بررسی اثر تنش خشکی و شوری برخصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی *Satureja hortensis* L.

صدیقه فابریکی اورنگ*[1]، ثریا مهرآباد پوربناب[2]

[1]استادیار، گروه تولید و اصلاح نباتات، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

[2]دانشجوی کارشناسی‌ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۱۵

چکیده

گزارش‌های زیادی مبنی بر افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی تحت تاثیر تنش‌های محیطی وجود دارد. به همین منظور، جهت بررسی اثر تنش‌های خشکی متوسط و شدید (۷۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و شوری (۵۰ میلی‌مولار نمک NaCl) بر برخی از پارامترهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی مرزه تابستانه شامل وزن تر و خشک برگ، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، ارتفاع بوته، طول ریشه، نسبت ریشه به اندام هوایی، تعداد برگ و شاخه فرعی، میزان کلروفیل کل، a و b، آنتوسیانین، فلاونوئید و آلکالوئیدکل در برگ و ریشه، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) با چهار تکرار و چهار تیمار در دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. ترکیبات بیوشیمیایی با استفاده از روش اسپکتروفتومتری سنجش شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنش خشکی و شوری، نوع بافت گیاهی و اثر متقابل آنها اختلاف آماری معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۱$) از نظر تمام ترکیبات بیوشیمیایی بجز فلاونوئید داشتند. نتایج نشان داد که تنش شوری تاثیر منفی بر صفات مورفولوژیکی مرزه نداشته و در تنش شوری نسبت به عدم تنش، ارتفاع بوته (از ۱۸/۴ به ۱۹/۸ سانتی‌متر)، تعداد برگ (از ۳۳ به ۳۶) و وزن تر ریشه (از ۰/۰۵ به ۰/۰۸ گرم) افزایش معنی‌داری داشت و وزن تر اندام هوائی (به ترتیب با ۰/۵ و ۰/۵۲ گرم)، وزن خشک اندام هوائی (با ۰/۰۸ و ۰/۰۷ گرم)، وزن خشک ساقه (با ۰/۰۳ و ۰/۰۳ گرم)، وزن خشک ریشه (با ۰/۰۲ و ۰/۰۱۶ گرم) و وزن خشک برگ (با ۰/۰۴ و ۰/۰۴ گرم) بدون اختلاف معنی‌دار در یک کلاس آماری قرار گرفتند. اما تمام صفات در تنش خشکی نسبت به عدم تنش کاهش معنی‌داری یافتند و مشخص گردید که مرزه تابستانه نسبت به شوری مقاوم و در برابر خشکی حساس است. میزان آلکالوئید کل تحت تنش خشکی شدید (۰/۱۷۳ $OD.g^{-1}.DW$) و تنش شوری (۰/۱۶ $OD.g^{-1}.DW$) نسبت به عدم تنش (۰/۱۲ $OD.g^{-1}.DW$) به‌ترتیب ۴۴ و ۳۳ درصد افزایش نشان داد. میزان کارتنوئید با افزایش شدت تنش خشکی کاهش یافت، در حالیکه تحت تنش شوری (۰/۱۳۳ میلی‌گرم درگرم بافت تر) نسبت به عدم تنش(۰/۱۲ میلی گرم در گرم بافت تر) افزایش داشت. محتوای فلاونوئید تحت تاثیر تیمارهای تنش قرار نگرفت در حالیکه میزان آنتوسیانین طی تنش‌های خشکی و شوری (به‌ترتیب با مقادیر ۰/۶۷ و$OD.g^{-1}.FW$ ۰/۶۲) کاهش معنی‌داری نسبت به شرایط عدم تنش ($1/23OD.g^{-1}.FW$) نشان داد.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، فلاونوئید، شوری، خشکی، مرزه تابستانه

*نویسنده مسئول: s.ourang910@gmail.com

مقدمه

گیاه دارویی مرزه با نام علمی *Satureja hortensis* L. از گیاهان تیره نعناع می باشد. در ایران ۱۴ گونه گیاه علفی یک ساله و چند ساله دارد که نه گونه آن بومی ایران هستند و دو گونه *S. montana* و *S. hortensis* مصرف خوراکی دارند (Zarezade et al., 2016). یکی از گونه‌های این جنس، مرزه تابستانه می‌باشد که بومی اروپا است و در ایران نیز رشد می‌کند. مرزه تابستانه در درمان دردهای عضلانی، کرامپ، تهوع، بیماری‌های عفونی و اسهال کاربرد دارد و همچنین به‌عنوان هاضم، خلط آور، ضد سرطان، محرک و مقوی معده می‌باشد. خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی این گیاه اثبات شده است که مربوط به ترکیب‌های فنلی تیمول، کارواکرول، گاما-ترپینن و پارا-سیمن (Hadian et al., 2015) که جزء ترکیبات اصلی و عمده جنس مرزه معرفی کرده‌اند.

مصرف گیاهان دارویی در کشورهای مختلف درحال افزایش است واین به دلیل پذیرش اثربخشی بسیاری از مواد و متابولیت‌های ثانویه موجود در آنها در مجامع علمی و مقبولیت آن در اکثرجوامع بشری است (Miller et al., 2004; Hosseini et al., 2006, Hosseini et al., 2009). علیرغم اهمیت متابولیت‌های ثانویه در زندگی بشر هنوز مکانیسم اثر تنش‌های محیطی بر میزان این مواد مسئله‌ای پیچیده و مبهم است. شواهد زیادی بر افزایش این مواد تحت شرایط تنش‌های محیطی وجود دارد اما این تأثیر همیشگی نیست و در مواردی نیز کاهش میزان متابولیت‌های ثانویه تحت شرایط تنش‌های محیطی دیده می‌شود. از طرفی کیفیت مواد مؤثره نیز تحت تأثیر تنش قرار می‌گیرد. تقریباً بیشتر گونه‌های گیاهی برای حفظ حیات خود در برابر تنش‌های محیطی از مکانیزم کاهش رشد و تغییر در درصد ترکیبات سازنده متابولیت‌های ثانویه استفاده می‌کنند. قابل ذکر است که تنش‌های محیطی ازعوامل اصلی کاهنده رشدونمو و عملکرد گیاهان زراعی و بروز اختلالات متابولیسمی درسلول‌های گیاهی به شمار می‌آید و همواره امنیت غذایی انسان‌ها را تهدید می‌کنند. تنش‌های محیطی شامل تنش‌های زنده و غیرزنده، تهدیدهای جدی برای محصولات کشاورزی محسوب می‌شوند. قابل توجه‌ترین تنش‌های غیرزنده شامل خشکی، شوری، سرما وگرما می‌باشند که منجر به کاهش جهانی محصولات و افزایش هزینه‌های اقتصادی در سراسر جهان می‌شود (Nakabayashi and Saito, 2015).

