بررسی اثر فراوانی آبیاری بر عملکرد کمی و کیفی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه دارویی *Salvia officinalis* L.

نجمه وثوقی[۱]، عبداله قاسمی پیربلوطی[۲*]، مسعود گماریان[۳]، شهاب خاقانی[۳]، فاطمه ملک‌پور[٤]

[۱]دکتری باغبانی- گیاهان دارویی، گروه گیاهان دارویی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

[۲]استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی ، تهران، ایران

[۳]استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

[٤]استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۹٦/۱۰/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۲۱

چکیده

یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد در نظام‌های کشاورزی می‌تواند بر رشد، عملکرد و مواد مؤثر دارویی گیاهان دارویی و معطر خسارت وارد کند. آزمایشی به منظور بررسی اثر فراوانی آبیاری شامل ٤، ٦ و ۸ روز یک‌بار بر عملکرد کمی و کیفی اسانس گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. اسانس سرشاخه های گلدار گیاه به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) استخراج و توسط دستگاه (GC/MS) مورد تجزیه فیتوشیمیایی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثرات سطوح مختلف آبیاری تأثیر معنی‌داری بر کمیت و کیفیت موا موثره اسانس داشت .بیشترین عملکرد اسانس و مقادیرمواد موثره: ۱و۸- سینئول (۱۱/۰۵ درصد)، لیمونن (۲/٦۷ درصد) و آلفا- هومولن (۱/۳۲ درصد) از فراوانی آبیاری ۸ روز حاصل گردید. احتمالاً چنین به نظر می‌رسد که افزایش فواصل آبیاری با القای تنش خفیف تا ملایم خشکی می‌تواند در افزایش عملکرد و ویژگی‌های کمی و کیفی اسانس گیاه دارویی مریم گلی مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: آبیاری، اسانس، ۱و۸- سینئول، مریم گلی.

*نویسنده مسئول: ghasemi955@yahoo.com

مقدمه

مریم گلی (Salvia officinalis L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی و معطر متعلق به خانواده نعنا (*Lamiaceae*) می‌باشد که منشأ آن نواحی (Orte et al., 2013). این جنس در ایران دارای ۵۸ گونه گیشمالی مدیترانه و شمال آفریقا گزارش شده است (P علفی یک ساله و چندساله است که در سراسر کشور پراکنده هستند و ۱۷ گونه آن انحصاری ایران می باشند. مریم گلی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی، ضداسپاسم، قابض و آنتی‌هیدروتیک است. هم‌چنین مقوی هضم و محرک است و به آرامش و تحریک سیستم عصبی کمک می‌کند. مریم گلی به طور سنتی برای درمان آسم به کار می‌رود و با دود کردن برگ‌های آن، می‌توان این بیماری را تسکین داد (Grausgruber-Groger et al., 2012). علاوه بر آن در صنایع عطرسازی و آرایشی کاربرد فراوانی دارد.

اندام‌های هوایی گیاه به خصوص برگ‌ها محتوی اسانس هستند. به دلیل محتوای اسانس و ترکیب‌های آنتی اکسیدانی با ارزش، کشت و کار مریم گلی در بسیاری از مناطق دنیا افزایش یافته است. ترکیبات مؤثره این گیاه دارای خواص ضدباکتری، ضدقارچی، ضدتوموری و ضدالتهابی می‌باشد. در سال‌های اخیر گزارش شده است که اسانس مریم گلی به خصوص برخی ترکیب‌های موجود در آن از جمله، ۱و ۸ سینئول، توژان، کامفور دارای خاصیت ضدمیکروبی، آنتی اکسیدان و ضدسرطان است (Kamatou et al., 2008). مقدار اسانس وابسته به صفات وراثتی ولی در شرایط محیطی مختلف، متفاوت و بین ۱ تا ۲/۵ درصد است. متابولیت‌های غالب و با ارزش دارویی در گیاه مریم گلی مونوترپن‌ها (آلفا-توژون، بتا-توژون، ۱و۸-سینئول و کامفور)، دی‌ترپن‌ها (کارنوزیک اسید)، تری‌ترپن‌ها (اولئانوییک و اورسولیک اسیدها) و ترکیبات فنولیک مانند رزمارینیک اسید می‌باشد (Said-Al Ahl et al., 2015; Martins et al., 2015; Roby et al., 2013). البته گزارش‌های زیادی درخصوص ترکیبات اسانس گونه‌های مختلف مریم‌گلی وجود دارد. در تحقیقی که توسط رسولی و رضایی (۱۳۷۹) انجام شد ترکیبات اصلی اسانس مریم گلی شامل بتا- پینن (۱۶ درصد)، بورنئول (۹/٤ درصد)، گلوبولول (۹/۳ درصد)، آلفا-هومولن (۸/٤ درصد)، آلفا-نوژن (٦/٤ درصد)، آلفا-پینن (۵/۵ درصد) و کامفن (۵ درصد) به عنوان اجزای اصلی اسانس این گیاه گزارش شدند (Rasooli and Rezaei, 2000). هم‌چنین در یک مطالعه انجام شده بر روی گیاه *S. officinalis* مشخص شد که دو ترکیب لینالول استات (۵۱- ۲۵ درصد) و لینالول (۳۲-۲۲ درصد) بیشترین میزان را در بین ترکیبات به خود اختصاص دادند (Mossi et al., 2011).

