنتزی یا توزیع مواد فتوسنتزی در بین روندهای رشد و تمایز باشند. گاهی اوقات، کاهش متابولیسم اولیه گیاهان در هنگام تنش می‌تواند منجر به تجمع برخی از محصولات واسطه‌ای شود که به شکل متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس بروز می‌کنند (Said-Al Ahl *et al.*, 2016).

رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت استفاده از نظام‌های کشاورزی پایدار می‌باشد. به کارگیری کودهای زیستی از جمله کمپوست و ورمی‌کمپوست به‌عنوان یک استراتژی در کشاورزی پایدار می‌تواند علاوه بر افزایش تولید گیاهان دارویی، سبب افزایش میزان ماده مؤثره آنها نیز شود (Mona *et al.*, 2008). براساس نتایج این تحقیق، مصرف همزمان کمپوست و ورمی‌کمپوست نسبت به مصرف جداگانه آن‌ها در بهبود صفات کیفی بادرنجبویه مؤثرتر بود؛ به‌طوری که بالاترین میزان ترکیبات اصلی اسانس ترانس-کاروئول، کارواکرول استات، ایزوپولگل، ایزوبورنئول و گاما-۳-کارن در محیط کشت حاوی خاک زراعی + کمپوست + ورمی-کمپوست مشاهده شد. بنابراین کودهای آلی مورد مطالعه، اثر یکدیگر را تکمیل می‌کنند. نتایج این تحقیق با مطالعه (Asghari *et al.*, 2015) در مورد

به‌لیمو مطابقت دارد. آنان نیز مصرف همزمان کمپوست و ورمی‌کمپوست نسبت به مصرف جداگانه آنها در بهبود صفات کمی و کیفی به‌لیمو موثرتر بود. نتایج تحقیقات انجام‌شده بر بادرنجبویه نشان داد که مصرف ۱۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست تواست عملکرد اسانس بادرنجبویه را افزایش معنی‌داری دهد (Mirzajani *et al.*, 2019). در تحقیقی دیگر مشخص شد که مصرف کودهای آلی و فراهمی عناصر غذایی، باعث افزایش تولید اسانس در گیاه بادرشبی شد (Fallah *et al.*, 2018). افزایش عملکرد اسانس با استفاده از کودهای آلی توسط محققین دیگری نیز گزارش شده است (Khoramivafa *et al.*, 2018).

در این تحقیق، کاربرد هیومیک‌اسید توانست ترکیبات اصلی از جمله ترانس-کاروئول، گاما-ترپینن، ایزوبورنئول، سیترونلول و کارواکرول استات در بادرنجبویه را افزایش دهد. در توجیه این نتیجه به دست آمده می‌توان گفت که هیومیک‌اسید با افزایش فعالیت آنزیم Rabisco سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه (Delfine *et al.*, 2005) و در نتیجه تولید فرآورده‌های فتوسنتزی می‌شود و چون اسانس-ها از گروه شیمیایی ترپن‌ها بوده و به این دلیل که گلوکز به‌عنوان پیش ماده مناسب در سنتز اسانس و به ویژه منوترپن‌ها مطرح هست، فتوسنتز و تولید فرآورده‌های فتوسنتزی ارتباط مستقیمی با تولید اسانس دارد. تحقیقات زیادی نیز گزارش کردند که استفاده از کودهای آلی باعث افزایش درصد اسانس در گیاهان دارویی می‌شوند (Kapoor *et al.*, 2004).

کارواکرول استات

براساس نتایج تجزیه واریانس، میزان کارواکرول استات تحت تأثیر اثرات ساده محیط کشت، شوری و ماده آلی در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید و برهمکنش تیمارها معنی‌دار نگردید (جدول ۱). نوع محیط کشت بر میزان کارواکرول استات تأثیر معنی-دار داشت؛ به‌طوری که در محیط کشت ترکیبی خاک زراعی + کمپوست + ورمی‌کمپوست به میزان ۱۰/۵ درصد بیش‌ترین مقدار بود. در مجموع افزودن توام ورمی‌کمپوست و کمپوست به خاک زراعی موثرتر از هر یک از این دو ماده به‌تنهایی به خاک زراعی بود (شکل ۱-الف). با افزایش شوری میزان کارواکرول استات به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که در تیمار شاهد ۷/۰۱ درصد و در شوری ٤٠ میلی‌مولار و ۸۰ میلی‌مولار به ترتیب ۸/۳۳ و ۹/٦٥ درصد بود (شکل ۲-الف). براساس نتایجف استفاده از HA منجر به افزایش معنی‌دار کارواکرول استات (۸/۸۲ درصد) شد (شکل ۳-الف).

هر سطحی از عوامل محیطی از جمله شوری و خشکی که باعث تفاوت معنی‌دار در سازگاری گیاه گردد تنش محسوب می‌شود. تنش شوری از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر در تغییر رشد گیاه و تولید متابولیت-های ثانویه است (Nikolova & Ivancheva, 2005). در همین رابطه (Hosseini *et al.*, 2015) گزارش نمودند که تنش شوری بر صفات مورفولوژیک آویشن باغی تاثیر معنی‌دار داشت و با افزایش سطح شوری میزان تیمول و کارواکرول افزایش یافتند .اما در تحقیق دیگر نشان دادند که تغییرات میزان کارواکرول (به عنوان مهمترین ترکیب شناخته شده در اسانس گیاه مرزه رشینگری) از روندهای منظم افزایشی یا کاهشی تبعیت نکرد؛ به‌طوری که بیش‌ترین مقدار آن در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در تیمار