گیاهان پاسخ‌های نسبتاً مشابهی نسبت به تنش‌های شوری و خشکی از خود نشان می‌دهند. شوری همراه با مجموعه‌ای از تغییرات متابولیکی، توانایی گیاه را برای جذب آب کاهش می‌دهد و این به سرعت باعث کاهش نرخ رشد می‌شود. این شرایط با مواردی از گیاهان که تحت تنش آبی قرار گرفته‌اند یکسان است. در پاسخ به تنش‌های شوری یا خشکی تولید ترکیبات ثانویه ممکن است افزایش یا کاهش نشان دهد، اما تحقیقات زیادی در این زمینه صورت نگرفته است (Aghai et al., 2014). براساس مطالعه‌ای که رسام و همکاران (Rasam et al., 2014) در رابطه با تاثیر تنش خشکی بر گیاه دارویی زوفا انجام دادند، مشاهده شد که تشدید کمبود آب سبب کاهش ارتفاع بوته، وزن برگ، وزن ساقه و اندام هوایی، وزن و حجم ریشه شد. با این وجود نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی با افزایش سطوح کمبود آب افزایش پیدا کرد. همچنین افزایش قندهای محلول، افزایش غلظت کارتنوئید و آنتوسیانین با افزایش کمبود آب در گیاهان تحت تنش مشاهده گردید. آقایی و همکاران (Aghai et al., 2014) در رابطه با دو گونه مریم گلی (*Salvia*) گزارش دادند که با افزایش سطح شوری، وزن خشک ریشه و ساقه در هر دو گونه کاهش

یافت. مطالعات ستایش مهر و گنجعلی (Setayesh-mehr and Ganjali, 2013) در رابطه با گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens* L.) نشان داد که با افزایش تنش خشکی کلیه صفات ظاهری مانند طول ساقه، طول ریشه، سطح برگ و تعداد برگ کاهش و با افزایش شدت تنش، میزان کلروفیل، کارتنوئید و پروتئین‌های محلول کاهش یافت، در حالی که میزان ترکیبات فنلی بخش هوایی و ریشه افزایش یافت. تحقیقات نشان داده‌اند که تنش آبی سبب افزایش اسانس در مرزه (Gorbanali et al., 2001) و آویشن (Eman et al., 2008; Bahreininejad et al., 2013) می‌شود. همچنین گزارش شده است تنش آبی میزان اسانس و ترکیب‌های فنلی در رزماری (Solinas et al., 1996) و سیاهدانه (Rezvani-moghaddam and Nourozpur, 2006) را نسبت به شاهد کاهش داده است.اثرات نامناسب تنش شوری نیز در کاهش عملکرد اسانس در شوید گزارش گردیده است (Riaze *et al*., 2007). در گزارشی دیگر در گیاه دارویی آویشن تنش شوری باعث افزایش تیمول شده است (Azza et al., 2009).

با توجه به اهمیت روز افزون گیاهان دارویی و نبود مطالعات زیاد در رابطه با تاثیر تنش‌های خشکی و شوری بر صفات موفولوژیک و ترکیبات متابولیتی و بیوشیمیایی، ضرورت انجام مطالعاتی از این دست الزامی می‌باشد. لذا این تحقیق جهت آگاهی و پی بردن به میزان تاثیر تنش‌های خشکی و شوری بر صفات مورفولوژیک و میزان ترکیبات بیوشیمیایی گیاه دارویی مرزه تابستانه اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

بذرهای مرزه تابستانه (*S. hortensis* L.) از موسسه جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه و در اواخر اسفند ۱۳۹۴ در گلدان‌ها کشت شده و طی ۷-۵ روز بذرها جوانه زدند. گیاهان به‌طور مرتب آبیاری شدند تا در مرحله قبل از گلدهی تنش‌های شوری و خشکی اعمال شد. این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) با چهار تکرار و چهار تیمار شامل تیمار عدم تنش یا شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش خشکی متوسط (۷۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش خشکی شدید (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) (Jacob and Clarck, 2002) و تنش شوری (۵۰ میلی‌مولار نمک NaCl) در گلخانه و آزمایشگاه دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) اجرا گردید. در نهایت پس از دو هفته از اعمال تنش‌ها و مشاهده اثرات ظاهری تنش در گیاهان، نمونه‌گیری در تیر ماه ۹۵ صورت گرفت.

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک: برای ارزیابی مقدار سبزینگی (شاخصی از کلروفیل برگ) به روش غیرتخریبی می‌توان از دستگاه spad استفاده کرد (Sanjary-Mijani *et al*., 2015). به همین منظور قبل از انجام نمونه برداری، میزان سبزینگی برگ با استفاده از دستگاه Spad مدل (SPAD 502 Plus Chlorophyll Meter) در گلخانه، بر روی برگهای هر تکرار از هر تیمار اندازه‌گیری شد. تعداد برگ و شاخه های فرعی از بوته‌های هر تکرار به‌طور تصادفی شمارش و ثبت شد. در زمان برداشت محصول، بوته‌های مرزه با احتیاط از خاک خارج شده و پس از شستشوی ریشه، بافت‌ها سریعاً درون یخ خشک به آزمایشگاه انتقال یافتند. ابتدا وزن تر ریشه، وزن تر کل (زیست توده) واندام هوایی، ارتفاع بوته و طول ریشه اندازه گیری شد. از تمامی تکرارها تعدادی بوته در دمای ۷۰ درجه به‌مدت ۲۴ ساعت در داخل آون قرار گرفت و سپس وزن خشک ریشه، برگ، اندام هوایی و ساقه اندازه‌گیری شد.

سنجش کلروفیل و کارتنوئید (Arnon, 1949): برای سنجش اجزای کلروفیل و کارتنوئید، مقدار ۰/۱ گرم بافت تازه از برگ و ساقه نمونه‌برداری شده در سه

میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد کوبیده شد، مخلوط همگن شده به تیوپ‌ها انتقال و به‌مدت ۵ دقیقه در 10000g سانتریفیوژ شدند. سپس فاز رویی جدا و میزان جذب نور آن در طیف‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر DOUBLE BEAM مدل UV/Vis 4802 قرائت شد. در نهایت مقدارکلروفیل کل، کارتنوئید و کلروفیل a، b برحسب میلی گرم درگرم بافت تر ($mg.g^{-1}.FW$) برگ وساقه ازطریق فرمولهای روش آرنون (Arnon, 1949) محاسبه شدند.

