

تاثیر مقادیر مختلف کود نیتروژنه و زمان برداشت بر کمیت و کیفیت اسانس و
میزان فنل کل در گیاه دارویی *Satureja hortensis* L. در استان کرمان

میترا مهربانی¹، زهرا مهدوی میمند^{2*}، بهشته خاندانی زاده³ و نوید حسن آبادی⁴

¹ مرکز تحقیقات داروهای گیاهی و سنتی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

² گروه فارماکوتکونزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

² دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

⁴ دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: 93/8/6 تاریخ پذیرش: 93/11/21

چکیده

در این مطالعه تاثیر مقادیر مختلف کود ازت و ساعات مختلف برداشت بر کمیت و کیفیت اسانس و میزان فنل کل در گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با 3 تکرار و اثر چهار سطح کود نیتروژن (0، 50، 100 و 150 کیلوگرم در هکتار) و در ساعات مختلف برداشت (6، 12 و 18) انجام شد. اسانس گیاه توسط دستگاه کلونجر (تقطیر با آب) با تعیین درصد اسانس، استخراج و سپس ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس توسط دستگاه GC-MS مورد تجزیه قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری میزان فنل کل از روش فولین - سیکالتو و برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از روش آنالیز واریانس دو طرفه و نرم‌افزار SPSS استفاده شد. نتایج نشان داد که میزان کود در افزایش یا کاهش اسانس و سپس فنل کل در گیاه تاثیر دارد ($P < 0/05$) اما در ترکیبات اسانس تاثیر قابل ملاحظه‌ای ندارد. با افزایش کود نیتروژن به میزان 50 تا 100 کیلوگرم در هکتار باعث افزایش مقدار اسانس و فنل کل شده در حالی که با افزایش بیشتر کود از میزان اسانس و فنل کل کاسته می‌شود. همچنین ساعت برداشت در میزان اسانس و فنل جذب شده نیز تاثیر دارد ($P < 0/05$). به طوری که میزان فنل در برداشت صبحگاهی بیشتر از ظهر و عصر است و میزان اسانس در برداشت ساعات آخر روز بیشتر است. بنابراین به منظور دستیابی به بیشترین مقدار اسانس و فنل کل در گیاه مرزه بهتر است این گیاه در شرایطی با میزان کود نیتروژن بین 50 تا 100 کیلوگرم در هکتار کاشت و برداشت شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس مرزه، برداشت روزانه، فنل کل، کود نیتروژن، کرمان

مقدمه

آن استفاده می شود این اسانس در صنایع مختلف از جمله کنسرو، نوشابه و فرآوری تکه‌های گوشت و انواع سوسیس استفاده می‌شود (Kamkar et al., 2013). اسانس این گیاه خاصیت ضد میکروبی داشته و مانع رشد برخی از باکتری‌ها و قارچها می‌شود (Mahbobi et al., 2011).

در اکوسیستم‌های زراعی شناخت عوامل افزایش دهنده کیفیت و کمیت یک امر ضروری است که بسته به نوع گیاه می‌تواند جهت دستیابی به حد مطلوب مورد ملاحظه قرار گیرد. بنابراین ارائه روش‌هایی که بتواند گیاه دارویی سالم با مواد موثر بیشتر تولید نماید ضروری به نظر می‌رسد (Azarnivand et al., 2011). عواملی مانند رطوبت، آب، عناصر غذایی، نور، ارتفاع از سطح دریا از جمله عوامل اساسی و تعیین کننده در کمیت و کیفیت گیاهان هستند (Habibi et al., 2006). در این بین سطوح مختلف کودی از کودهای متفاوت، یکی از عوامل تاثیرگذار برای دستیابی به شرایط مناسب در طول دوره رشد و نمو جهت حصول حداکثر عملکرد کمی و کیفی در گیاهان دارویی می‌باشد. کاربرد سطوح مختلف کودی سبب برخورد مراحل رشد رویشی و زایشی گیاه با عناصر غذایی متفاوت می‌گردد و از این طریق بر رشد، نمو و عملکرد گیاه تاثیر می‌گذارند (Eblagh et al., 2013). نیتروژن عنصری ضروری و اساسی برای گیاهان محسوب می‌گردد و با عناصری نظیر کربن، اکسیژن، هیدروژن و حتی گوگرد ترکیب شده و مواد بسیار ارزشمندی نظیر آمینو اسیدها، نوکلئیک اسیدها، آلکالوئیدها و بازهای پورینی را تولید می‌نماید. کمبود این عنصر تقریباً در همه خاک‌ها، وجود دارد که این کمبود را بوسیله استعمال کود برطرف می‌کنند. از آنجایی که در تولید گیاهان دارویی مهمترین مسئله، طبیعی بودن مواد استحصال شده از آنها می‌باشد،