به‌طور کلی اسانس‌ها از فرآیندهای اصلی متابولیسم گیاهان و از متابولیت‌های اولیه در شرایط تنش، تولید می‌شوند (Omidbaigy and FakhrTabatabai, 2005). در گیاهان دارویی و معطر، بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، عوامل محیطی و اثرات متقابل آن‌ها می‌باشد (Ghasemi Pirbalouti and Craker, 2015; Ghasemi Pirbalouti and Imaniyan-Fard, 2016; Moghaddam and Ghasemi Pirbalouti, 2017). از عوامل محیطی، کمبود آب نقش مهمی را در سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان ایفا می‌کند (Ghasemi Pirbalouti et al., 2015). نتایج بسیاری از تحقیقات مؤید این مطلب است که کمبود آب، متابولیت‌های ثانویه از جمله اسانس‌ها را در گیاهان مختلف تحت تأثیر قرار می‌دهد (Ghasemi Pirbalouti et al., 2015; Malekpoor et al., 2017; Bettaieb, et al., 2009). عموماً تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان تحت شرایط محیطی خشک‌تر، تمایل به افزایش دارد. کمبود آب محتوای اسانس و ترکیبات فنولی رزماری (*Rosmarinus officinalis*) (Rahman et al., 2007)،

محتوای اسانس بابونه آلمانی (Pirzad et al., 2006) و عملکرد اسانس گونه‌ای علف لیمو (*Cymbopogon* sp.) (Chatterjee et al., 1995) را افزایش می‌دهد. با وجود افزایش درصد اسانس، تحت شرایط تنش خشکی (Pirzad et al., 2006) عملکرد اسانس به‌صورت قابل توجهی در بعضی از گیاهان دارویی نظیر بابونه آلمانی (Pirzad et al., 2006) و نعناع (Charles et al., 1990) کاهش می‌یابد.

از آن‌جا که محصول نهایی در تولید و پرورش گیاهان دارویی و معطر دستیابی به متابولیت‌های ثانویه (مواد مؤثره دارویی) می‌باشد؛ بنابراین شناخت عوامل مؤثر بر رشد و عملکرد کمی و کیفی آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از طرف دیگر، تا به حال مطالعه چندانی در ایران در زمینه اثر فراوانی آبیاری بر رشد و خواص دارویی مریم‌گلی صورت نگرفته است. تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر فراوانی آبیاری بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره و عملکرد اسانس مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) انجام شد تا از این مسیر بتوان با شناخت عوامل موثر در تولید ترکیبات ثانویه، مسیرهای متابولیکی سنتز این ترکیبات مهم را شناسایی کرده و زمینه‌های لازم برای تحقیقات هدفمند جهت افزایش این ترکیبات در گیاهان مریم گلی و در یک نگاه کلی‌تر در دیگر گیاهان دارویی را ایجاد نمود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و منطقه مورد مطالعه: این تحقیق در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد اجرا گردید. برای انجام این تحقیق نشاءهای مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) از مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان تهیه گردید. اندام مورد مطالعه جهت تجزیه فیتوشیمیایی اسانس حاصل از آن برگ گیاه مریم گلی بود که در مرحله اوایل گلدهی برداشت شدند. برگ‌های گیاه مریم گلی در فروردین ماه سال ۱۳۹۵ نشاءهای گیاه مریم گلی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد با عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۰ دقیقه، طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۱ دقیقه و ارتفاع ۲۰۷۰ متر از سطح دریا کشت گردید. خاک کرت‌ها، خاک رس-لومی، pH برابر ۷/۹۶ متشکل از ۰/۱۱۷ درصد ماده آلی شامل ۰/۰۱۱ درصد نیتروژن کل، ۶/۵ میلی گرم در کیلوگرم فسفر قابل دسترس، ۲۱۴ میلی گرم در کیلوگرم پتاسیم قابل دسترس، و سطح شوری (E.C.) برابر با ۱/۱۴۳ دسی زیمنس بر متر می‌باشد. آب و هوای منطقه‌ی مورد مطالعه سرد، نسبتاً خشک و نیمه مرطوب با تابستان معتدل بر اساس روش آب و هواشناسی امبرگر و زمستان خیلی سرد بر اساس روش آب و هواشناسی کریمی می‌باشد (IRIMO, 2012). در این مطالعه، هیچ نوع کود و علف کش استفاده نشد و وجین علف‌های هرز در طول دوره رشد با دست و به صورت مداوم انجام گرفت.

تیمارها و طرح آزمایشی: این تحقیق در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. هر کرت آزمایش دارای ۴۰ بوته، شامل ۵ خط کاشت و هرخط کاشت شامل ۸ بوته، فاصله‌ی ردیف‌های کشت از یکدیگر ۳۰ سانتی‌متر و فاصله‌ی بوته‌ها نیز از همدیگر ۳۰ سانتی‌متر درنظر گرفته شد. آبیاری معمولی تا زمان استقرار کامل نشاءها انجام گرفت و اعمال تیمارهای آبیاری پس از استقرار کامل گیاهچه‌ها انجام گردید. تیمارهای آزمایش شامل سه فراوانی آبیاری I_1 (۴ روزه)، I_2 (۶ روزه)، I_3 (۸ روزه) در نظر گرفته شد.

اسانس‌گیری: اندام هوایی شامل برگ در مرحله اوایل گلدهی با دست برداشت شدند. برگ‌های گیاه مریم گلی در سایه خشک شدند و ۱۰۰ گرم از قسمت‌های خشک شده از هر تیمار پودر گردید و توسط روش تقطیر با آب به مدت سه ساعت با دستگاه کلونجر (British Pharmacopoeia, 1988) اسانس‌گیری شد.

حجم اسانس به دست آمده به دقت یادداشت شد و در ظرف‌های مخصوص تا زمان تجزیه در یخچال نگهداری شد.

تجزیه فیتوشیمیایی اسانس: شناسایی ترکیبات اسانس به کمک دستگاه کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد انجام گرفت. تجزیه اسانس با دستگاه GC مدل Agilent 7890 A و نوع ستون HP-5 MS 5% (طول ستون ۳۰m، قطر داخلی ستون ۰/۲۵ µm، قطر بیرونی ستون ۰/۲۵mm) انجام شد. گاز هلیوم با خلوص ۹۹/۹۹۹٪ و سرعت ۰/۸ ml/min جریان داشت. دمای اولیه ستون ۶۰Ċ و دمای نهایی ستون ۲۸۰Ċ بود. برنامه‌ریزی دمایی به صورت ٤Ċ/min برنامه‌ریزی شد. نسبت جداسازی ٤۰:۱ تنظیم شد. دمای تزریق کننده ۳۰۰Ċ بود. جهت تزریق نمونه‌ها از میزان ۰/۱ میکرولیتر اسانس با استفاده از سرنگ همیلتون استفاده شد. تجزیه MS با استفاده از دستگاه Agilent 5975 C انجام شد. انرژی یونیزاسیون در طیف‌سنج جرمی ۷۰ الکترون ولت انتخاب شد. طیف جرمی از ۵۰-۵۵۰*m/z* بود.