سنجش فلاونوئید و آنتوسیانین (Nogues and Baker, 2000): نمونه‌های ۰/۱ گرمی از بافت تازه برگ و ساقه در مرحله پس از گلدهی مرزه تهیه و در سه میلی‌لیتر محلول متانول اسیدی (با ترکیب ۹۹ به ۱ متانول و هیدروژن کلرید) کوبیده شده و در تیوپ‌های دو میلی‌لیتری ریخته شد. مخلوط همگن به‌مدت ۵ دقیقه با ۱۰۰۰۰ گرم سانتریفیوژ شد، سپس فاز رویی جداشده، درون تیوپ جدید منتقل و به حجم دو میلی لیتر رسیدند. با دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری در ۳۰۰ و ۵۳۰ نانومتر به‌ترتیب برای فلاونوئید و آنتوسیانین قرآئت گردید. در نهایت نتایج به صورت جذب در گرم وزن تر ($OD.g^{-1}.FW$) مورد مقایسه قرار گرفتند.

سنجش آلکالوئید کل (Harborne, 1973): نمونه‌های گیاهی در درجه حرارت ۷۰ سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت داخل آون خشک شدند. مقدار ۰/۱ گرم از بافت خشک ساقه و برگ تهیه و با دو میلی‌لیتر محلول اتانول اسید استیک (ترکیب ۹۰ به ۱۰ از اتانول به اسید استیک) کوبیده شد. مخلوط همگن را به فالکون منتقل، به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و ۴ ساعت روی شیکر قرار داده شد. بعد از این مدت، مخلوط را از کاغذ صافی واتمن عبور داده و در بن‌ماری با دمای ۶۰ درجه سلسیوس با درب باز قرار داده شد تا محلول تبخیر شده و به حجم ۲/۵ میلی‌لیتر برسد. سپس به محلول غلیظ شده قطره قطره هیدروکسید آمونیوم (NH_4OH) اضافه شد و پس از مشاهده رسوب، سانتریفیوژ انجام شد. سپس فاز رویی دور ریخته شده و رسوب دیواره تیوپ در اسیدسولفوریک ۰/۱ مولار حل شد. در نهایت میزان جذب نور در ۳۶۰ نانومتر برای آلکالوئید کل برگ و ساقه قرآئت شد. در نهایت نتایج به‌صورت جذب در گرم وزن خشک ($OD.g^{-1}.DW$) مورد مقایسه قرار گرفتند.

تجزیه آماری داده‌ها

تجزیه واریانس برای صفات موفولوژیک در قالب طرح کاملا تصادفی (CRD) با چهار تکرار و سه تیمار (عدم تنش، تنش خشکی متوسط و تنش شوری) و برای صفات بیوشیمیایی به صورت فاکتوریل (بافت گیاهی× تنش) در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. برای تجزیه داده‌های آماری از نرم‌افزارهایMSTATC و SPSS و برای ترسیم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنش‌های خشکی و شوری اثر معنی‌دار مثبت و منفی در سطح احتمال یک درصد ($P\leq0/01$) بر تمام صفات مورفولوژیک مرزه تابستانه داشته است (جدول ۱). براساس مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲)، ارتفاع بوته، تعداد برگ و وزن تر ریشه طی تنش شوری (به‌ترتیب با مقادیر ۱۹/۸ سانتی‌متر، ۳۶ برگ و ۰/۰۸ گرم) نسبت به عدم تنش (به‌ترتیب با مقادیر ۱۸/۴ سانتی‌متر، ۳۳ برگ و ۰/۰۵ گرم) افزایش معنی‌داری نشان دادند، ولیکن وزن تر اندام هوائی (در شوری نسبت به عدم تنش به‌ترتیب با ۰/۵ و ۰/۵۲ گرم)، وزن تر کل (با ۰/۶ و ۰/۶ گرم)، وزن خشک ساقه

(با ۰/۰۳ و ۰/۰۳ گرم)، وزن خشک اندام هوائی (با ۰/۰۸ و ۰/۰۷ گرم)، وزن خشک ریشه (با ۰/۰۲ و ۰/۰۱۶ گرم)، وزن خشک برگ (با ۰/۰۴ و ۰/۰۴ گرم) و سبزینگی (با مقادیر spad ۳۹ و ۳۸) بدون کاهش و بدون اختلاف معنی‌دار باهم در یک کلاس آماری قرار گرفتند. در صورتی که صفات طول ریشه، نسبت طول ریشه به ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، وزن تر اندام هوایی، وزن تر کل، وزن خشک برگ، وزن خشک اندام هوایی و سبزینگی در برابر تنش خشکی حساس‌بوده و نسبت به شرایط بدون تنش کاهش معنی‌داری در آنها مشاهده گردید (جدول ۲). بنابراین نتایج صفات موفولوژیک بیانگر تحمل و مقاومت بیشتر مرزه در برابر تنش شوری نسبت به تنش خشکی می‌باشد.

جدول ۱: تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی گیاه دارویی مرزه تابستانه (*Satureja hortensis* L.)تحت تنش خشکی و شوری

منابع تغییرات (s.o.v)	درجه آزادی (d.f)	میانگین مربعات (MS)						
		ارتفاع بوته	طول ریشه	طول ریشه به ارتفاع‌بوته	تعداد برگ	تعداد شاخه فرعی	وزن‌تر اندام هوایی	وزن تر کل
تنش	۲	۲۴/۲۵**	۱۷/۵۸**	۰/۰۱۶**	۴۴۱/۸**	۱۰/۲۷**	۰/۰۷۴**	۰/۱**
خطای آزمایشی	۹	۰/۳۷	۰/۶۴	۰/۰۰۲	۳/۰۱۷	۰/۲۹	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳
CV%		۳/۵	۸/۹	۸/۱	۶/۱	۹/۸	۱۳/۳	۱۱/۸

منابع تغییرات (s.o.v)	درجه آزادی (d.f)	میانگین مربعات (MS)					
		وزن‌تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن خشک ساقه	وزن خشک برگ	وزن خشک اندام هوایی	سبزینگی
تنش	۲	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۰**	۰/۰۰۰**	۰/۰۰۰**	۰/۰۰۲**	۲۹۳**
خطای آزمایشی	۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۷۴
CV%		۲۳/۱	۸/۴	۸/۸	۱۵/۲	۸/۲	۲/۶

**: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (p≤۰/۰۱)

جدول ۲: مقایسه میانگین داده‌های تیمارهای تنش برای صفات مورفولوژیکی گیاه دارویی مرزه تابستانه (*Saturej ahortensis* L.) تحت تنش خشکی و شوری