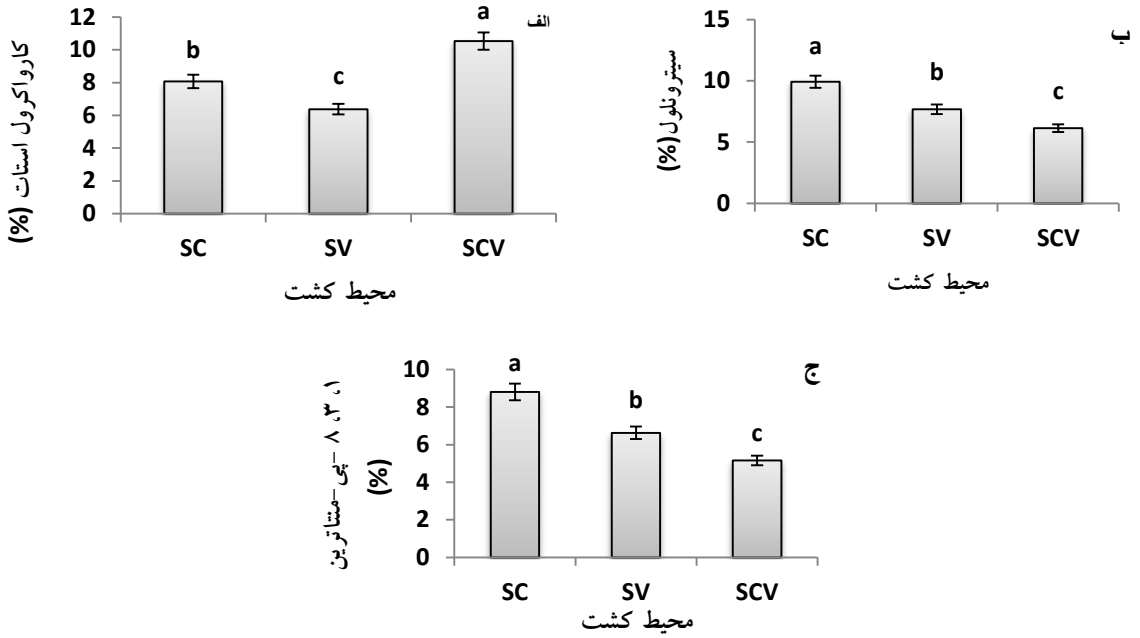
۳۰ میلی‌مولار شوری مشاهده شد (Amiri & Ghasemi Ramazanabad, 2018). پیشنهاد شده است که افزایش تراکم غده روغن، همراه با تعداد بسیار بیش‌تری از تولید غده در هنگام تنش، می‌تواند دلایل تجمع اسانس در برخی از گونه‌های گیاهی باشد. سایر عوامل می‌توانند ساخت مواد فتوسنتزی یا توزیع مواد فتوسنتزی در بین روندهای رشد و تمایز باشند. گاهی اوقات، کاهش متابولیسم اولیه گیاهان در هنگام تنش می‌تواند منجر به تجمع برخی از محصولات واسطه‌ای شود، که به شکل متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس بروز می‌کنند (Said-Al Ahl *et al.*, 2016).

در تفسیر نتیجه حاصل از بهبود میزان اسانس در اثر مصرف کودهای کمپوست و ورمی کمپوست، می‌توان اظهار داشت که اسانس‌ها ترکیب‌هایی ترپنوئیدی بوده و واحدهای سازنده آنها نیاز مبرم به ATP و NADPHدارند و با توجه به این موضوع ، حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب های اخیر ضروری می‌باشند. افزایش مقادیر کمپوست و ورمی‌کمپوست از طریق فراهم نمودن جذب بیشتر فسفر و نیتروژن که در اجزای تشکیل دهنده اسانس حضور دارند موجب افزایش میزان اسانس پیکر رویشی شد (Anwar *et al.*, 2005).

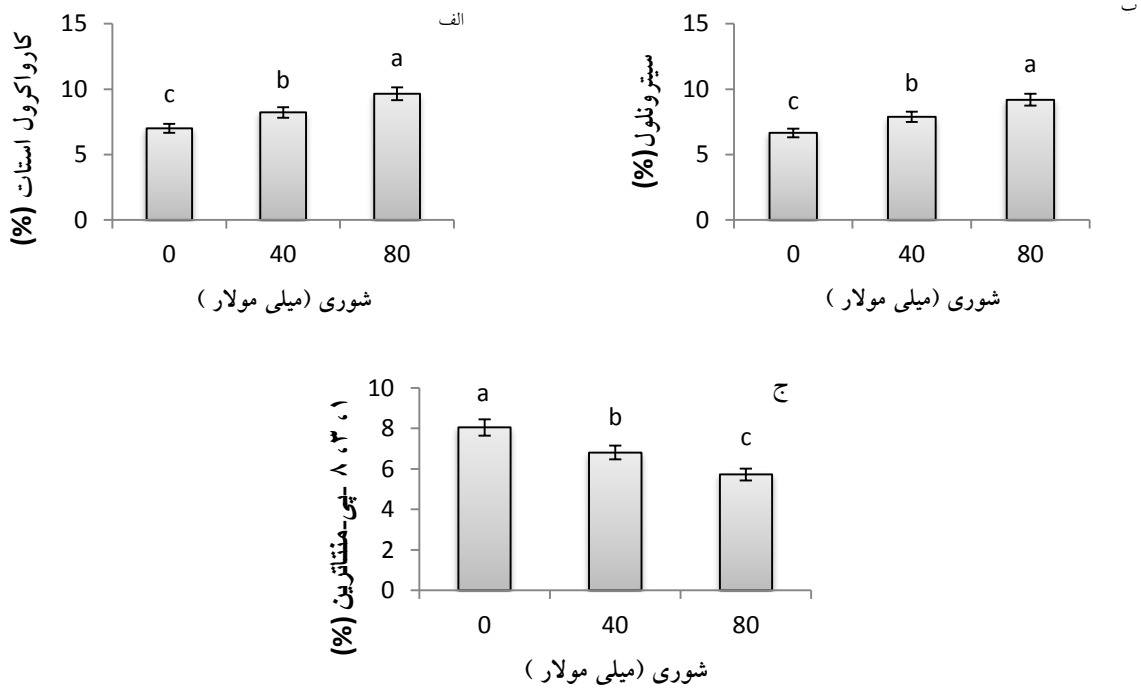
جدول ۱- تجزیه واریانس داده ها در رابطه با ترکیبات اندازه‌گیری شده توسط دو روش GC و GCMASS