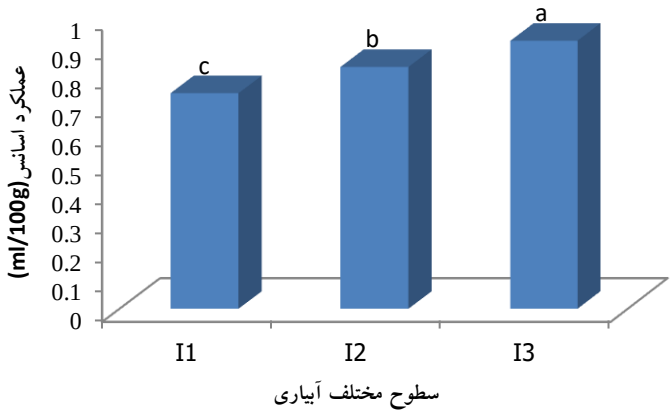
شاخص‌های بازداری (IR) برای تمام اجزا با استفاده از یکسری هومولوگ از ان – الکان‌ها (C_5 - C_{25}) که در شرایط مشابه نمونه‌ها تزریق شدند، محاسبه گردید. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع (Adams, 2007) و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری (Wiley and NIST) صورت گرفت.

تجزیه آماری

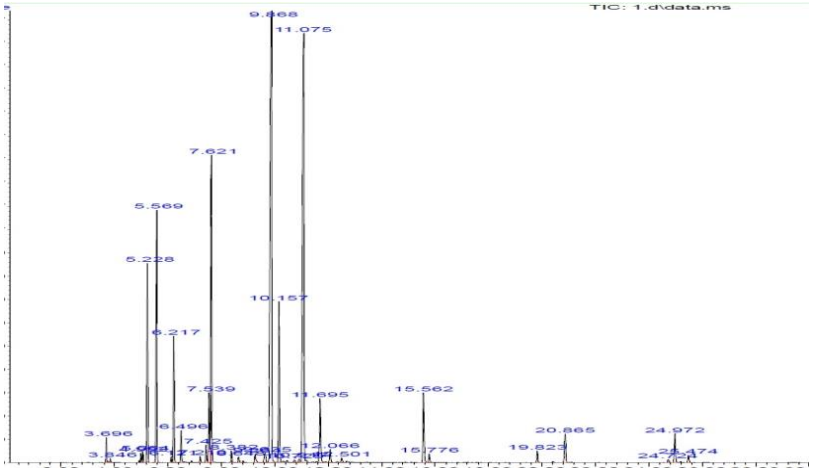
تجزیه واریانس داده‌ها با نرم افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت و نمودارها با نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج

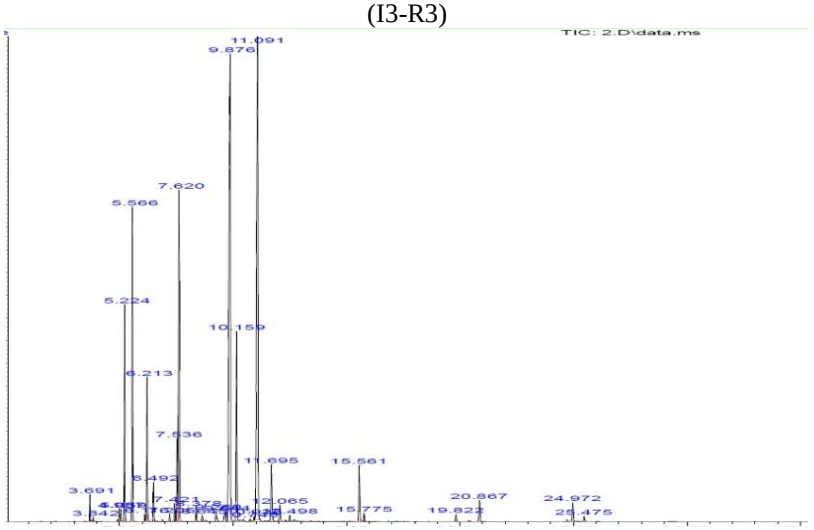
عملکرد اسانس: اسانس به دست آمده از روش تقطیر با آب در گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) تحت فراوانی‌های مختلف آبیاری، مایع شفاف و زردرنگ بود. نتایج نشان داد که اثرات فراوانی آبیاری بر میزان عملکرد اسانس مریم گلی معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود (جدول ۱). نتایج نشان داد که بالاترین میزان عملکرد اسانس مربوط به تیمار I_3 (آبیاری ۸ روز) می‌باشد که ۰/۹۲ میلی لیتر در ۱۰۰ گرم ماده خشک بود (شکل ۱).



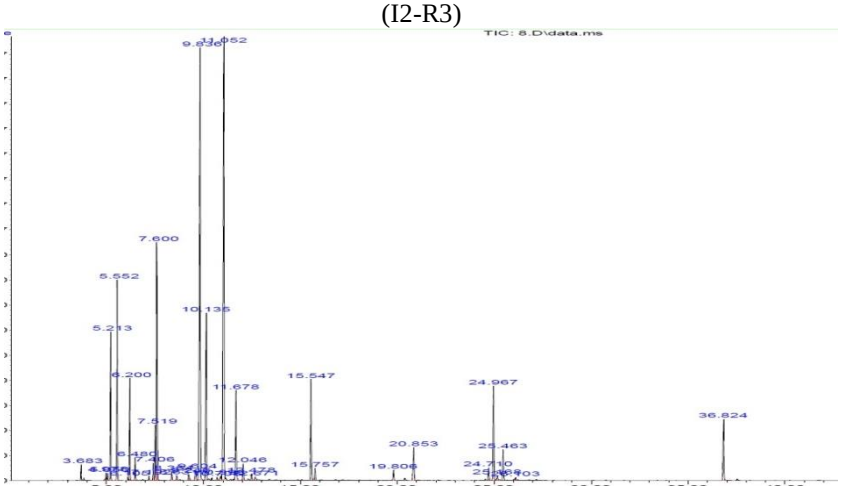
شکل ۱: اثر رژیم‌های مختلف آبیاری بر عملکرد اسانس مریم گلی