جنس مرزه *Satureja L.* متعلق به تیره نعناع (Labiatae)، دارای گیاهانی معطر دارای ساقه‌های متعدد، برگ‌ها باکناره صاف، گلها معمولاً چرخه‌ای، پرچم‌ها چهار عدد و کلاله دارای لوب‌های مساوی است (Jamzad, 2012). بیش از 200 گونه آن در سرتاسر جهان پراکنده‌اند این گیاهان بیشتر در شرق دریای مدیترانه، کناره دریای سیاه، نواحی جنوبی اروپا و نقاط مرکزی و جنوب غربی آسیا مانند ایران و سیبری انتشار دارد (Sonboli et al., 2004). این جنس در ایران دارای 15 گونه می‌باشد که 9 گونه از آن به نام‌های *S. sahendica*, *S. kallarica*, *S. bachtiarica*, *S. rechingeri*, *S. intermedia*, *S. S. isophylla*, *atropatana*, *S. khuzistanica edmondi*, *S.* علاوه بر ایران در تالش، ترکمنستان، ترکیه، قفقاز و عراق رویش دارد (Sefidkon et al., 2009). گیاه *S. hortensis* تحت نام مرزه تابستانه گیاهی علفی و یکساله است این گیاه دارای ساقه چهار گوش، ارتفاع آن بین 30 تا 60 سانتی‌متر و برگ‌ها نیزه‌ای شکل با دم برگ کوتاه که اسانس در حفره‌های مخصوصی در دو طرف برگ تشکیل میشود و میوه آن کوچک، کروی شکل و از نوع فندقه تتراکن است (Ahmadi et al., 2009). در طب سنتی از مرزه به عنوان یک داروی گیاهی محرک، اشتهاآور، ضد نفخ و خلط آور استفاده می‌شود (Sefidkon et al., 2009). مرزه همچنین دارای اثرهای درمانی همچون تسهیل کننده عمل هضم، مقوی معده، مدر، بادشکنو به‌طورخفیف دارای اثر قابض، ضد نزله، رفع اسهال و ضدکرم می‌باشد و به‌عنوان چاشنی و ادویه مصرف می‌شود (Ebadi et al., 2011). اسانس گیاه مرزه موارد استفاده زیادی دارد. اسانس این گیاه طبیعت نسبتاً گرم و خشک دارد. ضد نفخ و اشتهاآور و برای تسکین درد دندان از

استخراج اسانس، تقطیر با آب را بهترین روش دانستند. ولی در مورد تاثیر ساعات برداشت، بر روی اسانس و ترکیبات فنلی گیاه مرزه تاکنون گزارشی داده نشده است. با توجه به اهمیت ترکیب‌های فنولی و اسانس در صنعت داروسازی و از آنجا که ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس در مراحل مختلف برداشت گیاه متفاوت می‌باشد، بنابراین تعیین بهترین ساعت برداشت به‌ویژه در شرایط زراعی جهت حصول حداکثر ترکیب‌های مهم اسانس از اهمیت خاصی برخوردار است.

با توجه به اهمیت میزان این ترکیبات در یک گیاه دارویی، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر سطوح مختلف کودشیمیایی نیتروژن و ساعات مختلف برداشت روی گیاه دارویی مرزه *Satureja hortensis* L. به‌منظور تعیین بهترین تیمار کودی و ساعت برداشت و چگونگی تاثیر آن بر تغییرات اسانس و ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس و همچنین میزان ترکیبات فنلی موجود در عصاره تام این گیاه در شرایط آب و هوایی شهر کرمان انجام شد.

مواد و روش‌ها

آب و هوا و شرایط جغرافیایی: شهر کرمان در عرض جغرافیایی ۳۰°۲۹' و طول جغرافیایی ۵۷°۰۶' قرار گرفته‌است. به‌طورکلی آب و هوای این شهر به‌دلیل ارتفاع زیاد از سطح دریا (1755 متر) به نسبت خنک و معتدل است و متوسط درجه حرارت 15/8 درجه و حداکثر مطلق: ۳۹ درجه حداقل مطلق: ۱۴- درجه است میانگین بارش سالانه ۱۵۵ میلی‌متر می‌باشد.

کاشت و برداشت گیاه مرزه: بذره‌های مورد نیاز گیاه مرزه از مرکز تحقیقات منابع طبیعی تهیه گردید و در زمینی به مساحت 200 مترمربع در باغ گیاهان دارویی دانشکده داروسازی کاشته شد. این طرح به‌صورت فاکتوریل در قالب بلوک کامل تصادفی در سه تکرار