منبع تغییر S.V	درجه آزادی D.F	میانگین مربعات (M.S) ترانس-کاروئول	کارواکرول استات	۸،۳،۱- پارامنتاتری‌ان	سیترونلول	گاما-ترپینن	گاما-۳-کارن	ایزوپولگل	ایزوبورنئول
محیط کشت (A)	۲	۴۸۳/۴**	۲۳۴/۵۳**	۱۸۱/۵۱۲**	۱۹۷/۲۸۷**	۱۱۴/۴۴**	۱۳۱/۰**	۱۱۴/۴۴**	۱۷۴/۷**
شوری (B)	۲	۱۷۱/۷**	۹۴/۴۱**	۷۳/۲۵۲**	۸۷/۴۳۷**	۸۴/۴۷**	۴۰/۵**	۸۴/۴۷**	۷۳/۵**
ماده آلی (C)	۲	۳۶/۸**	۱۲/۹۱**	۶/۲۰۲**	۹/۲۷۴**	۸/۳۱**	۴/۵**	۸/۳۱**	۱۷/۰**
اثرمتقابل AB	۴	۱۷/۳**	۰/۵۹ns	۰/۳۰۳ns	۰/۵۳۶ns	۱/۵۸**	۳/۴**	۱/۵۸**	۱۳/۴**
اثرمتقابل AC	۴	۲۲/۶**	۰/۰۴ns	۰/۳۲۸ns	۰/۰۳۲ns	۰/۰۷ns	۰/۱ns	۰/۰۷ns	۰/۵ns
اثرمتقابل BC	۴	۱۷/۹**	۰/۰۸ns	۰/۳۶۸ns	۰/۰۴۷ns	۰/۲۶ns	۰/۱ns	۰/۲۶ns	۰/۱ns
اثرمتقابل ABC	۸	۱۳/۷**	۰/۰۶ns	۰/۱۲۵ns	۰/۲۲۱ns	۰/۰۴ns	۰/۲ns	۰/۰۴ns	۰/۲ns
خطا	۱۰۸	۱/۰	۰/۲۷	۰/۲۱۵	۰/۳۰۶	۰/۲۱	۰/۱	۰/۲۱	۰/۷
ضریب تغییرات C.V درصد		۶/۰	۶/۲	۶/۸	۷/۰	۶/۷	۵/۵	۶/۲	۰/۷

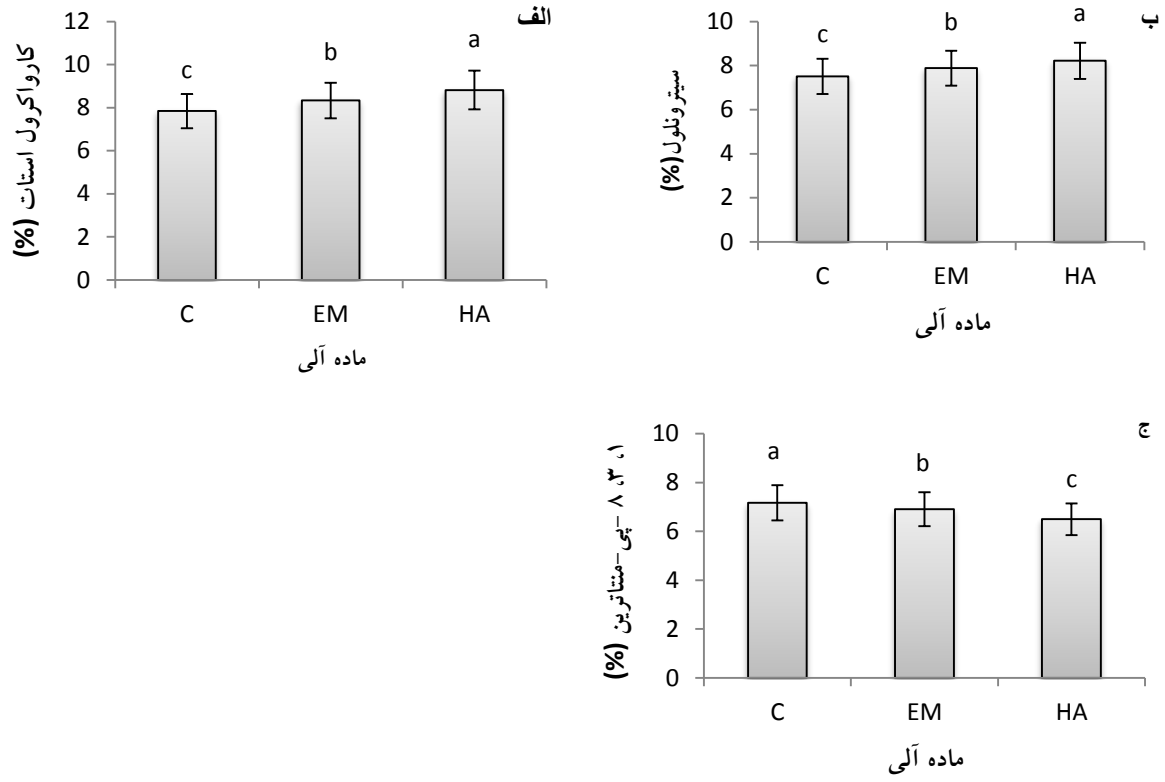
ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد



شکل ۱- تأثیر محیط کشت بر ترکیبات کارواکرول استات (الف)، سیترونلول (ب) و ۱،۳، ۸-پی-منتاترین بادرنجبویه
SC: خاک + کمپوست (۱:۱)، SV: خاک +ورمی‌کمپوست (۱:۱)، SCV: خاک + کمپوست + ورمی‌کمپوست (۱:۱:۱)



شکل ۲- تاثیر شوری بر ترکیبات کارواکرول استات (الف)، سیترونلول (ب) و ۱،۳، ۸-پی-منتاترین بادرنجبویه



شکل ۳- تاثیر مواد آلی بر ترکیبات کارواکرول استات (الف)، سیترونلول (ب) و ۱،۳، ۸-پی-منتاترین بادرنجبویه
C: شاهد، EM: میکروارگانیسم‌های موثر، HA: هیومیک اسید (۵ گرم بر لیتر)

سیترونلول

براساس نتایج تجزیه واریانس، میزان سیترونلول تحت تأثیر اثرات ساده محیط کشت، شوری و ماده آلی در سطح ۱ درصد معنی‌دار و برهمکنش تیمارها معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر انفرادی نوع محیط کشت بر میزان سیترونلول نشان داد که میزان این ترکیب در محیط کشت ترکیبی خاک زراعی + کمپوست + ورمی‌کمپوست به میزان ٦/١٣ درصد به‌طور معنی‌داری کم‌ترین و در محیط کشت خاک زراعی + کمپوست به میزان ۹/۹۳ درصد به‌طور معنی‌داری بیش‌ترین مقدار بود (شکل ۱-ب). با افزایش شوری میزان این ترکیب به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که میزان سیترونلول در تیمار شاهد ٦/٦٥ درصد و در شوری ٤٠ میلی‌مولار و ۸۰ میلی‌مولار به ترتیب ۷/۸۸ و ۹/۱۹ درصد بود (شکل ۲-ب). استفاده از HA منجر به افزایش معنی‌دار سیترونلول (۸/۳۳ درصد) شد (شکل ۳-ب).