(I3-R3)



(I2-R3)



(I1-R2)

شکل ۲: نمونه از کروماتوگرام اسانس‌های مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) در شرایط متفاوت آبیاری

جدول ۱: تجزیه فیتوشیمیایی اسانس مریم گلی تحت تاثیر رژیم‌های آبیاری

ترکیبات	RI_{cal}	RI_{lit}	I1	I2	I3
هیدروکربن‌های مونوترپن					
سیس – سالون	۸۴۲	۸۵۲	۰/۴۵±۰/۱۱	۰/۴۹±۰/۰۲	۰/۴۱±۰/۰۳
۲-هگزنال	۸۴۸	۸۵۱	۰/۰۳±۰/۰۴	۰/۰۰۷±۰/۰۱	۰/۰۴±۰/۰۲
ترانس-سالون	۸۵۴	۸۵۹	۰/۰۶±۰/۰۳	۰/۰۸±۰/۰۱	۰/۰۷±۰/۰۱
آلفا-توژن	۹۲۲	۹۲۲	۰/۲۶±۰/۰۴	۰/۲۷±۰/۰۱	۰/۲۶±۰/۰۱
آلفا-پینن	۹۲۹	۹۳۰	۴/۶۹±۰/۴۲a	۴/۴۱±۰/۶۳a	۴/۷۶±۰/۴۹a
کامفن	۹۴۴	۹۴۶	۶/۵۶±۰/۶۳a	۶/۰۷±۰/۷۱a	۶/۵۱±۰/۲۸a
سابینن	۹۶۹	۹۷۶	۰/۱۵±۰/۰۳	۰/۱۸±۰/۰۳	۰/۱۷±۰/۰۰۹
بتا-پینن	۹۷۳	۹۸۰	۳/۶۴±۰/۳۹a	۳/۶۱±۰/۲۷a	۳/۹۸±۰/۲۵a
میرسن	۹۸۶	۹۹۱	۰/۸۶±۰/۱۰	۰/۹۲±۰/۰۴	۰/۹۵±۰/۰۲
آلفا-تریپینن	۱۰۱۳	۱۰۱۹	۰/۱۸±۰/۰۳	۰/۲۰±۰/۰۳	۰/۲۰±۰/۰۰۹
پارا-سایمن	۱۰۲۱	۱۰۲۱	۰/۶۴±۰/۱۱	۰/۶۶±۰/۰۴	۰/۶۴±۰/۰۲
لیمونن	۱۰۲۵	۱۰۳۱	۲/۳۸±۰/۰۳c	۲/۴۸±۰/۰۴b	۲/۶۷±۰/۰۶a
گاما-تریپینن	۱۰۵۵	۱۰۶۳	۰/۴۲±۰/۰۵	۰/۴۴±۰/۰۱	۰/۴۱±۰/۰۲
ترانس-سابینن هیدرات	۱۰۶۴	۱۰۵۰	۰/۱۹±۰/۰۵	۰/۲۳±۰/۰۱	۰/۲۴±۰/۰۲
آلفا-تریپینولن	۱۰۸۵	۱۰۸۹	۰/۳۴±۰/۰۲	۰/۳۶±۰/۰۳	۰/۳۸±۰/۰۱
سیس-سابینن هیدرات	۱۱۲۰	۱۰۵۰	۰/۱۵±۰/۰۲	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۴±۰/۰۳
مونوترپن‌های اکسیژنه					
۱و۸-سینئول	۱۰۲۸	۱۰۲۷	۷/۵۰±۰/۶۶c	۹/۲۶±۰/۷۷b	۱۱/۰۵±۱/۰۳a
لینالول	۱۰۹۹	۱۰۹۸	۰/۴۵±۰/۰۸	۰/۵۲±۰/۰۱	۰/۵۶±۰/۰۴
آلفا-توژون	۱۱۰۷	۱۱۱۷	۲۶/۲۶±۱/۴۷ab	۲۷/۰۱±۰/۶۱a	۲۴/۲۷±۱/۵۰b
بتا-توژون	۱۱۱۵	۱۱۲۱	۷/۰۳±۰/۳۷a	۸/۶۰±۲/۰۷a	۷/۲۴±۱/۱۴a
سیس-سابینول	۱۱۴۰	۱۱۳۷	۰/۱۵±۰/۰۲	۰/۱۹±۰/۰۴	۰/۱۵±۰/۰۳
کامفور	۱۱۴۵	۱۱۴۵	۲۲/۹۲±۱/۹۶a	۲۱/۴۲±۱/۰۳a	۲۲/۱۸±۰/۶۱a
بورنئول	۱۱۶۳	۱۱۶۹	۳/۰۷±۰/۱۲a	۲/۶۷±۰/۱۶b	۲/۶۱±۰/۱۹b
تریپینن-۴-اُل	۱۱۷۴	۱۱۷۹	۰/۶۳±۰/۰۳	۰/۵۹±۰/۰۳	۰/۵۵±۰/۰۱
آلفا-تریپینئول	۱۱۸۸	۱۱۸۴	۰/۱۹±۰/۰۳	۰/۱۸±۰/۰۳	۰/۲۳±۰/۰۲
میرتنول	۱۱۹۴	۱۱۹۴	۰/۰۷±۰/۰۶	۰/۰۶±۰/۰۶	۰/۰۴±۰/۰۲
بورنیل استات	۱۲۸۲	۱۲۸۸	۲/۹۳±۰/۱۸a	۲/۲۶±۰/۱۶a	۲/۷۱±۰/۱۶a
ترانس-سابینیل استات	۱۲۸۹	۱۲۹۲	۰/۴۱±۰/۰۱	۰/۳۹±۰/۰۳	۰/۳۵±۰/۰۳
هیدروکربن‌های سزکویی ترپن					
بتا-کاریوفیلن	۱۴۱۷	۱۴۲۷	۰/۴۲±۰/۰۷	۰/۵۰±۰/۰۷	۰/۵۰±۰/۱۷
آلفا-هومولن	۱۴۵۲	۱۴۶۰	۱/۲۵±۰/۰۱c	۱/۲۹±۰/۰۱b	۱/۳۲±۰/۰۰۵a
سیس-آلفا-بیزابولن	۱۵۹۸	۱۵۰۶	۰/۰۷±۰/۰۳	۰/۰۲±۰/۰۱	۰/۰۶±۰/۰۲
سزکویی ترپن‌هابی اکسیژنه					
کاریوفیلن اکسید	۱۵۸۲	۱۵۸۸	۰/۳۰±۰/۱۱	۰/۲۵±۰/۰۹	۰/۲۴±۰/۰۶
وریدیفلورول	۱۵۹۱	۱۶۰۱	۲/۵۴±۰/۵۸a	۲/۲۶±۰/۲۱b	۲/۱۳±۰/۴۵a