می‌بایست در بکارگیری از کودهای شیمیایی دقت نظر بیشتری اعمال نمود. بنابراین تعیین مقدار مناسب کود حائز اهمیت می‌باشد. حاصلخیزی خاک یکی از مهمترین عوامل در بالا بردن عملکرد می‌باشد. وجود کلروفیل به عنوان مکانی برای جذب نور و سنتز مواد لازم برای رشد و نمو گیاهان وابسته به این عنصر حیاتی می‌باشد (Alizadeh Sahzabi et al., 2007). زمان مصرف کود نیتروژن می‌تواند اثر شدیدی بر عملکرد گیاهان داشته باشد هر چند که علائم نیتروژن در بوته‌های جوان مشاهده نمی‌شود ولی این امر که نیتروژن قبل از تشکیل گل به‌ویژه در زمانی بین 20 تا 40 روز پس از کاشت به حد کافی موجود باشد. از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Ameri et al., 2012). در خصوص تاثیر کودهای شیمیایی بر میزان اسانس و ترکیب‌های اصلی اسانس گیاهان دارویی از جمله مرزه، نتایج گزارش شده است. Sadeghi و همکاران (2012) در بررسی شرایط مختلف نوری بر عملکرد اسانس گیاه مرزه نتیجه گرفته‌اند که شرایط مختلف نوری تاثیر قابل توجه‌ای بر ترکیبات اسانس این گیاه دارد، از مجموع 28 ترکیب شناسایی شده در این گیاه توسط ایشان کارواکول ترکیب اصلی اسانس این گیاه را تشکیل می‌دهد.

متابولیت: در مورد تاثیر زمان برداشت و نحوه خشک کردن و روش‌های استخراج اسانس در گیاه مرزه بر میزان اسانس و ترکیبات موجود در اسانس تحقیقاتی انجام گرفته و نتایج متفاوتی را نشان داده است. در تحقیقی که توسط عبادی و همکارانش (2011) انجام گرفت نشان دادند که نحوه خشک شدن (درآون یا در سایه و یا در آفتاب) بر میزان اسانس تاثیر دارد. اما سفیدکن و همکاران (2006) که روش‌های مختلف خشک کردن اسانس‌گیری گیاه مرزه را بررسی کردند، نحوه خشک کردن را فاقد اثر ولی در بین روش‌های

منصور میر تاج‌الدینی (دانشگاه شهید باهنر کرمان) با شماره هرباریمی KF1384 مورد تایید قرار گرفت و بقیه گیاهان از حدود یک سانتیمتری بالای سطح خاک در ساعات مختلف (6 صبح و 12 ظهر و 6 عصر) جمع‌آوری گردید. پس از برداشت کامل مزرعه، اقدام‌های مورد نظر پاکسازی و در شرایط مناسب خشک گردید و تا زمان اسانس‌گیری و انجام سایر آزمایشات، در مکانی با درجه حرارت پایین، بدون رطوبت و نور نگهداری شد.

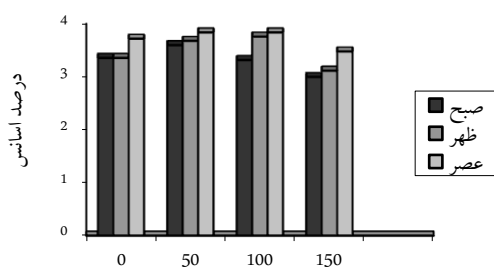
تیمارها به صورت طرح کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی و اثر چهار سطح کود نیتروژن (0، 50، 100 و 150 کیلوگرم ازت خالص در هکتار) و در ساعات مختلف برداشت (6 صبح، 12 ظهر و 6 عصر) در سه تکرار به مرحله اجرا در آمد. کشت در تاریخ 20 فروردین‌ماه 1390 انجام گرفت. حدود 30 روز پس از اعمال مرحله سوم تیمارها و در زمان گل دهی بذرها، اقدام به برداشت گیاهان شد (Alizadeh *et al.*, 2010). ابتدا نمونه هرباریمی کامل از این گیاه تهیه شد و توسط دکتر



شکل 1. نمایی از مزرعه کاشته شده قبل از برداشت

اندازه‌گیری فنل کل: عموماً برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی از روش خولین سیکالتو استفاده می‌شود. ابتدا 0/2 گرم از هر نمونه پودر برداشته و با 10 سی‌سی متانول 80 درصد عصاره‌گیری کرده و پس از صاف کردن، در لوله آزمایش به 0/1 میلی‌لیتر از این عصاره‌ها (با غلظت 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و غلظت‌های مختلف از اسیدگالیک و 0/5 میلی‌لیتر معرف فولینسیکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت 1 به 10) و 0/4 میلی‌لیتر کربنات سدیم 7/5٪ اضافه و مخلوط و به نسبت 1 به 10 با آب رقیق شد. بعد از 30 دقیقه در دمای محیط آزمایشگاه، در شرایط تاریک توسط دستگاه شیکر تکان داده شد و سپس جذب نوری نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج 765 نانومتر قرائت شد. مقادیر فنل تام در نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد

اسانس‌گیری و تجزیه اسانس: ابتدا سرشاخه‌های گلدار گیاهان آسیاب شد و به صورت پودر درآمد. سپس جهت استخراج اسانس 25 گرم از هر نمونه به دقت توزین گردید و اسانس آن توسط دستگاه کلونجر (تقطیر با آب) ساخت شرکت اشک شیشه، پس از مدت زمان ثابت (2 ساعت) جمع‌آوری در صد اسانس برای هر نمونه اندازه‌گیری شد. اسانس بدست آمده پس از آبیگری با سولفات سدیم بدون آب توسط دستگاه GC-MS با استفاده از ستون DB5 چهل‌متری برای اسانس‌ها مورد تجزیه قرار گرفت و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آن با استفاده از محاسبه ضرایب بازداری هر یک از اجزای تفکیک شده و طیف جرمی آنها و مقایسه با استاندارد، شناسایی شد (Karimi *et al.*, 2012).