تنش	ارتفاع (cm)	طول ریشه(cm)	طول ریشه به ارتفاع بوته	تعداد برگ	تعداد شاخه فرعی (gr)	وزن‌تر اندام هوایی (gr)	وزن‌تر کل (gr)
شاهد (بدون تنش)	۱۸/۴ ^{b}	۱۰/۲۵ ^{a}	۰/۵۶ ^{a}	۳۳ ^{b}	۶/۴ ^{a}	۰/۵۲ ^{a}	۰/۶ ^{a}
تنش خشکی متوسط	۱۵ ^{c}	۶/۵^{b}	۰/۴۳ ^{b}	۱۶/۴ ^{c}	۴ ^{b}	۰/۳ ^{b}	۰/۳ ^{b}
تنش شوری	۱۹/۸ ^{a}	۱۰ ^{a}	۰/۵ ^{a}	۳۶ ^{a}	۶/۴ ^{a}	۰/۵ ^{a}	۰/۶ ^{a}

تنش	وزن‌تر ریشه (gr)	وزن خشک ریشه (gr)	وزن خشک ساقه (gr)	وزن خشک برگ (gr)	وزن خشک اندام هوایی (gr)	سبزینگی
شاهد (بدون تنش)	۰/۰۵^{b}	۰/۰۱۶^{a}	۰/۰۳^{a}	۰/۰۴^{a}	۰/۰۷^{a}	۳۸ ^{a}
تنش خشکی متوسط	۰/۰۲^{c}	۰/۰۰۴^{b}	۰/۰۲^{a}	۰/۰۲^{b}	۰/۰۴^{b}	۲۳/۵^{b}
تنش شوری	۰/۰۸^{a}	۰/۰۲^{a}	۰/۰۳^{a}	۰/۰۴^{a}	۰/۰۸^{a}	۳۹ ^{a}

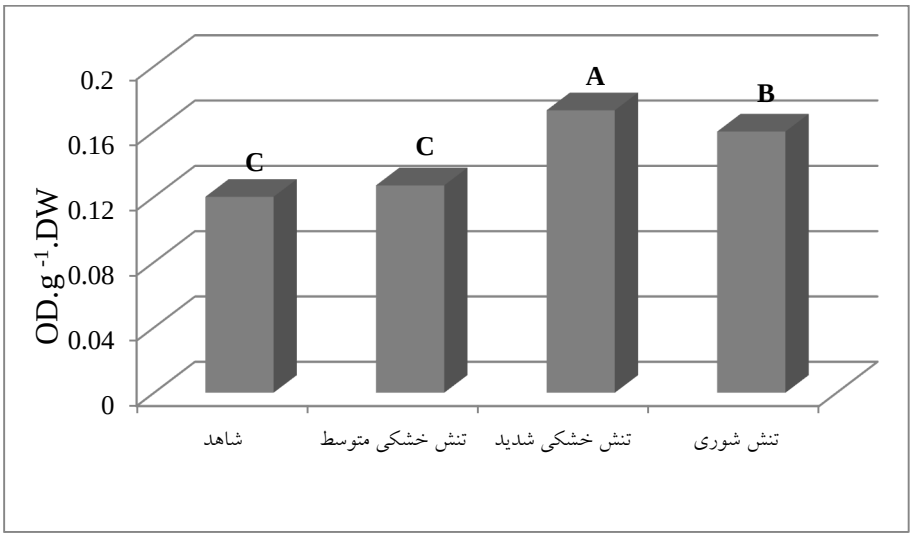
میانگین‌های با حروف غیریکسان در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال (p≤۰/۰۱) می‌باشند.

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از بررسی صفات بیوشیمیایی (جدول ۳) نشان داد که نوع اندام (برگ و ریشه)، تنش‌های خشکی و شوری و اثر متقابل (تنش×اندام) بر میزان همه صفات و متابولیت‌ها بجز فلاونوئید اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد (P≤ ۰/۰۱) داشت. همچنین میزان تمام صفات اندازه‌گیری شده، در بافت برگ بسیار بیشتر از ریشه بود. مقایسه میانگین داده‌ها در رابطه با میزان آلکالوئید کل (شکل ۱) نشان داد که تحت تنش خشکی شدید (با میزان جذب در گرم ماده خشک ۰/۱۷۳) و تنش شوری (با میزان جذب ۰/۱۶)، میزان آلکالوئید نسبت به عدم تنش (با میزان جذب ۰/۱۲) به‌ترتیب ۴۴ و ۳۳ درصد افزایش داشته است، هرچند که افزایش میزان آلکالوئید طی تنش شوری کمتر بوده و در مقایسه با تنش خشکی شدید در کلاس آماری پایین‌تری قرار گرفت.

جدول ۳: تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی گیاه دارویی مرزه تابستانه (*Saturej ahortensis* L.) تحت تنش خشکی و شوری

منابع تغییر (s.o.v)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)						
		آلکالوئید	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	فلاونوئید	آنتوسیانین
تنش (A)	۳	۰/۰۰۵**	۰/۰۱۴**	۰/۰۰۱**	۰/۰۲۲**	۰/۰۰۲**	۰/۲۹^{ns}	۰/۶۲**
اندام (B)	۱	۰/۰۰۶**	۰/۸۵**	۰/۲۹**	۲/۱۵**	۰/۲۵**	۶/۸۸**	۱/۴۶**
اثر متقابل A×B	۳	۰/۰۰۰**	۰/۰۱۴**	۰/۰۰۱**	۰/۰۲۱**	۰/۰۰۳**	۰/۲۵^{ns}	۰/۲۴**
خطای آزمایشی	۲۴	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۱۲۶	۰/۰۰۲
CV%		۵/۲	۱۷/۲	۱۱/۹	۱۱/۱	۱۵/۲	۶/۲	۵/۵

ns و**: به ترتیب اختلاف غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (p≤۰/۰۱)

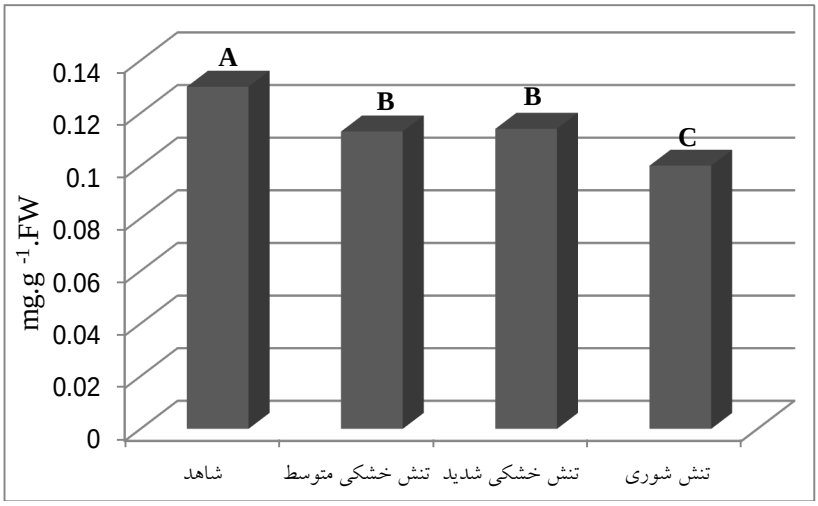


شکل ۱: میزان تغییرات آلکالوئید براساس میزان جذب در گرم ماده خشک و مقایسه میانگین آنها به روش دانکن در گیاه دارویی مرزه تابستانه (*Satureja hortensis*) تحت تنش‌های خشکی و شوری