جدول ۲: تجزیه واریانس عملکرد و ترکیبات شیمیایی اسانس مریم گلی

منابع تغییر (S.O.V)	درجه آزادی (d.f)	میانگین مربعات (M.S)										
		عملکرد اسانس	آلفا- پینن	کامفن	بتا- پینن	لیمونن	۱و۸- سینئول	آلفا-توژون	بتا-توژون	کامفور	بورنئول	بورنیل استات	آلفا- هومولن	وریدیفلورول
بلوک	۲	۰/۰۰۰۱۹	۰/۴۶	۱/۶۶	۰/۱۳	۰/۰۰۰۳۳	۰/۲۴	۴/۳۸	۹/۰۰	۳/۳۵	۰/۰۸	۰/۷۷	۰/۰۰۰۰۸	۱/۰۴
آبیاری	۲	۰/۱۰۶۶۰**	۰/۴۰$^{n.s}$	۰/۸۶$^{n.s}$	۰/۵۱$^{n.s}$	۰/۲۴**	۳۷/۸۱**	۲۴/۱۴$^{n.s}$	۸/۷۲$^{n.s}$	۶/۷۹$^{n.s}$	۰/۷۵*	۱/۳۸$^{n.s}$	۰/۰۱**	۰/۵۳$^{n.s}$
خطا	۴	۰/۰۰۰۱۲	۰/۳۶	۰/۳۰	۰/۲۳	۰/۰۰۰۴۳	۰/۰۷	۴/۹۳	۳/۱۷	۳/۳۵	۰/۱۱	۰/۳۵	۰/۰۰۰۳۰	۰/۲۶

جدول ۳: مقایسه میانگین اثرات رژیم‌های آبیاری بر عملکرد و ترکیبات شیمیایی اسانس مریم گلی

تیمارها	عملکرد اسانس (ml/100g)	آلفا- پینن	کامفن	بتا- پینن	لیمونن	۱و۸- سینئول	آلفا-توژون	بتا- توژون	کامفور	بورنئول	بورنیل استات	آلفا- هومولن	وریدیفلورول
سطح آبیاری													
٤ روز (I1)	c۰/۷٤	a٤/٦۹	a٦/٥٦	a۳/٦٤	c۲/۳۸	c۷/٥۰	ab۲٦/۲٦	a۷/۰۳	a۲۲/۹۲	۳/۰۷a	a۲/۹۳	c۱/۲٥	a۲/٥٤
٦ روز (I2)	b۰/۸۳	a٤/٤۱	a٦/۰۷	a۳/٦۱	b۲/٤۸	b۹/۲٦	a۲۷/۰۱	a۸/٦۰	a۲۱/٤۲	۲/٦۷b	a۲/۲٦	b۱/۲۹	a۲/۲٦
۸ روز (I3)	a۰/۹۲	a٤/۷٦	a٦/٥۱	a۳/۹۸	a۲/٦۷	a۱۱/۰٥	b۲٤/۲۷	a۷/۲٤	a۲۲/۱۸	۲/٦۱b	a۲/۷۱	a۱/۳۲	a۲/۱۳
ANOVA	$P \leq 0.01$	*n.s*	*n.s*	*n.s*	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	*n.s*	*n.s*	*n.s*	$P \leq 0.05$	*n.s*	$P \leq 0.01$	*n.s*

ns: عدم اختلاف معنی‌دار

*: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

**: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

میزان و نوع ترکیبات شیمیایی اسانس: ترکیبات شیمیایی اسانس توسط GC و GC/MS شناسایی گردید. ترکیبات غالب اسانس مریم گلی در این تحقیق ۱و۸- سینئول، کامفور، و آلفا توجون بودند (جدول ۱ و شکل ۲). به طورکلی، نتایج نشان داد که اسانس به دست آمده از مریم گلی شامل ۱و ۸- سینئول، آلفا-پینن، کامفن، بتا-پینن، لیمونن، آلفا-توجون، بتا- توژون، کامفور، بورنئول، بورنیل استات، آلفا- هومولن و وریدیفلورول بودند (جدول ۱ و شکل ۲). نتایج تجزیه واریانس مندرج در جدول ۲ حاکی از آن است که تیمارهای مختلف فراوانی آبیاری اثرات معنی داری بر میزان ترکیبات مهم در اسانس مریم گلی به خصوص ۱و۸- سینئول، لیمونن، آلفا-هومولن در سطح ۱ درصد و بورنئول در سطح ۵ درصد داشته است. هم‌چنین نتایج مقایسه میانگین در جدول ۳ درصد ترکیبات مهم نشان می‌دهد که بیشترین میزان درصد ترکیب اصلی ۱و۸-سینئول از تیمار فراوانی ۸ روز آبیاری به‌دست آمده است. هم‌چنین، بالاترین مقدار آلفا-پینن (٤/٧٦ درصد)، بتا-پینن (۳/۹۸ درصد)، لیمونن (۲/٦۷ درصد) و آلفا-هومولن (۱/۳۲ درصد) در اسانس از فراوانی آبیاری ۸ روزه حاصل شد (جدول ۲).