میزان کود (کیلوگرم کود در هکتار)

شکل 2. نمودار تاثیر مقادیر کود نیتروژنی (0، 50، 100، 150 کیلوگرم در هکتار) و ساعات برداشت (6 صبح، 12 ظهر و 6 عصر) بر درصد اسانس

تجزیه اسانس

از آنالیز اسانس در دستگاه GC-Mass حداکثر 32 ترکیب شناسایی گردید که در تمام نمونه‌ها از بین آنان به ترتیب کارواکرول، گاما- ترپینن، آلفا-ترپینن، پارا-سیمن، میرسن، آلفا-توجن و آلفا-پنین فراوان‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس بودند که در مجموع کارواکرول و گاما-ترپینن بیش از 80 درصد ترکیبات موجود در اسانس گیاه مرزه را در تمام نمونه‌ها شامل می‌شوند. درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌ها در جدول 1 آمده است.

فصل کل: نتایج حاصل از مقایسه میانگین سه تکرار عصاره‌های گیاه مرزه در تیمارهای مختلف کود نیتروژن (0، 50، 100 و 150 کیلوگرم ازت خالص در هکتار) و در ساعات برداشت (6 صبح، 12 ظهر و 6 عصر) نشان داد که با افزایش کود به میزان 50 تا 100 کیلوگرم در هکتار میزان فنل تام نیز مانند اسانس افزایش می‌یابد و زیاده‌تر از آن باعث کاهش میزان فنل تام می‌شود اما در مورد ساعت برداشت می‌توان گفت که میزان فنل در برداشت صبح بیشتر از ظهر و عصر است نتایج در جدول 2 آمده است.

برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان گردید (Alizadeh et al., 2010).

آنالیز آماری

داده‌ها پس از جمع‌آوری با استفاده از نرم‌افزاری SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای بررسی نتایج و مقایسه میانگین عصاره‌های گیاه مرزه در تیمارهای مختلف از آزمون تجزیه واریانس دو طرفه ANOVA جهت مقایسه کلی و پس از آزمون توکی جهت مقایسه زیرگروه‌ها استفاده شد تمامی اندازه‌گیری‌ها برای هر نمونه گیاهی سه بار تکرار شد و مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارشگر دید.

نتایج

اسانس‌گیری: نتایج حاصل از تاثیر مقادیر کود نیتروژنی (0، 50، 100، 150 کیلوگرم در هکتار) و ساعات برداشت (6 صبح، 12 ظهر و 6 عصر) بر مقدار اسانس نشان داد که با افزایش کود به میزان 50 تا 100 کیلوگرم در هکتار میزان اسانس افزایش می‌یابد و در صورت افزایش میزان کود، باعث کاهش میزان اسانس می‌شود. برداشت گیاه به ترتیب از 6 صبح تا ساعت 6 عصر مقدار اسانس در هر کدام از تیمارهای کود افزایش می‌یابد اثرات متقابل مصرف نیتروژن در خاک و ساعت برداشت نشان داد که بیشترین مقدار اسانس مربوط به کود به میزان 50 تا 100 کیلوگرم در هکتار و برداشت در ساعت 6 عصر است و میزان اسانس بین حداقل 3 تا 3/84 درصد. وزنی-حجمی متغیر است. نتایج در شکل 2 آمده است.

جدول ۱. اجزای تشکیل دهنده اسانس گیاه مرزه (*Satureja hortensis L.*) در مقادیر کود نیتروژنی (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) و ساعات برداشت (صبح ۶، ظهر ۱۲ و عصر ۱۸)

ردیف	نام ترکیبات شیمیایی	مقدار کود			مقدار کود			مقدار کود			ردیف
		۵۰ کیلوگرم در هکتار	۱۰۰ کیلوگرم در هکتار	۱۵۰ کیلوگرم در هکتار	۵۰ کیلوگرم در هکتار	۱۰۰ کیلوگرم در هکتار	۱۵۰ کیلوگرم در هکتار	۵۰ کیلوگرم در هکتار	۱۰۰ کیلوگرم در هکتار	۱۵۰ کیلوگرم در هکتار	
۱	α -thujene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۲	α -pinene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۳	camphene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۴	sabinene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۵	1-Octen-3-ol	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۶	β -pinene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۷	myrcene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۸	3-Octanol	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۹	α -phellandrene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۱۰	p-mentha-1(7),8-Diene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۱۱	α -terpinene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۱۲	p-cymene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۱۳	limonene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۱۴	β -phellandrene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۱۵	1,8 Cineole	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۱۶	β -(E) Ocimene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۱۷	γ -terpinene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۱۸	cis-sabinene hydrate	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰
۱۹	terpinolene	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۵۰

ادامه جدول 1.