مطالعات نشان داده که یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در میزان متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان، تنش‌های محیطی اعمال شده بر آن‌ها است. متابولیت‌های ثانویه در گیاهان وظایف متعددی دارند، نقش محافظتی آنها در شرایط تنش با اهمیت ترین این نقش هاست. این ترکیبات به گیاهان کمک می‌کنند تا بتوانند در مقابل عوامل مزاحم خارجی (مانند آفات و عوامل بیماری‌زا) و شرایط نامساعد محیطی (مانند شوری و یا شرایط نامساعد خاک) مقاومت کنند و به حیات خود ادامه دهند. شواهد زیادی بر افزایش چند برابری متابولیت‌های ثانویه

تحت تنش‌های محیطی وجود دارد، اما برخی تحقیقات نیز نشان می‌دهد که این تأثیر همیشگی نیست و حتی کاهش میزان متابولیت‌های ثانویه تحت شرایط تنش‌های محیطی دیده می‌شود (Akula & Ravishankar, 2011).

۸،۳،۱-پارامنتاتری ان

براساس نتایج تجزیه واریانس، میزان ۸،۳،۱-پارامنتاتری‌ان تحت تأثیر اثرات ساده محیط کشت، شوری و ماده آلی در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید و برهمکنش تیمارها معنی‌دار نگردید (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر انفرادی نوع محیط کشت بر میزان ۸،۳،۱-پارامنتاتری‌ان نشان داد که میزان این ترکیب در محیط کشت ترکیبی خاک زراعی + کمپوست + ورمی‌کمپوست به میزان ٥/۱٦ درصد به‌طور معنی‌داری کم‌ترین و در محیط کشت خاک زراعی + کمپوست به میزان ۸/۸۰ درصد به‌طور معنی‌داری بیش‌ترین مقدار بود (شکل ۱-ج). با افزایش شوری میزان این ترکیب به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری‌که میزان ۸،۳،۱-پارامنتاتری‌ان در تیمار شاهد ۸/۰٥ درصد و در شوری ٤۰ میلی‌مولار و ۸۰ میلی‌مولار به ترتیب ٦/۸۱ و ٥/۷۲ درصد بود (شکل ۲-ج). استفاده از ماده آلی منجر به کاهش معنی‌دار ۸،۳،۱-پارامنتاتری ان شد، به‌طوری که بیش‌ترین میزان ۸،۳،۱-پارامنتاتری‌ان در تیمار شاهد (۷/۱۷ درصد) مشاهده شد (شکل ۳-ج).

براساس نتایج این تحقیق، میزان ترکیبات ۸،۳،۱-پارامنتاتری‌ان، گاما-۳-کارن، ایزوپولگل، تیمول، لینالول، لیمونن، سیس-سابینن و بتا-توجن با افزایش شوری کاهش یافتند که با نتایج (Khadem al-Husseini *et al.*, 2018) بر روی بادرنجبویه مطابقت دارد؛ این‌ها گزارش کردند که ترکیب منتاترین در تیمار شوری ۱ دسی‌زیمنس بر متر تولید شدند ولی با افزایش تنش شوری در تیمار ٤ دسی‌زیمنس بر متر تولید آنها قطع شد. در پژوهش‌های Ozturk و همکاران (۲۰۰٤) در مورد گیاه بادرنجویه و Ashraf & Akhtar (۲۰۰٤) در مورد گیاه ریحان مشخص شد که تحت تنش شوری اسانس این گیاهان کاهش پیدا می‌کند. کاهش ترکیبات اصلی اسانس ریحان مانند ائوژنول و متیل‌ائوژنول تحت تنش شوری را گزارش کردند (Bahcesular *et al.*, 2020). کاهش قابل توجهی در ترکیبات اسانس مانند کارواکرول، پارا-سیمن و ترپینن در مرزنجوش (*Origanum vulgare*) در معرض تنش شوری مشاهده شد (Said-Al Ahl & Hussein, 2010). اثرات کاهشی درصد ترکیبات اسانس تنش شوری در بادرنجبویه، بابونه و ریحان شدیدتر بود (Said-Al Ahl & Omer, 2011). شوری عملکرد اسانس گیاه بادرنجبویه را در خانواده نعناع کاهش می‌دهد و این مسئله به احتمال زیاد به دلیل محدود شدن عرضه سیتوکنین از ریشه‌ها به شاخه‌ها و در نتیجه تغییر نسبت بین سیتوکنین و اسیدآبسیزیک برگ باشد (Gorgini Shabankareh *et al.*, 2014). با توجه به اینکه نتایج ضد و نقیضی در خصوص تغییر میزان اسانس گیاهان در برابر تنش شوری ارائه می‌گردد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تولید ترکیبات ثانویه در گیاهان همیشه به یک میزان صورت نمی‌گیرد و عوامل متعددی وجود دارند که می‌توانند تولید این ترکیبات را تحت تأثیر قرار دهند. بر طبق مطالعات انجام شده قبلی نوع گونه یا جنس گیاه، مرحله رشد و نمو، شرایط فصلی خاص، میزان دسترسی به مواد غذایی معدنی (Verpoorte *et al.*, 2002) و مطابق

مطالعه حاضر شرایط تنشی از جمله این عوامل هستند.

ایزوبورنئول

براساس نتایج تجزیه واریانس، میزان ایزوبورنئول تحت تأثیر اثرات ساده محیط کشت، شوری و ماده آلی و برهمکنش محیط کشت در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید و سایر برهمکنش‌ها معنی‌دار نگردید (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرمتقابل محیط کشت و شوری نشان داد که بیش‌ترین میزان ایزوبورنئول (۱۲/۹۰ درصد) در محیط کشت حاوی خاک زراعی + کمپوست + ورمی‌کمپوست در شرایط شوری ۸۰ میلی‌مولار و کمترین آن (٦/۷۰ درصد) در محیط کشت حاوی خاک زراعی + ورمی‌کمپوست در شوری‌های ٤۰ میلی‌مولار تیمار شاهده شد. در محیط کشت خاک زراعی + ورمی‌کمپوست و همچنین خاک زراعی + کمپوست + ورمی‌کمپوست با افزایش شوری میزان این ترکیب به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۲).

گاما-ترپینن

براساس نتایج تجزیه واریانس، میزان گاما-ترپینن تحت تأثیر اثرات ساده محیط کشت، شوری و ماده آلی و برهمکنش محیط کشت در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید و سایر برهمکنش‌ها معنی‌دار نگردید (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرمتقابل محیط کشت و شوری نشان داد که بیش‌ترین میزان گاما-ترپینن (۹/۸۷ درصد) در محیط کشت حاوی خاک زراعی + کمپوست در شوری ۸۰ میلی‌مولار و کمترین آن (٤/۲۷ درصد) در محیط کشت حاوی خاک زراعی + کمپوست + ورمی‌کمپوست در تیمار شاهد مشاهده شد. در هر سه محیط کشت با افزایش شوری میزان گاما-ترپینن به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۲).