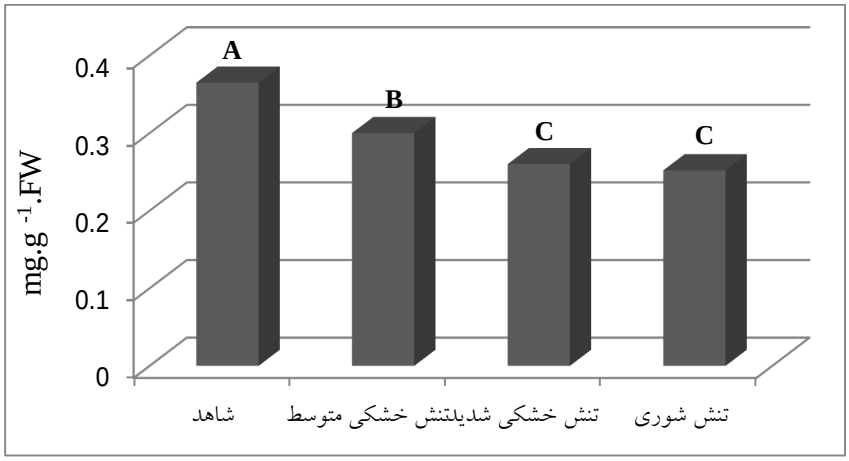
با توجه به معنی‌داری میانگین مربعات میزان کلروفیل کل، a و b در شرایط مختلف تنش (P≤۰/۰۱)، مقایسه میانگین داده نشان داد که میزان کلروفیل کل، a و b تحت تاثیر هر دو تنش خشکی و شوری کاهش یافت و شرایط عدم تنش بیشترین میزان کلروفیل را دارا بود (شکلهای ۲-۴). مقایسه

میانگین داده‌ها برای میزان کارتنوئید (شکل ۵) در چهار تیمار تنش نشان داد که با افزایش تنش خشکی از متوسط به خشکی شدید از میزان کارتنوئید به‌طور معنی‌داری (از ۰/۱۱۵ به ۰/۰۹ میلی‌گرم درگرم بافت تر) کاسته شده است در حالی که میزان کارتنوئید تحت تنش شوری (۰/۱۳۳ میلی‌گرم در گرم بافت تر) نسبت به عدم تنش (۱۲۰۰ میلی‌گرم در گرم بافت تر) افزایش معنی‌داری داشت. نتایج نشان داد که اثر تیمارهای تنش بر محتوای فلاونوئید برخلاف سایر ترکیبات معنی‌دار نبود هر چند که بیشترین مقدار فلاونوئید در تنش شوری (۶/۱۵OD.g^{-1}.FW) و کمترین آن در تنش خشکی متوسط (OD.g^{-} ۵/۶^{1}.FW) مشاهده گردید (شکل ۶). مقایسه میانگین میزان آنتوسیانین (شکل ۷) نشان داد که آنتوسیانین به تنش‌های خشکی و شوری حساس بوده و طی تنش‌های خشکی و شوری میزان آنتوسیانین (به‌ترتیب با مقادیر ۰/۶۷ و ۰/۶۲ OD.g^{-1}.FW) کاهش معنی-داری نسبت به شرایط عدم تنش (۱/۲۳OD.g^{-1}.FW) داشته است. مقایسه میانگین اثر اصلی اندام (ساقه و برگ) و اثر متقابل اندام×تنش برای صفات بیوشیمیایی در جدول ۴ نشان داده شده است و همان‌طور که مشاهده می‌گردد در اندام برگ نسبت به ساقه میزان آلکالوئید (به‌ترتیب برابر ۰/۱۵۸ و OD.g^{-1}.DW ۰/۱۳۱)، کلروفیل a (به‌ترتیب برابر ۰/۳۴۴ و mg.g^{-} ^{1}.FW ۰/۰۱۷)، کلروفیل b (به‌ترتیب برابر ۰/۲۱ و mg.g^{-1}.FW ۰/۰۱۹)، کلروفیل کل (به‌ترتیب برابر۰/۵۳ و mg.g^{-1}.FW ۰/۰۳۵)، کارتنوئید (به‌ترتیب برابر ۰/۲۰۲ و OD.g^{-1}.FW ۰/۰۲۵)، و آنتوسیانین (به‌ترتیب برابر ۱/۰۸۶ و OD.g^{-1}.FW ۰/۶۶) با اختلاف معنی‌داری بیشتر بود.

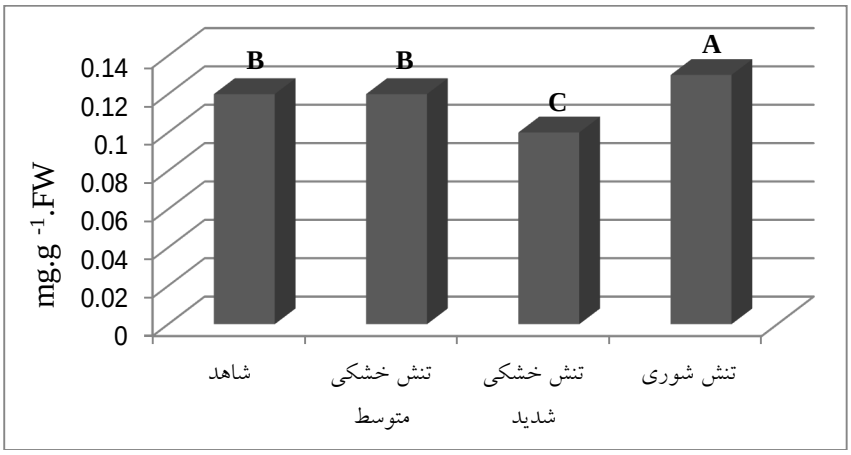
شکل ۲: میزان تغییرات کلروفیلa براساس میلی‌گرم در گرم ماده تر و مقایسه میانگین آنها به روش دانکن در گیاه دارویی مرزه تابستانه (*Satureja hortensis*) تحت تنش خشکی و شوری