۳۰	linalool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۸۶۰۱
۳۱	trans-sabinene hydrate	۱۷/۰	۶۰/۰	۳۷/۰	۵۷/۰	۶۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۷۶۰۱
۳۲	borneol	۵/۰	۳۷/۰	۸۷/۰	۵۷/۰	۳۷/۰	۳۷/۰	۳۷/۰	۳۷/۰	۳۷/۰	۳۷/۰	۳۷/۰	۳۷/۰	۳۷/۰	۳۷/۰	۳۷/۰	۳۷/۰	۶۱۱۱
۳۳	terpinen-4-ol	۳۳/۰	۵۳/۰	۳۳/۰	۸۳/۰	۵۳/۰	۳۳/۰	۳۳/۰	۳۳/۰	۳۳/۰	۳۳/۰	۳۳/۰	۳۳/۰	۳۳/۰	۳۳/۰	۳۳/۰	۳۳/۰	۸۱۱۱
۳۴	p-cymen-8-Ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۳۸۱۱
۳۵	α-terpineol	۵۰/۰	۶۰/۰	۸۰/۰	۷۰/۰	۵۰/۰	۵۰/۰	۵۰/۰	۵۰/۰	۵۰/۰	۵۰/۰	۵۰/۰	۵۰/۰	۵۰/۰	۵۰/۰	۵۰/۰	۵۰/۰	۶۷۱۱
۳۶	γ-terpineol	۸۰/۰	-	-	۸۰/۰	۸۰/۰	۸۰/۰	۸۰/۰	۸۰/۰	۸۰/۰	۸۰/۰	۸۰/۰	۸۰/۰	۸۰/۰	۸۰/۰	۸۰/۰	۸۰/۰	۶۶۱۱
۳۷	trans - dihydro carvone	-	۷۰/۰	۸۰/۰	۳۰/۰	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱۰۲۱
۳۸	methyl ether- thymol	۰/۰	۱/۰	۰/۰	۶۸/۰	۳۸/۰	۱/۰	۱/۰	۱/۰	۱/۰	۱/۰	۱/۰	۱/۰	۱/۰	۱/۰	۱/۰	۱/۰	۵۳۱۱
۳۹	thymol	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۸۷/۰	۰۶۲۱
۴۰	carvacrol	۵۵/۰۳	۶۶/۰۳	۵۳/۱۳	۵۶/۷۸	۳۶/۷۸	۸۶/۶۴	۶۶/۱۳	۸۷/۰۳	۷۸/۸۸	۳۶/۰۳	۶۶۲۱	۶۶۲۱	۶۶۲۱	۶۶۲۱	۶۶۲۱	۶۶۲۱	۶۶۲۱
۴۱	thymol acetate	۶۶/۰	۸۸/۰	۵۰/۱	۳۵/۰	۱۷/۰	۱۱/۰	۶۳/۰	۸۶/۰	۳۶/۰	۷۰/۰	۲۵۳۱	۲۵۳۱	۲۵۳۱	۲۵۳۱	۲۵۳۱	۲۵۳۱	۲۵۳۱
۴۲	Z - caryophyllene	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۵۲/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۶۰۳۱
۴۳	bicyclo germacrenel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰۰۵۱
۴۴	β,-bisabolene	۳۸/۰	۳۸/۰	۷۷/۰	۱۸/۰	۳۸/۰	۶۷/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۳۸/۰	۶۰۱

جدول 2. نتایج حاصل مقایسه میانگین میزان فنل تام در سه تکرار عصاره‌های گیاه مرزه در تیمارهای مختلف کود نیتروژن (0، 50، 100 و 150 کیلوگرم ازت خالص در هکتار) و در ساعات برداشت (6 صبح، 12 ظهر و 6 عصر)

ساعت برداشت			میزان کود
6 عصر	12 ظهر	6 صبح	
16/71 ± 0/79 ^{*BC(b)}	17/11 ± 0/33 ^{*BC(b)}	19/45 ± 2/45 ^{*BC(a)}	150
18/46 ± 0/48 ^{*AB(b)}	20/36 ± 0/33 ^{*AB(b)}	19/56 ± 1/92 ^{*AB(a)}	100
17/95 ± 0/81 ^{*A(b)}	18/40 ± 0/62 ^{*A(b)}	19/58 ± 1/98 ^{*A(a)}	50
16/16 ± 0/04 ^{*C(b)}	15/91 ± 2/53 ^{*C(b)}	19/33 ± 0/69 ^{*C(a)}	0