ایزوپولگل

براساس نتایج تجزیه واریانس، میزان ایزوپولگل تحت تأثیر اثرات ساده محیط کشت، شوری و ماده آلی و برهمکنش محیط کشت در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید و سایر برهمکنش‌ها معنی‌دار نگردید (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت و شوری نشان داد که بیش‌ترین میزان ایزوپولگل (۸/۹۸ درصد) در محیط کشت حاوی خاک زراعی + کمپوست + ورمی‌کمپوست در تیمار شاهد و کمترین آن(۳/۱۵ درصد) در محیط کشت حاوی خاک زراعی + کمپوست در شوری ۸۰ میلی‌مولار مشاهده شد. در هر سه محیط کشت با افزایش شوری میزان این ترکیب به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲).

گاما-۳-کارن

براساس نتایج تجزیه واریانس، میزان گاما-۳-کارن تحت تأثیر اثرات ساده محیط کشت، شوری و ماده آلی و برهمکنش محیط کشت در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید و سایر برهمکنش‌ها معنی‌دار نگردید. مقایسه میانگین اثرمتقابل محیط کشت و شوری نشان داد که بیش‌ترین میزان گاما-۳-کارن (۸/۹۸ درصد) در محیط کشت حاوی خاک زراعی + کمپوست + ورمی‌کمپوست در تیمار شاهد و کمترین آن (۳/۱۵ درصد) در محیط کشت حاوی خاک زراعی + کمپوست در شرایط شوری ۸۰ میلی‌مولار مشاهده شد. در هر سه محیط کشت با افزایش شوری میزان گاما-۳-کارن به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد ترکیبات اندازه گیری شده تحت تاثیر اثرمتقابل محیط کشت و شوری

ردیف	ترکیب	خاک+کمپوست			خاک+ورمی کمپوست			خاک+کمپوست+ورمی کمپوست		
		۰	٤۰	۸۰	۰	٤۰	۸۰	۰	٤۰	۸۰
		شوری (میلی‌مولار کلریدسدیم)								
۱	ترانس-کاروئول	۱۲/۹۵^{e}	۱۲/۵٦^{e}	۱٦/٤۲^{d}	۱۵/۸۰^{d}	۱۷/۳۲^{cd}	۱۸/۵۸^{bc}	۱۷/٤۸^{cd}	۲۰/۵۲^{ab}	۲۱/۸۵^{a}
۲	ایزوبورنئول	۸/٤۷^{ef}	۱۱/٤۰^{b}	۹/۷۷^{cd}	٦/۷۰^{g}	۷/۸۷^{f}	۹/۰۳^{de}	۱۰/۰۳^{c}	۱۱/٤۳^{b}	۱۲/۹۰^{a}
۳	کارواکرول استات	٦/۷۸^{e}	۷/۸۵^{d}	۹/۵۸^{c}	۵/۰۵^{f}	٦/۵۲^{e}	۷/۵۸^{d}	۹/۱۸^{c}	۱۰/٦۲^{b}	۱۱/۷۸^{a}
٤	سیترونلول	۸/۸۸^{c}	۹/۷۸^{b}	۱۱/۱۲^{a}	٦/۲۵^{e}	۷/۷۷^{d}	۸/۹۸^{c}	٤/۸۲^{f}	٦/۰۸^{e}	۷/٤۸^{d}
۵	۱، ۳، ۸-پی-منتاترین	۹/۹۳^{a}	۸/۸۳^{b}	۷/٦۳^{c}	۷/۷۸^{c}	٦/٦۷^{d}	۵/٤۳^{e}	٦/٤۳^{d}	٤/۹۳^{f}	٤/۱۰^{g}
٦	گاما-ترپینن	۸/۲۳^{a}	۸/٤۳^{a}	۸/۹۷^{a}	٦/۰۷^{bc}	٦/۳۳^{bc}	٦/۸۰^{b}	۵/۳۳^{c}	۵/۷۷^{c}	٦/۲۰^{bc}
۷	ایزوپولگل	٤/٤۸^{ef}	٤/۱۵^{f}	۳/٦۸^{f}	٦/۱۲^{c}	۵/۵۵^{cd}	۵/۱۱^{de}	۸/۲۵^{a}	۷/٦۸^{ab}	۷/۲۵^{b}
۸	گاما-۳-کارن	٤/٤۳^{c}	٤/۲۰^{c}	۳/۹۷^{c}	۵/۹۷^{b}	۵/٦۳^{b}	۵/۵۷^{b}	۷/٦۳^{a}	۷/۲۳^{a}	۷/۰۷^{a}
۹	سیس-سابینن	۱/۳۲^{c}	۱/۱۰^{d}	۰/۷۷^{f}	۲/۱۰^{a}	۱/۸۳^{b}	۱/٤۷^{c}	۰/۹۸^{de}	۰/۸۲^{ef}	۰/۸۰^{ef}
۱۰	لیمونن	۱/۸۰^{ab}	۱/۳۷^{c}	۱/۵۵^{bc}	۱/۸۳^{a}	۱/۵۷^{bc}	۱/۸۰^{ab}	۰/۸۸^{d}	۰/۹۵^{d}	۰/۷۳^{d}
۱۱	لینالول	۱/۵۷^{bc}	۱/۵۰^{bc}	۱/٤۰^{cd}	۲/۰۳^{a}	۱/۷۳^{ab}	۱/٦۷^{bc}	۱/۰۸^{de}	۱/۰۸^{de}	۰/۹۲^{e}
۱۲	تیمول	۱/۱۳^{b}	۱/۰۸^{b}	۱/۰۲^{b}	۱/۱۳^{ab}	۱/۱۲^{ab}	۱/۱۰^{ab}	۱/۰۵^{b}	۰/۷۸^{c}	۰/۷۸^{c}
۱۳	سیترال	۱/۲۳^{cd}	۱/۲۰^{cd}	۱/۰۲^{de}	۱/۸۲^{a}	۱/٤۵^{bc}	۱/۷۳^{ab}	۰/۸۲^{e}	۰/۸۲^{e}	۰/۹۷^{de}
۱٤	آلفا-فلاندرن	۱/٤۵^{cd}	۱/٤۸^{bcd}	۱/۲۸^{de}	۱/۵۰^{bc}	۱/۷۵^{a}	۱/٦۸^{ab}	۱/۲۲^{ef}	۱/۰۲^{f}	۰/۷۰^{g}
۱۵	میرسن	۱/۵۳^{a}	۰/۹۲^{d}	۱/۰۵^{d}	۱/٦۰^{a}	۱/۵۰^{ab}	۱/۳۲^{bc}	۱/۰۷^{d}	۱/۱۲^{cd}	۰/٦۸^{e}
۱٦	آلفا-پینن	۱/۳۸^{b}	۱/۲۰^{bc}	۱/۰۸^{c}	۱/۹۳^{a}	۱/۸۳^{a}	۱/۸۳^{a}	۰/۹۸^{c}	۱/۰۷^{c}	۱/۰۵^{c}
۱۷	۱،اکتن-۳-ال	۰/۸۸^{ab}	۰/٦۳^{c}	۱/۰۲^{a}	۰/۸۷^{ab}	۱/۰۳^{a}	۱/۰۳^{a}	۰/۷۵^{bc}	۰/۸۸^{ab}	۰/۹۲^{ab}
۱۸	۱،۳ اکتادین	۰/۹۷^{abc}	۰/۸۸^{bcd}	۰/۸۷^{bcd}	۰/۹۷^{abc}	۱/۰۸^{a}	۱/۰۲^{ab}	۰/۸۳^{cd}	/۹۳^{abcd} ۰	۰/۷۸^{d}
۱۹	۳-متیل-۲(متیل-۲-۲بوتنیل)	۰/۹۰^{cd}	۰/۸۰^{d}	۰/۹۰^{cd}	۱/۲۵^{a}	۱/۰۲^{bc}	۱/۰۸^{ab}	۰/۸۳^{d}	۰/۸۳^{d}	۰/۹۷^{bcd}
۲۰	بتا-توجون	۱/٦۰^{a}	۱/۳۲^{bc}	۱/۲۵^{bc}	۱/۵۷^{a}	۱/٤۷^{ab}	۱/٤۵^{ab}	۱/۱۲^{cd}	۰/۷۸^{e}	۰/۹۵^{de}
۲۱	سیترونلال	۰/۹۷^{a}	۰/۹۲^{a}	۱/۰۸^{a}	۱/۰۸^{a}	۱/۱۳^{a}	۰/۵۷^{b}	۱/۰۰^{a}	۰/٤۷^{b}	۰/۵۷^{b}
۲۲	۵-هپتن-۱-ال	۰/۸۷^{ab}	۰/۹۳^{ab}	۱/۰۸^{a}	۱/۰۸^{a}	۱/۱۳^{a}	۰/۵۷^{b}	۱/۰۰^{a}	۰/٤۷^{b}	۰/۵۷^{b}
۲۳	بیسایکولو (۲،۲،۱) هپتان-۲-اون	۰/۸۷^{ab}	۰/۹۳^{ab}	۰/٦۰^{c}	۱/۰۷^{a}	۱/۰۲^{ab}	۰/۹۵^{ab}	۰/۹۵^{ab}	۰/۹۵^{ab}	۰/۸۲^{bc}
۲٤	۳،٦-اکتادینویک اسید	۰/۹۸^{bcd}	۱/۱۲^{ab}	۱/۲۷^{a}	۱/۰۳^{bc}	۰/٦۰^{e}	۰/۸۲^{cde}	۰/۸۲^{cde}	۰/۹۲^{bcd}	۰/۷۸^{de}