بحث

مریم گلی به‌عنوان یکی از گیاهان دارویی و معطر مهم در دنیا به دلیل وجود ماده موثره اسانس در برگ های این گیاه دارای کاربردهای فراوانی در صنایع مختلف داروسازی، آرایشی و بهداشتی و غذایی دارد. تولید و سنتز اسانس در گیاهان دارویی و معطر مانند مریم گلی وابسته به عوامل وراثتی، محیطی، مدیریتی و اثرات متقابل آنها است (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2013). یکی از عوامل موثر بر تولید متابولیت های ثانویه و مواد موثره در گیاهان دارویی و معطر الیستورها هستند که تنش‌های محیطی زنده و غیرزنده به عنوان الیستورها نقش مهمی در تحریک سنتز ترکیبات موثره در این گیاهان دارند. در بین تنش‌های محیطی، تنش خشکی و کمبود آب با توجه به شرایط اقلیمی حاکم بر اغلب مناطق ایران که خشک و نیمه خشک است و همچنین خشک‌سالی‌های چند ساله اخیر منجر بر آن شده است که تحقیقات بر روی اثرات کم آبی و خشکی بر نظام‌های تولید محصولات کشاورزی مورد توجه خاصی قرار گیرد. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تنش کم آبی و خشکی اگرچه منجر به کاهش تولید در محصولات زراعی و باغی می شود ولی به‌عنوان یک محرک ممکن است موثر بر تولید ترکیبات موثره مانند اسانس در گیاهان دارویی و معطر باشد. نتایج تحقیق حاضر حاکی از آن است که اسانس به‌دست آمده از روش تقطیر با آب در گیاه مریم گلی تحت فراوانی‌های مختلف آبیاری معنی‌دار بود (جدول ۱). مطابق با نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین برای عملکرد اسانس نشان می دهد که با افزایش فواصل آبیاری و احتمال تنش خشکی عملکرد اسانس افزایش یافته است. به طور مشابه سایمون و همکاران (Simon et al., 1992) گزارش کردند که کمبود رطوبت میزان اسانس گیاهان دارویی و معطر را افزایش می‌دهد، چرا که در هنگام تنش، متابولیت‌های بیشتر در گیاهان تولید شده و این مواد از اکسیداسیون در سلول‌ها جلوگیری می‌کنند. به طور مشابه در تحقیق دیگری (ملک پور و همکاران، ۱۳۹٦) مشخص شد که تنش کم آبی باعث افزایش میزان اسانس در گیاه ریحان بنفش (*Ocimum basilicum* L.) شد.. اثرات کمبود آب بر اسانس در سایر گونه‌ها مانند علف لیمو *Cymbopogon martinii* var. *motia* و *C. winterianus* نشان داد که درصد اسانس در شرایط تنش خشکی افزایش یافت (Fatima et al., 2006).

هم‌چنین در تحقیق دیگر کمبود آب سبب افزایش عملکرد اسانس در گیاه جعفری شد (Petropoulos et al., 2007). علاوه بر این گزارش شده است که افزایش در میزان و عملکرد اسانس در مریم گلی با افزایش شدت تنش افزایش می‌یابد (Bettaieb et al., 2009). Fatima و همکارانش (۲۰۰۶) نیز گزارش نمودند که اسانس گیاهان دارویی و معطر تحت شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد. هم‌چنین افزایش درصد اسانس با شدیدتر شدن تنش کمبود آبی در گیاه انیسون گزارش شده است (خوشبخت، ۱۳۸۹). به‌طورکلی، متابولیت‌های ثانویه مانند ترپنوئیدها به گیاهان دارویی و معطر کمک می‌کنند تا گیاه به شرایط و تنش‌های محیطی مانند خشکی سازگاری بیشتری پیدا کند. به علاوه، تغییرات ناشی از تنش در افزایش اسانس عمدتاً به علت اثر آن بر رشد گیاه و تمایز می‌باشد، باتوجه به این واقعیت که گیاهان غلظت بالایی از ترپن‌ها را تحت شرایط کمبود آب تولید می‌کنند و مقدار کمتری از کربن را به رشد تخصیص می‌دهند که نشان از یک تعادل بین دفاع و رشد می‌باشد (Turtola et al., 2003).

میزان و نوع ترکیبات شیمیایی اسانس: بر اساس نتایج تجزیه فیتوشیمیایی اسانس ترکیبات مهم اسانس مریم گلی در این تحقیق ۱و۸- سینئول، کامفور و آلفا-توجون یا توژان بودند. مشابه نتیجه تحقیق حاضر، نتایج تحقیقات قبلی (Porte et al., 2013) نیز نشان داد که ترکیبات اصلی اسانس مریم گلی مونوترپن‌ها هستند. نتایج تحقیق دیگری (Bernotiene et al., 2007) در مورد درصد ترکیبات اسانس نشان داد که اسانس مریم گلی شامل مقادیر زیادتری ترپن‌های اکسیژنه (٦٥/٤-٥٢/١ درصد) نسبت به هیدروکربن‌های ترپنی (٣٤/١-١٨/٧ درصد) دارد. در یک بررسی دیگر اجزای تشکیل‌دهنده اصلی اسانس مریم گلی آلفا – توژون (٤٠/٩٠ درصد)، کامفور (٢٦/١٢ درصد)، آلفا – پینن (٥/٨٥ درصد) و بتا- توجون (٥/٦٢ درصد) بود (Porte et al., 2013). در گزارش دیگری، کامفور (٢٣/٣٨ درصد)، آلفا-توژون (٢٢/٨٢ درصد)، اسکلارئول (١٠/٤٦ درصد)، بتا- توژون (٩/٩٦ درصد)، ۱و۸ – سینئول (٧/٨٣ درصد)، گاما – سلینن (٧/٧٣ درصد)، آلفا- هومولن (٥/٥٩ درصد)، کاریوفیلن (٣/١٦ درصد)، بورنئول (٣/٠٦ درصد)، لیمونن (١/٧٤ درصد) و اپوکسید هومولن (١/٠٢ درصد) ترکیبات اصلی اسانس استخراج شده از گیاه مریم گلی بودند (Said-Al Ahl et al., 2015). در یک بررسی دیگر ترکیبات اصلی اسانس گیاه مریم گلی شامل ۱ و ۸– سینئول (٥٠/٣– ٣٩/٥ درصد) و کامفور (٨/٨ – ٢٥/٠ درصد) بودند (Abu- Darwish et al., 2013).