* اختلاف در سطح 0/05 درصد معنی دار، حروف بزرگ برای بررسی اختلاف سطری (میزان فنول در کودهای مختلف)، حروف کوچک برای بررسی اختلاف ستونی (میزان فنول در زمان‌های مختلف) و حروف متمایز اختلاف را نشان می‌دهند. Coefficient of variation : 25.68%

کارواکرول، گاما-تریپنین، آلفا-تریپنین، پارا-سیمن، میرسن، آلفا-توجین و آلفا-پینین فراوانترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس هستند که در مجموع کارواکرول و گاما تریپنین بیش از 80 درصد ترکیبات موجود در اسانس گیاه مرزه را در تمام نمونه‌ها شامل می‌شوند.

تنوع ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) جمع‌آوری شده از جاهای مختلف و تحت تاثیر شرایط مختلف، زیاد است. در نتیجه تحقیقی که کامکار و همکاران (2013) بر روی گیاه مرزه جمع‌آوری شده از منطقه اووان انجام دادند بازده اسانس 1.91 درصد وزنی / وزنی بود و تیمول، کارواکرول، گاما-تریپنین و پارا-سیمن را به‌عنوان چهار ترکیب اصلی اسانس در این گیاه گزارش کردند و همچنین بیان کردند. کارواکرول (26 درصد) از ترکیبات عمده اسانس گیاه *Satureja hortensis* L. را شامل می‌شود. کریمی و همکاران (2012) که تغییرات ترکیبات اسانس این گیاه را قبل و بعد از مرحله گلدهی بررسی کردند گفتند که درصد اسانس 2/05 درصد وزنی / حجمی است و کارواکرول با 49/96 درصد، اصلی‌ترین ترکیب اسانس این گیاه است که از این جهت با نتایج کار در تحقیق حاضر شباهت دارد. اما در تحقیق حاضر میانگین کارواکرول

بحث

آنچه که از نتایج فوق حاصل می‌شود این است که افزایش میزان کود نیتروژن مصرفی از یک حد خاصی، موجب کاهش بازده اسانس در این گیاه می‌شود. علت این امر احتمالاً ناشی از تحریک تولید مواد اولیه در تیمارهای مربوط به مقادیر بالای مصرف کود در خاکمی باشد و این مساله می‌تواند بیان کننده محدودیت گیاه مرزه در استفاده از کود شیمیایی نیتروژن جهت افزایش درصد اسانس باشد. در مورد ساعات برداشت می‌توان گفت که جهت افزایش میزان اسانس، بهترین ساعات برداشت در تیمارهای مختلف کود در ساعات آخر روز (عصر) است و علت نیز می‌تواند این باشد که با افزایش بیشتر جذب نور در طول روز اسانس بیشتری تولید می‌شود. از آنجایی که با اعمال تیمارهای مختلف، امکان افزایش بازده اسانس وجود دارد می‌توان به افزایش بازده اسانس در افزایش مقدار کود نیتروژن تا حد خاصی، و برداشت گیاه مرزه در ساعات آخر روز امیدوار بود. اما ساعات برداشت و مصرف مقادیر مختلف کود نیتروژن روی درصد ترکیبات اسانس تاثیر قابل ملاحظه‌ای نمی‌گذارد. از بین 32 ترکیب شناسایی شده از آنالیز اسانس مرزه در دستگاه GC-Mass، به ترتیب

می‌نمایند. به‌عنوان مثال در محافظت بافت بدن در انواع سرطان‌ها مانند پرستات، سینه، پوست در برابر استرس‌های اکسیداتیو LDL، جلوگیری از اکسیداسیون سرطان روده بزرگ نیز مشخص شده که تاثیر گذارند (Mirzaei et al., 2011). با توجه به فوایدی که پلی‌فنل‌ها در سلامتی انسان دارند و انتشار وسیع ترکیبات فنلی در گیاهان، مطالعاتی منجر به توجه خاص به منابع طبیعی به‌منظور یافتن مولکول‌های آنتی‌اکسیدان شده است. منبع دریافت فنل‌ها در نقاط مختلف جهان به نوع رژیم غذایی مردم منطقه وابسته است (Rodrigues Salgado et al., 2008). در کشور ما مصرف زیاد سبزیجات، علاوه بر تأمین فیبر، ویتامین و املاح، می‌تواند منبع خوب ترکیبات فنلی باشد. فتحی و همکاران (2013) گفته‌اند که ترکیبات پلی‌فنلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی از خودشان نشان داده‌اند. در این بررسی اثر مقادیر مختلف کود ازت و ساعات برداشت بر روی میزان فنل تام گیاه دارویی مرزه که به‌عنوان سبزی خوراکی مصرف دارد اندازه‌گیری شد. آنچه که از نتایج فوق حاصل می‌شود این است که افزایش میزان کود مصرفی از یک حد خاصی، موجب کاهش بازده فنل تام در این گیاه می‌شود. علت این امر احتمالاً ناشی از تحریک تولید مواد اولیه در تیمارهای مربوط به مقادیر بالای مصرف کود در خاک باشد و این مساله می‌تواند بیان‌کننده محدودیت گیاه مرزه در استفاده از کود شیمیایی نیتروژن جهت افزایش میزان فنل تام باشد. جدول 2 مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنلی عصاره‌های حاصل از مقادیر مختلف کود نیتروژن و ساعات برداشت را نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد. میزان کود نیتروژن و ساعات برداشت تاثیر معنی‌داری ($P < 0/05$) بر مقادیر ترکیبات فنلی عصاره‌ها دارد.