شکل ۳: میزان تغییرات کلروفیلb براساس میلی‌گرم در گرم ماده تر و مقایسه میانگین آنها به روش دانکن در گیاه دارویی مرزه تابستانه (*Satureja hortensis*) تحت تنش خشکی و شوری



شکل٤: میزان تغییرات کلروفیل کل بر اساس میلی‌گرم در گرم ماده تر و مقایسه میانگین آنها به روش دانکن در گیاه دارویی مرزه تابستانه (*Satureja hortensis*)تحت تنش خشکی و شوری



شکل ٥: میزان تغییرات کارتنوئید بر اساس میلی‌گرم در گرم ماده تر و مقایسه میانگین آنها به روش دانکن در گیاه دارویی مرزه تابستانه (*Satureja hortensis*)تحت تنش خشکی و شوری

جدول ٤: مقایسه میانگین (الف) اثر اصلی اندام و(ب) اثر متقابل اندام×تنش برای صفات بیوشیمیایی گیاه دارویی مرزه تابستانه (*Saturej ahortensis* L.) تحت تنش خشکی و شوری

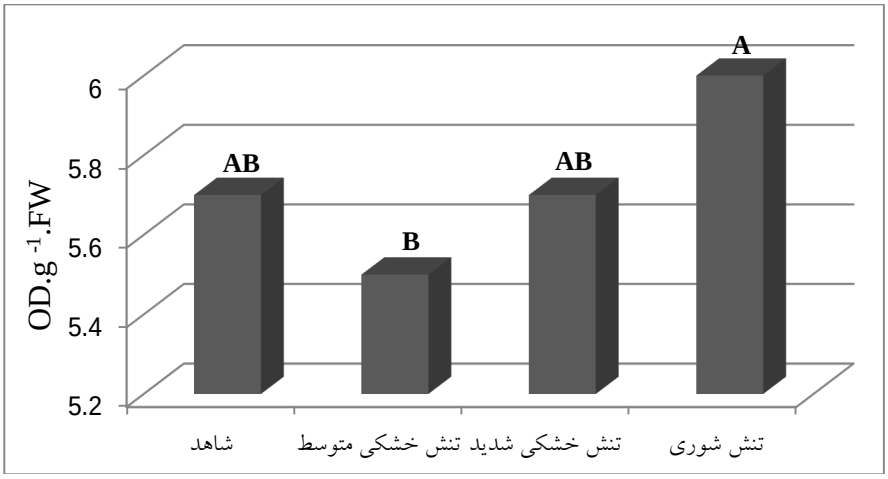
(الف)

		آلکالوئید (OD.g^{-1}.DW)	کلروفیل a (mg.g^{-1}.FW)	کلروفیل b (mg.g^{-1}.FW)	کلروفیل کل (mg.g^{-1}.FW)	کارتنوئید (mg.g^{-1}.FW)	فلاونوئید (OD.g^{-1}.FW)	آنتوسیانین (OD.g^{-1}.FW)
اندام	ساقه	۰/۱۳۱^{b}	۰/۰۱۷^{b}	۰/۰۱۹^{b}	۰/۰۳۵^{b}	۰/۰۲۵^{b}	۵/۲۴^{a}	۰/۶۶^{b}
	برگ	۰/۱۵۸^{a}	۰/۳۴۴^{a}	۰/۲۱^{a}	۰/۵۳^{a}	۰/۲۰۲^{a}	۶/۱۷^{a}	۱/۰۸۶^{a}

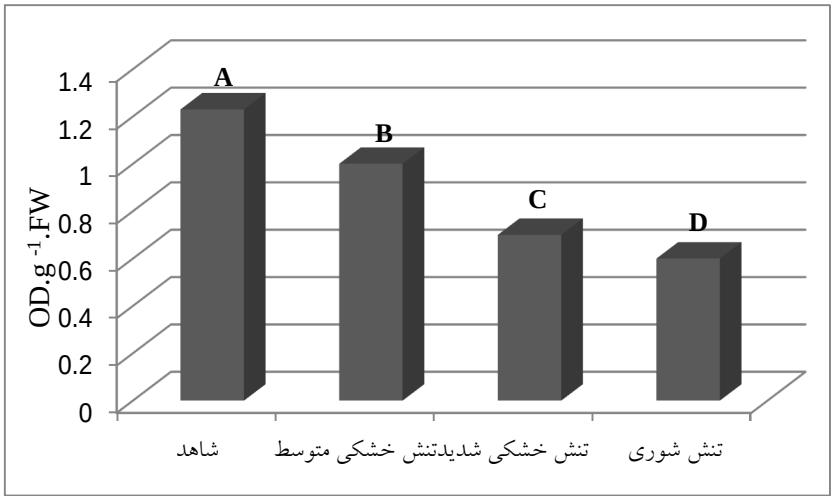
(ب)

تیمارتنش	اندام							
عدم تنش	ساقه	۰/۱۱^{e}	۰/۰۱۶^{d}	۰/۰۱۷^{d}	۰/۰۳۲^{d}	۰/۰۲^{e}	۵/۳^{cd}	۱/۱۲^{b}
	برگ	۰/۱۳^{cd}	۰/۴۶^{a}	۰/۲۴^{a}	۰/۷^{a}	۰/۲۲^{b}	۶/۱^{ab}	۱/۳۴^{a}
خشکی متوسط	ساقه	۰/۱۲^{de}	۰/۰۲۳^{d}	۰/۰۲۴^{d}	۰/۰۴۵^{d}	۰/۰۳۲^{e}	۵^{d}	۰/۹۳^{d}
	برگ	۰/۱۳۴^{cd}	۰/۳۵۷^{b}	۰/۲^{b}	۰/۵۶^{b}	۰/۲^{c}	۶/۲^{ab}	۱^{cd}
خشکی شدید	ساقه	۰/۱۵۶^{b}	۰/۰۱۶^{d}	۰/۰۲^{d}	۰/۰۳۵^{d}	۰/۰۳^{e}	۵/۲^{cd}	۰/۳۴^{e}
	برگ	۰/۱۹^{a}	۰/۲۷^{c}	۰/۲۱^{b}	۰/۵^{c}	۰/۱۵^{d}	۶/۱۴^{ab}	۱^{c}
شوری	ساقه	۰/۱۴^{c}	۰/۰۱۳^{d}	۰/۰۱۵^{d}	۰/۰۳^{d}	۰/۰۲^{e}	۶^{bc}	۰/۲۵^{f}
	برگ	۰/۱۸^{a}	۰/۳^{c}	۰/۱۹^{c}	۰/۵^{c}	۰/۲۴^{a}	۶/۳^{a}	۱^{cd}

میانگین‌های با حروف غیریکسان در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال ($p\leq$۰/۰۱) می‌باشند.