همان‌طور که قبلاً نیز اشاره شد تولید متابولیت های ثانویه تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، شرایط آب و هوایی، ادافیکی، مدیریتی (عملیات های کاشت تا برداشت، فرآیندهای پس از برداشت، خشک کردن، استخراج و فرآوری) و اثرات متقابل آن‌ها است (Ghasemi Pirbalouti et al., 2013). نتایج تحقیقات نشان داده است که تنش‌های محیطی مانند تنش خشکی اثرات مهمی بر رشد، عملکرد، صفات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و فیتوشیمیایی گیاهان زراعی و باغی دارد (Ghasemi Pirbalouti et al., 2014). تنش خشکی بر اثر تحریک سنتز متابولیت های ثانویه از طریق مسیرهای متابولیکی در گیاهان دارویی و معطر که برخی از آنها ناشناخته هستند سبب تغییرات میزان کمی و کیفی متابولیت های ثانویه می‌شود (Bistgani et al., 2018). نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که اثرات فراوانی مختلف آبیاری بر میزان درصد ۱و۸- سینئول به‌عنوان ترکیب اصلی اسانس معنی دار بود (جدول ۱). در این مطالبه تیمار فراوانی آبیاری ۸ روزه، بالاترین سطح ۱و۸- سینئول

را تولید کرد. نتایج ما با تحقیقات بیتایب و همکاران (Bettaieb et al., 2009) که گزارش نمودند ترکیبات اصلی اسانس مریم گلی کامفور، آلفا – توژون و ۱و۸– سینئول بودند و میزان اسانس و عملکرد تحت کمبود آب افزایش می‌یابد، مطابقت دارد. هم‌چنین در بررسی تأثیر کمبود آب بر اسانس دو گونه ریحان *Ocimum basilicum* L. و *Ocimum americanum* L.، درصد اسانس و ترکیبات اصلی اسانس افزایش یافت. بیشترین عملکرد اسانس در دو گونه نیز از تیمار تحت تنش به‌دست آمد (Khalid, 2006). همچنین در گونه مرزه زراعی با نام علمی *Satureja hortensis* L.، میزان کارواکرول تحت شرایط تنش آبی ملایم افزایش یافت؛ در حالی که میزان گاما- ترپینن تحت شرایط کم آبی متوسط و شدید کاهش یافت (Baher et al., 2002). ترکیبات اصلی اسانس در دو گونه گیاه علف لیمو *Cymbopogon nardus* و *Cymbopogon pendulus* افزایش یافت. مطالعه ای مشابه (ملک پور و همکاران، ۱۳۹۶) مشخص شد که تنش خشکی اثر افزایش و معنی داری بر روی میزان متیل چاویکول به عنوان یکی از ترکیبات مهم اسانس بر ریحان بنفش داشته است. نتایج تحقیقات دیگر (Alavi-Samani et al., 2015; Ghasemi Pirbalouti et al., 2014) حاکی از آن بود که تنش خشکی در حد ملایم و متوسط توانسته است میزان برخی ترکیبات موثره و مهم نظیر تیمول یک ترکیب فنلی را در گیاه دارویی آویشن دنایی افزایش دهد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد که در این آزمایش عملکرد اسانس و برخی از ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس در گونه مریم گلی *S. officinalis* تحت تنش رطوبتی افزایش پیدا کردند. می‌توان چنین نتیجه گرفت که تنش‌ها و از جمله تنش خشکی از نوع خفیف تا ملایم همانند یک الیستور محیطی قادر است تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی را تحت تأثیر قرار دهند و با مشخص کردن مسیر سنتز این ترکیبات و شناخت آنزیم‌های موثر در این مسیرها و افزایش بیان ژن یا ژن‌های دخیل در سنتز این آنزیم‌ها از این پتانسیل آن برای مهندسی تولید ترکیبات ثانویه و افزایش کیفیت اسانس در این گیاه و سایر گونه‌های گیاهان دارویی و معطر نیز بهره گرفت.

تشکر و قدردانی

در اجرای این تحقیق از مسئول محترم آزمایشگاه گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد صمیمانه قدرانی می‌شود.

References

1. Abu-Darwish, M.S., Cabral, C., Ferreira, I.V., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T., Al-bdour, T.H. and Salgueiro, L. 2013. Essential oil of common sage (*Salvia officinalis* L.) from Jordan: assessment of safety in mammalian cells and its antifungal and anti-inflammatory potential, Bio Med Research International, 9.
2. Adams, R.P. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography / quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, CarolStream, IL, USA.
3. Alavi-Samani, S.M., Kachouei, M.A. and Ghasemi Pirbalouti, A. 2015. Growth, yield, chemical composition, and antioxidant activity of essential oils from two thyme species under foliar application of jasmonic acid and water deficit conditions. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 56(4): 411-420.
4. Baher, Z., Mirza, M., Ghorbanli, M. and Rezaii, M.B. 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja*