در ساعات مختلف برداشت و مقادیر مختلف کود نیتروژن حدود 40 درصد است و این کمتر بودن مقدار کارواکرول نسبت به کار کریمی و همکاران می‌توان به شرایط کاشت این گیاه نسبت داد. این افراد کاشت گیاه را در داخل گلدان با پرلیت متشکل از مواد معدنی انجام دادند. ولی افزایش مقدار کارواکرول در تحقیق حاضر نسبت به نتایج کار کامکار و همکاران (2013) را می‌توان به شرایط آب و هوایی و کاشت و برداشت مرزه ربط داد. باتوجه به اینکه بر اساس آزمایشات محبوبی و همکارش (2011)، کارواکرول خواص ضد میکروبی دارد نتیجه می‌گیریم که شرایط آب و هوایی شهر کرمان برای برداشت این گیاه بهتر از منطقه و اووان است. Mihajilov-Krstev و همکاران (2009) از اندام هوایی *S. hortensis* جهت بررسی خاصیت ضد میکروبی به روش تقطیر با آب (کلونجر) اسانس‌گیری کردند و بازده اسانس 2/05 درصد وزنی/حجمی و از ترکیبات اصلی آن کارواکرول (67 درصد) و گاماترپین (15/5 درصد) را نام برده‌اند. در صورتی که در تحقیق حاضر میزان اسانس در شرایط مختلف کود نیتروژن و ساعات برداشت بین حداقل 3 تا 3/84 درصد وزنی - حجمی متغیر است که به‌طور متوسط بیش از 0/1 درصد زیادتر از نتیجه کار Mihajilov-Krstev و همکاران (2009) است اما از نظر میزان کارواکرول که ترکیب اصلی است با نتایج این محققین مطابقت دارد. زیادتر بودن میزان اسانس در این تحقیق نسبت به تحقیقات قبل که در جاهای مختلف و شرایط مختلف انجام شده است. شاید در ارتباط با میزان نور خورشید و دمای هوا در محل رویش این گیاه باشد که جا دارد تحقیقاتی در این مورد انجام گیرد.

پلی‌فنل‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند و قادرند رادیکال‌های آزاد را جذب نمایند. پلی‌فنل‌ها در محافظت بدن در برابر بیماری‌ها نقش مهمی را ایفا

2. Ahmadi, Sh., Sefidkon, F., Babakhanlo, P., Asgari, F., Khademi, K., and Karimifar, M.A. 2009. Comparing essential oil composition of *Satureja bachtiarica* Bunge before and full flowering stages in field and provenance. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 25(2):160-169 (In Persian).
3. Alizadeh Sahzabi, A., Sharifi Ashorabadi, E., Shiranirad, A.H., Bigdeli, M., and 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 Persian).
4. Alizadeh, A., Khoshkhui, M., Javidnia, K., Firuzi, O., Tafazoli, E. and Ahmad, Khalighi. 2010. Effects of fertilizer on yield, essential oil composition, total phenolic content and antioxidant activity in *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae) cultivated in Iran. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(1):033-040.
5. Ameri, A.A., Rabbani nasab, H., Jalilvand, M.R., and Imani, M. 2012. The survey on phenological stages, the effect of nitrogen fertilizer levels and plant density and stage of flower harvest on flower production, active ingredients of Marigold (*Calendula officinalis*) *Journal of North Khorasan University of Medical Sciences* 4:57-66 (In Persian).
6. Azarnivand, H., Ghavam Arabani, M., Sefidkon, F., and Tavili, A. 2010. The effect of ecological characteristics on quality and quantity of the essential oils of *Achillea millefolium* L. subsp. *Millefolium*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 25(4):556-571.
7. Ebadi, M.T., Rahmati, M., Azizi, M., and Hassanzadeh Khayat, M. 2011. Effects of different drying methods (natural method, oven and microwave) on drying time, essential oil content and composition of Savory (*Satureja hortensis* L.) *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 26(4):477-489.
8. Eblagh, N., Fateh, E., Farzane, M., and Osfuri, M. 2013. Effect of Cattle Manure Application, Phosphate Solubilizing Bacteria and Different Phosphorous Levels on Yield and Essence Components of *Trachyspermum ammi* L. *Knowledge Agricultural and stable*, 1-15 (In Persian).
9. Fathi, A., Sahari, M.A., Barzegar, M., and Naghdi Badi, H. 2013. Antioxidant Activity of *Satureja hortensis* L. Essential Oil and its