شکل ٦: میزان تغییرات فلاونوئیدبر اساس میزان جذب در گرم ماده تر و مقایسه میانگین آنها به روش دانکن در گیاه دارویی مرزه تابستانه (*Satureja hortensis*)تحت تنش خشکی و شوری



شکل ۷: میزان تغییرات آنتوسیانین بر اساس میزان جذب در گرم ماده تر و مقایسه میانگین آنها به روش دانکن در گیاه دارویی مرزه تابستانه (*Satureja hortensis*)تحت تنش خشکی و شوری

بحث

تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی همیشه به یک میزان صورت نمی‌گیرد و عوامل متعددی وجود دارند که می‌توانند تولید این ترکیبات را تحت تاثیر قرار دهند. تنوع گونه‌ای مراحل رشد و نموی، شرایط فصلی خاص، میزان دسترسی به مواد غذایی معدنی و شرایط تنش از جمله این عوامل هستند. در پاسخ به تنش شوری یا خشکی تولید ترکیبات ثانویه ممکن است افزایش یا کاهش نشان دهد اما تحقیقات زیادی در این زمینه صورت نگرفته است (Aghai et al., 2014). در مطالعه اسماعیل پور و همکاران (Esmaeilpor et al., 2013) در رابطه با مرزه (*S. hortensis*) گزارش شده است که خصوصیات رویشی مانند ارتفاع ساقه، تعداد و مساحت سطح برگ، طول ریشه، وزن خشک برگ، ساقه و ریشه با افزایش خشکی به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند که همسو با نتایج به دست آمده طی این تحقیق می‌باشد، مگر در رابطه با وزن خشک ساقه و ریشه که متغایر با یافته‌های این تحقیق می‌باشد، به‌طوری که بر اساس مقایسه میانگین، وزن خشک ساقه و ریشه در مرزه، تحت تنش خشکی با شرایط عدم تنش در یک کلاس آماری قرار گرفتند که این مغایرت می‌تواند به تفاوت ارقام مورد آزمایش و تحمل متفاوت آنها در برابر تنش‌ها ربط داده شود. جعفرزاده و همکارانش (Jafarzadeh et al., 2014) در رابطه با اثر تنش خشکی برگیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) گزارش داده‌اند که، با افزایش خشکی طول ریشه، آنتوسیانین، کارتنوئید و کلروفیل کل، a و b افزایش یافته است. درصورتی که در تحقیق حاضر میزان آنتوسیانین، کارتنوئید و کلروفیل کل، a و bدر تنش خشکی و شوری (به جز کارتنوئید که در تنش شوری افزایش یافت) کاهش داشته است. همچنین گزارش‌ها نشان دادند که کم‌آبی سبب کاهش مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل در بادرنجبویه (Abbaszadeh et al., 2008) و ریحان (Hasani and Omidbeigi, 2002) می‌گردد. از صدمات اکسیداتیو مهمی که در شرایط تنش‌های خشکی و شوری ایجاد می‌شود، تخریب مولکول کلروفیل است. کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیلa، تحت تاثیر خشکی ممکن است ناشی از کاهش سنتز کمپلکس اصلی رنگدانه کلروفیل، تخریب نوری کمپلکس پروتئینی رنگدانه‌های b و a

که محافظت کننده دستگاه فتوسنتزی هستند، صدمه اکسیداتیو لیپیدهای کلروپلاست، رنگدانه‌ها و پروتئین‌ها یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشد (Sanjary-Mijani et al., 2015). کبیری و همکاران (Kabiri et al., 2014) از تاثیر تنش خشکی بر سیاه دانه (*Nigella sativa* L.) گزارش داده‌اند که طی تنش خشکی میزان فلاونوئید در این گیاه کم شده است؛ درصورتی که در این تحقیق در مرزه این کاهش مشاهده نشد و برعکس در تنش شوری افزایش فلاونوئید مشاهده شد. با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاه، به نظر می‌رسد افزایش این متابولیت‌ها در گیاه تحت شرایط تنش شوری، سبب افزایش مقاومت آن در برابر عوامل نامساعد محیطی شده است. اسکندری زنجانی و همکاران (Eskandari-zanjani *et al*., 2012) نیز در رابطه با درمنه (*Artemisa annua* L.) گزارش داده‌اند که، تنش شوری باعث کاهش صفات ظاهری در این گیاه شده‌است. سنجری میجانی و همکاران (Sanjary-Mijani *et al*., 2015) در بررسی اثر متقابل تنش خشکی و اسید هیومیک در چای ترش (*Hibiscus sabdarifa*) گزارش دادند که با افزایش خشکی مقدار کلروفیل a,b و کارتنوئید کاهش و غلظت پرولین افزایش یافت. در صورتی که با کاربرد اسید هیومیک طی خشکی سبب افزایش محتوای کلروفیل‌های a و b و کارتنوئید شد و مقدار پرولین کاهش یافت. براساس مطالعات انجام شده می‌توان اینطور استنباط کرد که تنش‌های محیطی در گونه‌های مختلف گیاهی اثرات متفاوت اعمال می‌کند و این نتایج اهمیت مطالعاتی از این دست را افزایش می‌دهد. براساس نتایج این تحقیق مشخص گردید که مرزه تابستانه در برابر تنش شوری ۴۰ میلی مولار تقریبا مقاوم بوده و با اعمال تیمار شوری در جهت افزایش مواد داروئی، کاهشی در بیوماس مرزه ایجاد نخواهد شد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد که تنش شوری تاثیر منفی بر صفات مورفولوژیکی مرزه نداشت درحالیکه تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار در تمام صفات مورفولوژیکی گیاه شد. میزان کارتنوئید با افزایش شدت تنش خشکی کاهش، در حالیکه میزان آن تحت تنش شوری نسبت به عدم تنش افزایش نشان داد. محتوای فلاونوئید تحت تاثیر تیمارهای تنش قرار نگرفت در حالیکه میزان آنتوسیانین طی تنش‌های خشکی و شوری کاهش معنی‌داری نسبت به شرایط عدم تنش نشان داد. همچنین میزان آلکالوئید کل تحت تنش خشکی شدید و تنش شوری نسبت به عدم تنش افزایش نشان داد. درجمع بندی نهائی می‌توان بیان داشت که مرزه تابستانه نسبت به شوری مقاوم و در برابر خشکی حساس است و پیشنهاد می‌شود از تنش شوری یا خاک‌های شور برای کشت مرزه تابستانه استفاده شود تا بدون کاهش عملکرد بیوماس سبز نسبت به کشت زراعی معمولی بتوان باعث افزایش کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه در اثر تنش شوری گردید.