۲۵	کارواکرول	۱/۳۳^{a}	۰/۹۵^{cd}	۱/۱۳^{abc}	۱/۲۰^{ab}	۱/۱۵^{abc}	۱/۰۰^{bcd}	۱/۰۵^{bcd}	۰/۸۸^{de}	۰/۶۸^{e}
۲۶	بتا-کاریوفیلن	۱/۶۳^{a}	۱/۱۸^{b}	۱/۱۰^{bc}	۱/۰۷^{bcd}	۱/۰۰^{bcd}	۰/۹۳^{cde}	۱/۱۷^{b}	۰/۷۷^{e}	۰/۸۵^{de}
۲۷	جرماکرن-D	۱/۵۵^{a}	۱/۰۳^{bcd}	۰/۸۳^{cd}	۱/۱۷^{b}	۱/۰۷^{bc}	۱/۱۸^{b}	۱/۱۷^{b}	۰/۸۲^{d}	۰/۸۷^{cd}
۲۸	بتا-بیسابولن	۱/۳۵^{a}	۱/۱۸^{ab}	۰/۸۰^{d}	۱/۰۳^{bc}	۱/۰۲^{bc}	۱/۰۸^{b}	۰/۹۷^{bcd}	۰/۸۵^{cd}	۰/۴۲^{e}
۲۹	بتا-کوبیین	۱/۳۳^{a}	۰/۶۰^{e}	۰/۸۰^{cde}	۱/۱۲^{ab}	۱/۰۳^{bc}	۰/۶۲^{e}	۱/۰۷^{b}	۰/۸۸^{bcd}	۰/۷۵^{de}
۳۰	بتا-آیونون	۰/۶۳^{de}	۰/۸۲^{cd}	۱/۱۲^{b}	۱/۴۸^{a}	۱/۱۸^{b}	۱/۰۸^{bc}	۰/۷۳^{de}	۰/۷۳^{de}	۰/۵۲^{e}
۳۱	کاریوفیلن اپوکسید	۱/۰۰^{bcd}	۰/۹۰^{d}	۰/۵۷^{e}	۱/۵۷^{a}	۱/۱۷^{b}	۱/۱۵^{bc}	۰/۹۳^{cd}	۰/۸۵^{d}	۰/۸۰^{d}
۳۲	ایوگنول	۰/۹۵^{ab}	۰/۸۸^{ab}	۰/۸۵^{b}	۱/۱۰^{a}	۰/۹۰^{ab}	۰/۹۷^{ab}	۰/۸۲^{b}	۰/۴۳^{c}	۰/۴۸^{c}
۳۳	آلفا-موورولن	۰/۹۸^{ab}	۰/۸۰^{bc}	۰/۹۷^{ab}	۱/۰۲^{a}	۰/۴۵^{d}	۰/۹۷^{ab}	۱/۰۲^{a}	۰/۶۳^{cd}	۰/۷۵^{c}
۳۴	آلف-هومولن	۱/۰۷^{a}	۰/۹۷^{a}	۰/۶۲^{c}	۰/۹۷^{a}	۰/۹۷^{a}	۰/۹۳^{ab}	۰/۵۳^{c}	۰/۵۳^{c}	۰/۷۰^{bc}

میانگین های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱ درصد آزمون LSD اختلاف معنی داری با هم ندارند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیش‌ترین میزان ترکیبات عمده اسانس از قبیل ترانس-کاروئول، کارواکرول استات، ایزوبورنئول، ایزوپولگل و گاما-۳-کارن در محیط کشت خاک زراعی، کمپوست و ورمی‌کمپوست مشاهده گردید. در ارتباط با شوری نتایج متفاوتی مشاهده شد؛ به‌طوری که با افزایش شوری، برخی ترکیبات افزایش و برخی کاهش یافتند. برخی ترکیبات عمده از قبیل ترانس-کاروئول، کاروکرول‌استات، گاما-ترپینن، ایزوبورنئول، سیترونلول با افزایش شوری افزایش معنی‌داری یافتند. همچنین کاربرد هیومیک‌اسید توانست ترکیبات اصلی بادرنجبویه را افزایش دهد.