نتیجه گیری نهایی

در پایان با بررسی تحقیقات دیگران و یافته‌های این تحقیق مشخص گردید که افزایش میزان کود شیمیایی مخلوط (کود سیاه) تا 500 میلی گرم گیاه باعث افزایش میزان فنل در گیاه مرزه می‌شود و بیش از آن حد میزان فنل در گیاه مرزه کاهش می‌یابد. یعنی اینکه بهترین زمان برداشت نعنای فلفلی از نظر بیشترین درصد اسانس در تیمار صبح بوده است. در تحقیق حاضر نیز در برداشت صبح گیاه مرزه بیشترین میزان فنل تام را دارد. از آنجایی که در بررسی‌های گذشته مشخص شده که افزایش میزان فنل تام با خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن رابطه مستقیم دارد، یعنی اینکه جهت افزایش فنل کل که منجر به افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی مرزه می‌شود، استفاده از کود نیتروژنه بهتر است و میزان کود مصرفی بین 50 تا 100 کیلوگرم ازت خالص در هکتار پیشنهاد می‌گردد، لذا با توجه به اهمیت این موضوع نسبت به افزایش میزان اسانس بهتر است که گیاه مرزه در ساعات اول روز جمع‌آوری شود تا در ساعات آخر روز که گیاه مرزه اسانس بیشتری دارد و در نتیجه معطرتر است.

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان به خاطر حمایت مالی پژوهش حاضر نهایت تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

1. Abibi, H., Mazaheri, D., Majnoon Hosseini, N., and Chaechi, M.R. 2006. Effect of altitude on essential oil and components in wild thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss.) Taleghan region. *Journal of Pajouhesh and Sazandegi*. 73: 2-10 (In Persian).

- Fasa University of Medical Sciences. 3(1):104-111 (In Persian).
17. Rodrigues Salgado, P., Favarin, J.L., Aparecida Leandro, R., and Fontao, O. 2008. Total Phenol Concentrations in Sadeghi Ghotbabadi, F., Alizadeh, A., Zadehbagheri, M., Kamelmanesh, M.M., and Shaabani, M. 2012. Effect of Different Ontogenesis Conditions on Essential Oil Composition of *Satureja Hortensis* L. Cultivated in Iran Advances in Environmental Biology, 6(2):636-640.
 18. Sefidkon, F., Abbasi, Kh., and Bakhshi Khaniki, Gh. 2006. Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. Food Chemistry 99:19-23.
 19. Sefidkon, F., Askari, F., Sadeghzadeh, L., and Owlia, P. 2009. Antimicrobial effects of the essential oils of *satureja mutica*, *S. edmondi* and *S. bachtiarica* against *Salmonella paratifi* A. and B. Iranian Journal of Biology 22(2):249-258 (In Persian).
 20. Sonboli, A., Fakhari, A., Kanani, M. and Yousefzadi, M. 2004. Antimicrobial Activity, Essential Oil Composition and Micromorphology of Trichomes of *Satureja laxiflora* C. Koch from Iran. Verlag der Zeitschrift fur Naturforschung, Tubingen, 59:777-781.
 - Application in Safflower Oil. Journal of Medicinal Plants 12(45):51-67.
 10. Jamzad, Z. 2012. Flora of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands. 76:673.
 11. Kamkar, A., Tooryan, F., Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., and Shariatifar, N. 2013. Chemical composition of summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil and comparison of antioxidant activity with aqueous and alcoholic extracts. Journal of Veterinary Research. 68(2):183-190. (In Persian).
 12. Kamkar, A., Tooryan, F., Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., and Shariatifar, N. 2013. Chemical composition of summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil and comparison of antioxidant activity with aqueous and alcoholic extracts. Journal of Veterinary Research. 68(2):183-190
 13. Karimi, N., Yari, M., and Ghasmpour, H.R. 2012. Identification and comparison of essential oil composition and mineral changes in different phenological stages of *Satureja hortensis* L. Iranian Journal of Plant Physiology. 3 (1):577-582.
 14. Mahboubi, M., and Kazempour, N. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of *Satureja hortensis* and *Trachyspermum copticum* essential oil. Iranian Journal of Microbiology. 3 (4): 194-200.
 15. Mihajilov-Krstev, T., Radnovic, D., Kitic, D., Zlatkovic, B., Ristic, M., and Brankovic, S. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. essential oil. Central European Journal of Biology. 4(3):411-416. .C
 16. Mirzaei, A., Mohammadi, J., Mirzaei, N., and Mirzaei, M. 2011. The Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of Some Medicinal Plants in Iran. Journal of