References

1. Abbaszadeh, B., Sharifi-ashurabadi, E., Lebaschy, M.H., Naderi-hajibaqerkandi, M. and Moghaddami, F. 2008. Effect of drought stress on prolin, soluble sugar, chlorophyll and relative water content (RWC) of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research, 23 (4): 504-513.
2. Aghai, K., Talai, N., Kanani, M. and Yazdani, M. 2014. Effect of salt stress on some physiological and biochemical parameters of two *Salvia* species.ournal of Plant Process and Function, 3(9): 85-96.
3. Arnon, D.I. 1949. Determination of chlorophyll concentration in leaf tissues of plants. Plant Physiology, 24:1.

4. Azza, A., Din, E.E., Aziz, E., Hendawy, S.F. and Omer, E.A. 2009. Response of *Thymus vulgaris* L. to salt stress and alar in newly reclaimed soil. Journal of Applied Sciences Research, 5(12): 2165-2170.
5. Bahreininejad, B., Razmjoo, J. and Mirza, M., 2013. Influence of water stress on morpho-physiological and phytochemical traits in *Thymus daenensis*. International Journal of Plant Production, 7 (1): 155-166.
6. Eman, E., Aziz, E., Hendawy, S.F. and Omer, E.A. 2008. Effect of soil type and irrigation intervals on plant growth, essential oil yield and constituents of *Thymus vulgaris* plant. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 4(4): 443-450.
7. Eskandari-Zanjani, K., Shirani Rad, A.H., Bitarafan, Z., Aghdam, A. M., Taherkhani, T. and Khalili, P. 2012. Physiological response of sweet wormwood to salt stress under salicylic acid application and non-application conditions. Life Science Journal, 9(4):4190-4195.
8. Gorbanali, M., Baher, Z., Mirza, M. and Rezaei, M.B. 2001. Evaluation of some parameters of growth and qualitative and quantitative change in fennel essential oil composition under different irrigation regimes during periods of vegetative and reproductive growth. Research and development, 52: 40-45.
9. Esmaelpor, B., Jalilvand, P. and Hadian, J. 2013. Effect of drought stress and mycorrhizal fungi and performance of the morpho-physiological traits savory (*satureja hortensis* L). Journal of Agroecology, 5(2):169-177.
10. Hadian, J., Asgarilajayer, H., Motesharezadeh, B. and Ghorbanpoor, M. 2015. Evaluation of changes in performance and composition of essential oil of savory *Satureja hortensis* L. in response to different treatments of copper and zinc. Iran Plant Biology, 7(24): 53-66.
11. Harborne, J.B. 1973. Phytochemical Methods, London. Phytochemistry, 51, pp. 187189.
12. Hasani, A. and Omidbeigi. R. 2002. Effects of water stress on some morphological, physiological and metabolic traits of basil. Journal of Agricultural Knowledge, 12(3): 47-59.
13. Hosseini, H.F., Larijani, B., Fakhrzadeh, H., Radjabipour, B., Toliat, T. and Reza, M. 2006. The efficacy of *Silybum marianum* L. Gaertn. (silymarin) in the treatment of type II diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. Phytotherapy Research, 20 (12) 1036-1039.
14. Hosseini, H.F., Darvishzadeh, F., Heshmat, R., Jafari-azar, Z., Raza, M. and Larijani, B. 2009. The clinical investigation of *Citrullus colocynthis* L. schrad fruit in treatment of Type II diabetic patients: a randomized, double blind, placebo-controlled clinical trial. Phytotherapy Research, 23 (8): 186-9.
15. Jacob, H. and Clark, G. 2002. Methods of soil analysis. Part IV Physical Method. Soil Science Inc. Madison, Wisconsin, USA, 1692 pp.
16. Jafarzadeh, L., Omidi, H. and Bostani, A.A. 2014. The study of drought stress and bio fertilizer of nitrogen on some biochemical traits of marigold medicinal plant (*Calendula officinalis* L.). Iranian Journal of Biology, 27(2):180-193.
17. Kabiri, R., Farahbakhsh, H. and Nasibi, F. 2014. Effect of drought stress on physiological and biochemical characteristics of *Nigella sativa L*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 30 (4): 600-609.
18. Miller, K.L., Liebowitz, R.S. and Newby, L.K. 2004. Complementary and alternative medicine in cardiovascular disease: a review of biologically based approaches. American Heart Journal, 147: 401-11.
19. Nakabayashi, R. and Saito, K. 2015. Integrated metabolomics for abiotic stress responses in plants. Current Opinion in Plant Biology, 24: 6-10.
20. Nogues, S. and Baker, N.R. 2000. Effect of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. Journal of Experimental Botany, 51:1309-1317.

21. Rasam, G.H., Dadkhah, A. and Khoshnod-yazdy, A., 2014. Assessing the impact of water shortages on morphological and physiological characteristics of medicinal plants hyssop. Journal of Agriculture, 10: 1-12.
22. Rezvani-moghaddam, P. and Nourozpour, G., 2006. The effect of irrigation intervals and plant density on yield and essential oil seeds of *Nigella sativa*. Research and Development, 19 (4): 133-138.
23. Riaz, P., Surendra, S. and Harting, H. 2007. Effect of irrigation intervals and splitted nitrogen on carvone content of *Anethum graveolense* L. grown in semi-arid region. Journal of Horticulture Environment Biotechnology, 41(4): 25-30.
24. Sanjary-Mijani, M., Syrosmehr, A. and Fakhery, B., 2015. Effect of drought stress and humic acid on some physiological characteristics of hibiscus (*Hibiscus sabdarifa*). Crops Improvement. 2: 403-414.
25. Setayesh-mehr, Z. and Ganjali, A. 2013. The effects of drought on growth and physiological characteristics of dill (*Anethum graveolens* L.). Journal of Horticultural Science, 27(1): 27-35.
26. Solinas, V., Deiana, S., Gessa, C., Bazzoni, A., Loddo, M.A. and Satta, D., 1996. Effect of water and nutrional conditiond on *Rosmarinus officinalis* Phenolic fraction and essential oil yield. Rivista Italiana Emergency Preparedness Position on Timeliness, 19: 189-198.
27. Zarezade, A., Tabaeiaghdaei, R., Mirhosseini, A., Arabzadeh, M. and Mirjani, L., 2016. Variation in yield and yield components and adaptability of *Satureja* species in Yazd province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 31(6): 931-944.