hortensis L. Flavour and Fragrance Journal., 17(4): 275-277.
5. Bernotiene, G., Nivinskienė, O., Butkienė, R. and Mockutė, D. 2007. Essential oil composition variability in sage (*Salvia officinalis* L.), Chemija, 18: 38-43.
6. Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W.A., Kchouk, M.E. and Marzouk, B. 2009. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. Scientia Horticulturae, 120: 271-275.
7. Bistgani, Z.E., Siadat, S.A., Bakhshandeh, A., Ghasemi Pirbalouti, A., Hashemi, M., Maggi, F. and Morshedloo, M.R. 2018. Application of combined fertilizers improves biomass, essential oil yield, aroma profile, and antioxidant properties of *Thymus daenensis* Celak. Industrial Crops and Products, 121: 434-440.
8. British Pharmacopoeia, 1988. *British Pharmacopoeia*, Vol. 2. HMSO, London, pp. 137-138.
9. Charles, D.J. and Simon, J.E. 1990. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. American Society for Horticultural Science, 115: 458-462.
10. Chtterjee, S.K., Svoboda, K.P., Laughlin, J.C., Browin, V.E. 1995. Water stress effect on growth and yield of *Cymbopogon* sp. And its alleviation by ntriacontanol. Acta Horticulturae, 390: 19-24.
11. Fatima, S., Farooqi, A.H.A. and Sangwan, R.S. 2006. Water stress mediated modulation in essential oil, proline and polypeptide profile in palmarosa and citronella java. Physiology and Molecular Biology of Plants. Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants, P.O. CIMAP, Lucknow - 226 015, India.
12. Ghasemi Pirbalouti, A., Hashemi, M. and Ghahfarokhi, F.T. 2013. Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak. and *Thymus vulgaris* L. Industrial Crops and Products, 48: 43-48.
13. Ghasemi Pirbalouti, A. and Craker, L.E. 2015. Diversity in chemical compositions of essential oil of myrtle leaves from various natural habitats in south and southwest Iran. Journal of Forestry Research, 26(4): 971-981.
14. Ghasemi Pirbalouti, A., Samani, M.R., Hashemi, M. and Zeinali, H. 2014. Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under reduced irrigation. Plant Growth Regulation, 72(3): 289-301.
15. Ghasemi Pirbalouti, A. and Imaniyan-Fard, M. 2016. Variation on biological activity and phytochemical characteristics of gum tragacanth exudate from *Astragalus gossypinus* and *A. parrowianus*. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 15(3): 141-152.
16. Ghasemi Pirbalouti, A., Ghahfarokhi, B., Ghahfarokhi, S.A.M. and Malekpoor, F. 2015. Chemical composition of essential oils from the aerial parts and underground parts of Iranian valerian collected from different natural habitats. Industrial Crops and Products, 63: 147-151.
17. Grausgruber-Groger, S., Schmiderer, C., Steinborn, R. and Novak, J. 2012. Seasonal influence on gene expression of monoterpene synthases in *Salvia officinalis* (Lamiaceae), Journal of Plant Physiology, 169: 353-359.
18. IRIMO. 2012. (Islamic Republic of Iran Meteorological Organization). Climatology methods. www.irimo.ir.
19. Kamatou, G.P.P., Makunga, N.P., Ramogola, W.P.N. and Viljoen, A.M. 2008. South African *Salvia* species: A review of biological activities and phytochemistry. Journal of Ethnopharmacology, 119 (3): 664-672.
20. Khalid, K.A. 2006. Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (*Ocimum* sp.). International Agrophysics, 20(4): 289-296.
21. Malekpoor, F., Ghasemi Pirbalouti, A., Salimi, A. and Momtaz, H. 2017. Effects of chitosan on gene expression of chavicol-O-methyl transferase and phenylpropanoid components of *Ocimum basilicum* (purple cultivar) under water deficit. Journal of Iranian Biology Society, 30: 391-401.

22. Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S. and Ferreira, I.C. 2015. Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. Food Chemistry, 170: 378-385.
23. Moghaddam, M. and Ghasemi Pirbalouti, A. 2017. Agro-morphological and phytochemical diversity of Iranian *Cuminum cyminum* accessions. Industrial Crops and Products, 99: 205-213.
24. Mossi, A.J, Cansian, R.L., Paroul, N., Toniazzo, G., Oliveira, J.V., Pierozan, M.K., Pauletti, G., Rota, L., Santos, A.C.A. and Serafini, L.A. 2011. Morphological characterisation and agronomical parameters of different species of *Salvia* sp. (Lamiaceae), Brazilian Journal of Biology, 71: 121-9.
25. Omidbaigy, R. and Fakhr Tabatabai, S.M. 2005. Production and processing of Medicinal Plants. Mashhad: BehNashr. (In Persian).
26. Petropoulos, S.A., Daferera, D., Polissiou, M.G. and Passam, H.C. 2007. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. Scientia Horticulturae, 115(4): 393-397.
27. Pirzad, A., Alyari, H., Shakiba, M.R., Zehtab- Salmasi, S. and Mohammadi, A. 2006. Essential oil content and composition of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) at different Irrigation Regimes. Journal of Agronomy, 5(3): 451-455.
28. Porte, A., Godoy, R.L.O. and Maia-Porte, L.H. 2013. Chemical composition of sage (*Salvia officinalis* L.) essential oil from the Rio de Janeiro State (Brazil). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 15: 438-441.
29. Rahman, L.U., Kukerja, A.K., Singh, Sh. K., Singh, A.N., Yadav, A. and Khanuja, S.P.S. 2007. Qualitative analysis of essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. cultivated in Uttaranchal Hills, India. Journal of Spices and Aromatic Crops, 16(1): 55-57.
30. Rasooli I. and Rezaei, M.B. 2000. A Study on antimicrobial activity and chemical compositions of essential oils from flowers of *Lavandula angutifolia* and *Salvia officinalis*. Journal of Kerman University of Medical Sciences, 7(4): 173-81.
31. Roby, M.H.H., Sarhan, M.A., Selim, K.A.H. and Khalel, K.I. 2013. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops & Products*, 43: 827-831.
32. Said-Al Ahl, H., Hussein, M.S., Gendy, A.S.H. and Tkachenko, K.G. 2015. Quality of Sage (*Salvia officinalis* L.) Essential Oil Grown in Egypt, International Journal of Plant Research, 1(4): 119-123.
33. Simon, J.E., Reiss-Bubenheim, D., Joly, R.J. and Charles, D.J. 1992. Water stress-induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. Journal of Essential Oil Research, 4: 71-75.
34. Turtola, S., Manninen, A.M., Rikala, R. and Kainulainen, P. 2003. Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings. Journal of Chemical Ecology, 29: 1981-1985.