REFRENCES

Ahmed, A. M. A., Talaat, I. M. & Khalid, K. A. 2017. Citric acid affects *Melissa officinalis* L. essential oil under saline soil. *Asian. J. Crop Sci*. 9, 40–49.

Akula R. & Ravishankar G. A. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signal. Behav*. 6, 1720-1731.

Alvaro, J. E., Lao, M. T., Urrestarazu, M., Baghour, M & Abdelmajid, M. 2016. Effect of nutrient solution salinity and ionic concentration on parsley (*Petroselinum crispum* Mill.) essential oil yield and content. *J. Plant Nutr. 39*, 1057–1062.

Amiri, H. & Ghasemi Ramazanabad, Z. 2018. Study of the effect of salinity stress on the chemical composition of *Satureja rechingeri* Jamzad essential oil. *J. Plant Res.* 31 (2), 248-257.

Anwar, M., Patra, D. D., Chand, S., Alpesh, K., Naqvi, A. A. & Khanuja, S. P. S. 2005. Effect of organic manures and inorganic fertilizer on growth, herb and oil yield, nutrient accumulation, and oil quality of french basil. *Commun. Soil Sci. Plant Ana*. 36(13-14), 1737-1746.

Asghari, M., Yousefirad, M. & Masoumi Zavarian A. 2015. Study of the effects of organic compost and vermicompost fertilizers on quantitative and qualitative traits of Behlimo medicinal plant. *J. Medicin. Plants*. 2(58), 63-71.

Ashraf M. & Akhtar, N. 2004. Influence of salt stress on growth, ion accumulation and seed oil content in sweet fennel. *Bol. Plant*, 48(3), 461-464.

Baâtour, O., Kaddour, R., Mahmoudi, H., Tarchoun, I., Bettaieb, I., Nasri, N., Mrah, S., Hamdaoui, G., Lachaâl, M. & Marzouk, B. 2011. Salt effects on *Origanum majorana* fatty acid and essential oil composition. *J. Sci. Food Agric*. 91, 2613–2620.

Bahcesular, B., Yildirim, E. D., Karaçocuka, M., Kulakb, M. & Karaman S. 2020. Seed priming with melatonin effects on growth, essential oil compounds and antioxidant activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) under salinity stress. *Indus. Crop Pro*. 146, 112165.

Banerjee, A. & Roychoudhury, A. 2018. Effect of Salinity Stress on Growth and Physiology of Medicinal Plants. *Sprin*. 177-188.

Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Rahali, F. Z., Msaada, K., Ksouri, R. & Marzouk, B. 2017. Relation between salt tolerance and biochemical changes in cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. *J. Food Drug Anal*. 25, 391–402.

Bonacina, C., Borsari Trevizan, C., Stracieri, J., dos Santos, T. B., Gonçalves, J. E., Cristiani Gazim, Z. & Hülse de Souza, S. J. 2017. Changes in growth, oxidative metabolism and essential oil composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) subjected to salt stress. *Austr. J. Crop Sci*. 11(12), 1665-1674.

Bonacina, C., Trevizan, C. B., Stracieri, J., Santos, T. B., dos Gonçalves, J. E., Gazim, Z. C. & Souza, S. G. H. 2018. Changes in growth, oxidative metabolism and essential oil composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) subjected to salt stress. *Aust. J. Crop Sci*. 11, 1665–1674.

Bonfim, F. P. G., Honorio, I. C. G., Reis, I. L., Pereira, A. J. & Souza, D. B. 2011. Caderno dos microrganismos eficientes (EM): instrucoes praticas sobre uso ecologico e social do EM. Universidade Federal de Vicosa: Departamento de Fitotecnia, 32 p.

Davies, N. W. 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20 M phases. *J. Chromato*. 503: 1–24.

Delfine, S., Tognetti, R., Desiderio, E. & Alvino, A. 2005. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. *Agro. sustain Develop.* 25(2), 183-191.

Fallah, S., Rostaei, M., Lorigooini, Z. & Abbasi Surki, A. 2018. Chemical compositions of essential oil and antioxidant activity of dragonhead (*Dracocephalum moldavica*) in sole crop and dragonhead soybean (*Glycine max*) intercropping system under organic manure and chemical fertilizers. *Indus. Crop Pro*. 115, 158–165.

Gohari, Gh., Mohammadi, A. & Duathi Kazemnia, H. 2019. Effect of Vermicompost on Some Growth and Biochemical Characteristic of Dracocephalum moldavica L. under Water Salinity Stress. *J. Agric. Sci. Sustain Pro*. 29(1), 151-168.

Gorgini Shabankareh, H., Fakheri, B. A. & Mohammad Puroshvaei, R 2014. Effect of different levels of salinity and drought stress on growth indices and essential oil of lemongrass (*Melissa officinalis* L.). *Iran Crop Sci*. 46 (4), 686-673.

Hosseini, H., Mousavifard, S., Fatehi, F. & Ghaderi, A. 2015. Phytochemical changes and morphophysiological traits of thyme (*Thymus vulgaris* L. CV Varico 3) under salinity stress. *Quar J. Med. Plant.* 1 (10), 22-33.

Hosseinzadeh, S. R., Amiri, H. & Ismaili, A. 2016. Effect of vermicompost fertilizer on photosynthetic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Photosyn*. 54(1), 87-92.

Kapoor, R., Giri, B. & Mukerji, K. G. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in Foeniculum vulgare mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Biores. Techno*. 93(3), 307-311.

Khadem al-Husseini, Z., Jafarian, Z., Roshan, W. & Ranjbar. G. H. 2018. The effect of water salinity on the quantity and quality of biochemical compounds of Lemongrass (*Melissa officinallis* L.). *Rangel. J. Sci Res.* 12 (3), 379-370.

Khalid Kh, Cai W. 2011. The effects of mannitol and salinity stresses on growth and biochemical accumulations in lemon balm. *J. Acta Ecolo. Sini*. 31, 112–120.

Khoramivafa, M., Arivn, K. & Sayyadian, K. 2018. Quantity and Quality of Dill Essential Oil as Influenced by Organic Fertilizers. *J. Medi. Plant By-product.* 1, 49-57.

Lakhdar, A., Rabhi, M., Ghnaya, T., Montemurro, F., Jedidi, N.& Abdelly, C. 2009. Effectiveness of compost use in salt-affected soil. *J. hazard mater*. 171(1-3), 29-37.

Menezes, C., Guerra, F. Q., Pinheiro, L. S, Trajano, V. N., Pereira, F., deSouza, V. G., deSouza FS. & Lima, E. 2015. Investigation of *Melissa officinalis* L. essential oil for antifungal activity against Cladosporium carrionii. *Inter. J. Tropica Disease Health*. 8, 49-56.

Mirzajani, M. R., Majidian, M. & Mohsenabadi Gh. 2019. Evaluating the Effect of Integrated Nutrition on Quantitative Yield and Essential Oil Percentage of Lemon Balm (*Melissa officinalis*). *Plant Pro*. 42(4), 469-482.

Mohsenzadeh, S. & Zamanpour Shahmansouri, H. 2019. Evaluation of Municipal Solid Waste Compost and Agricultural Waste Vermicompost by Growth of *Lippia citriodora* Under Salinity Stress. *J. Environ. Sci. Studi*. 4(4), 2135-2143.

Mokhtarzadeh, S., Demircia, B., Gogerb, G., Khawarc, K. M. & Kirimer, N. 2018. Characterization of volatile components in *Melissa officinalis* L. under in vitro conditions. *J. Essel. Oil Res*. 29(4), 299-303.

Mona, Y., Kandil, A. M. & Swaefy Hend, M. F. 2008. Effect of three different compost levels on fennel and salvia growth character and their essential oils. *Biol Sci*. 4, 34 - 39.

Nikolova, M. T., Ivancheva, S. V. 2005. Quantitative flavonoid variations of *Artemisia vulgaris* L. and *Veronica chamaedrys* L. in relation toaltitude and polluted environment. *Acta Bio. Szeged sci.* 49(3-4), 29-32.

Ozturk, A., Unlukara, A., Ipek, A. & Gurbuz, B. 2004. Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Pakistan J. Bot*. 36, 787–792.

Said-Al Ahl, H. A. H. & Hussein, M. S. 2010. Effect of water stress and potassium humate on the productivity of oregano plant using saline and fresh water irrigation. *Ozean J. App Sci*. 3, 125–141.

Said-Al Ahl, H. A. H. & Omer, E. A. 2011. Medicinal and aromatic plants production under salt stress. A review Herba Polonica. 57, 72–87.

Said-Al Ahl, H. A. H., Abou-Ellail, M. & Omer, E. A. 2016. Harvest date and genotype influences growth characters and essential oil production and composition of Petroselinum crispum plants. *J. Chem Pharm. Res*. 8, 992–1003

Uyanik, M. & Gurbuz, B. 2014. Chemical diversity in essential oil composition of leaf, herb and flower in lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Turk. J. Agric. Natur. Sci*. 1, 210-214.

Valifard, M., Mohsenzadeh, S., Kholdebarin, B. & Rowshan, V. 2014. Effects of salt stress on volatile compounds, total phenolic content and antioxidant activities of *Salvia mirzayanii*. *Afr. J. Bot.* 93, 92–97.

Verpoorte, R., Contin, A. & Memelink, J. 2002. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phyto. chem*. 1, 13-25.

Young-Cheol, Y., Hoi-Seon, L., Si Hyeock, L., Marshall, C. & Young-Joon, A. 2005. Ovicidal and adulticidal activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil compounds and related compounds against *Pediculus humanus* capitis (Anoplura: Pediculicidae). *Inter. J. Parasit*. 35, 1595–1600.

Sustainable Agricultural Science Research /Vol. 1/No. 4/Winter 2021/P: 45 -63

https://www.sarj.iauk.ac.ir

The Effect of Culture Medium, Organic Matter and Salinity on the Amount and Active Ingredients of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) Essential Oil

Shima Rahmanian[1], Abdolhossein Aboutalebi Jahromi[*2] and Mehdi Hossini Fahi[3]

[1]Ph.D Student of Horticulture, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran.

[*2] Associate Professor of Horticulture, Jahroom Branch, Islamic Azad University, Jahroom, Iran.

[3] Associate Professor of Horticulture, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran.

Corresponding Author's Email: aa84607@gmail.com

(Received: January. 25, 2022 – Accepted: February. 7, 2022)

ABSTRACT

To study the effect of culture medium, organic matter, and salinity on active compounds of lemon balm, a factorial experiment was conducted in completely randomized design with 3 replications. First factor (culture medium at three levels; compost+arable soil, vermicompost+arable soil, and compost+vermicompost+arable soil), second factor (organic matter; humic acid (HA) and effective microorganisms (EM) both 5 per 1000); and third factor (salinity; tap water, 40 and 80mM). Examination of essential oils by the GC method revealed the presence of 34 compounds. These compounds were affected by substrate and salinity. The major constituents of essential oils including Trans-carveol, Carvacrol acetate, Isoborneol, Isopulegol and γ-3-Carene were observed in the combined substrate of arable soil+compost+vermicompost, and the highest levels of 1,3,8-P-menthatriene, Citronellol, and γ-Terpinene were observed in the combined substrate of arable soil+compost. With increasing salinity, amount of Trans-carveol, Carvacrol acetate, γ-Terpinene, Isoborneol, Citronellol increased, and γ-3-Carene, Isopulegol and 1,3,8-P-menthatriene decreased significantly. The highest percentages of Trans-carveol (21.85), Isoborneol (12.90), Carvacrol acetate (11.78) were observed in the salinity of 80mM in combined substrate of arable soil+compost+ vermicompost. The highest percentage of Citronellol (11.12) and γ-Terpinene (9.87) were recorded under compost substrate. In the control and with a combined substrate of arable soil+compost, the highest percentage of compounds, including 1,3,8, P-menthatriene (9.93) was observed. Finally, the combined substrate of arable soil+compost+vermicompost caused the highest percentages of Isopulegol (8.98) and γ-3-Carene (8.47). Application of HA could increase the main constituents, in lemon balm.

Keywords: Compost, Vermicompost, Sodium chloride, Essential oil compounds