بررسی فیتوشیمیایی و فیزیولوژیکی اسانس و عصاره گیاه دارویی *Satureja sahendica* Bornm. به تنش کم‌آبی

حمید محمدی[1*]، پریا پورمحمد[2]، سعید حضرتی[3]

[1]دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

[2]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

[3]استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹ /۷/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۹/۹/۱۹

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیک، کمیت وکیفیت مواد موثره اسانس مرزه سهندی، آزمایشی در شرایط گلخانه در قالب بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۸ انجام شد. سطوح مختلف تنش خشکی شامل شرایط ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای (شاهد ۱۰۰درصد)، تخلیه۴۰ و۷۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای بود. پس از اسانس‌گیری با استفاده از روش تقطیر با آب، اسانس‌ها با استفاده از دستگاه GC-MS مورد تجزیه قرار گرفت. پس از تهیه عصاره متانولی، محتوای فنل کل با روش فولین–سیوکالتیو سنجیده شد. نتایج نشان داد تنش کم‌آبی در هر دو سطح (۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی) به‌ترتیب باعث کاهش معنی‌دار ۷۴/۷۳ و ۷۸/۸۳ درصدی وزن خشک در مقایسه با تیمار شاهد شد اما تفاوت معنی‌داری بین دو سطح تنش مشاهده نشد. تنش کم‌آبی با ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی به ترتیب منجر به کاهش ۱۸/۴۹ و ۳۰/۸۷ درصدی محتوای کلروفیل کل، ۱۳/۸۴ و ۲۵/۳۵ درصدی محتوی آب نسبی برگ در مرزه سهندی شد. محتوای هیدروژن پراکسید، مالون دی آلدهید و پرولین تحت تاثیر شرایط تنش کم‌آبی افزایش قابل توجهی پیدا کرد. محتوای فنل کل ۲۵/۷۸ و ۴۸/۴۴ درصد به‌ترتیب در شرایط تنش کم‌آبی ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی افزایش یافت. مهم‌ترین ترکیب اسانس گیاه مرزه سهندی در همه تیمارها شامل تیمول، پی سیمن و گاما–ترپینن بود که تنش کم‌آبی میزان این ترکیب‌های اسانس را تحت تاثیر قرار داد و افزایش معنی‌دار ۱۱/۴۷ و ۳۰/۶۵ درصدی در محتوای تیمول به‌ترتیب در شرایط تنش کم‌آبی ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی مشاهده شد. بر اساس نتایج بدست آمده مشخص شد که اعمال تنش‌کم‌آبی می‌تواند ویژگی‌های فیزیولوژیک، کمیت و کیفیت اسانس مرزه سهندی را نیز افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، تیمول، تنش‌های غیر زیستی، مرزه سهندی

[*]نویسنده مسئول: hmohammadi@azaruniv.ac.ir

مقدمه

مرزه با جنس *Satureja* L. گیاهی علفی، یکساله و چند ساله از تیره نعناعیان (Lamiaceae) است که منشاء آن از شرق مدیترانه و جنوب اروپاست، جنس مرزه درکشور ایران دارای ۱۵ گونه یکساله و چندساله است که ۹ گونه از این جنس، انحصاری ایران می‌باشد (Namayandeh et al., 2017). گونه‌های مختلف مرزه عموماً در مناطق با اقلیم مرطوب و خاک‌های عمیق تا مناطق با اقلیم خشک، آفتابی و خاک‌های سنگلاخی رشد می‌کنند (Hadian, 2008). گیاه دارویی مرزه در مرحله گل‌دهی حاوی حداکثر مقدار اسانس می‌باشد. از این رو برداشت پیکر رویشی از این مرحله آغاز می‌شود. چنانچه شرایط محل رویش گیاهان مناسب باشد، می‌توان در طول سال ۲ یا حتی ۳ بار محصول را برداشت نمود (Omidbaigi, 2007). مرزه سهندی *Satureja sahendica* Bornm گونه انحصاری ایران می‌باشد که در عرصه‌های طبیعی غرب و شمال غرب کشور از جمله در استان آذربایجان شرقی پراکنش دارد. همانند سایر گونه‌های مرزه، سرشاخه‌های این گیاه دارویی چند ساله در صنایع غذایی، داروسازی، و آرایشی- بهداشتی کاربرد دارد (Babajafari et al., 2015). مرزه سهندی در طب سنتی و مدرن و ادویه‌ای کاربرد گسترده‌ای دراد. پیکره رویشی این گیاه حاوی اسانس(مهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده می‌توان تیمول (۴۱/۷-۱۹/۶ درصد)، پارا- سیمن (۵۴/۹-۳۲/۵ درصد)، گاما-ترپینن (۱۲/۸-۱ درصد)، کارواکرول (۳۰ تا ۴۰ درصد) می‌باشد. از مواد دیگر پیکر رویشی این گیاه می‌توان به ترکیب‌های فنلی، آهن‌دار و ترکیب‌های قندی، اسیدهای آلی، موادتلخ و ترکیب‌های موسیلاژی نام برد (Sefidkon et al., 2004; Momtaz and Abdollahi, 2010; Tepe and Cilkiz, 2016). از مواد موثره این گیاه در درمان دردهای عضلانی، کرامپ، تهوع، بیماری‌های عفونی و اسهال کاربرد داشته و همچنین هضم کننده غذا، ادرارآور، خلط‌آور، ضددرد، ضد سرطان، محرک و مقوی معده می‌باشد (Tajali et al., 2013; Tepe and Cilkiz, 2016). فعالیت‌های بیولوژیکی دیگری از جمله آثار ضد اسپاسم، بازدارندگی استیل کولین استراز، لیپیدپراکسیداز، حذف رادیکال‌های آزاد، محرک ماکروفاژی گلبول‌های سفید خون در مورد ترکیبات موجود در اسانس این گیاه گزارش شده است (Sharifi-Rad et al., 2018). از اسانس مرزه در صنایع کنسرو سازی و نوشابه‌سازی استفاده می‌شود. عطر قوی این گیاه به خاطر وجود روغن‌های فرار مخصوصاً تیمول است (Tepe and Cilkiz, 2016).

آب به‌عنوان یکی از مهمترین عوامل اقلیمی، تأثیر عمده‌ای در پراکنش، رشد و نمو، فرآیندهای فیزیولوژیک و میزان مواد مؤثر گیاهان دارویی دارد. معمولاً غالب گیاهان دارویی در کشور ایران در طور دوره رشد و نمو با کمبود آب مواجه می‌شوند؛ لذا ارزیابی گیاهان نسبت به شرایط خشک و نیمه خشک، بسیار پر اهمیت می‌باشد. تحقیقات متعددی در این زمینه روی گیاهان دارویی خانواده نعناعیان صورت گرفته و نتایج نشان داده که معمولاً گیاهان این خانواده تحت تنش کم‌آبی میزان ماده خشک تولیدی را کاهش و برخی از تغییرات فیزیولوژیک، ریخت‌شناسی، بیوشیمیایی و فیتوشیمیایی در این گیاهان به منظور افزایش مقاومت به تنش بوجود می‌آید (García-Caparrós et al., 2019).

برخی از سازوکارهای کارآمدی فیزیولوژیک گیاهان در جهت افزایش مقاومت نسبت به تنش کم‌آبی افزایش سنتز و ذخیر مواد تنظیم کننده اسمزی و ترکیب‌های فیتوشیمیایی است که طی آن پتانسیل اسمزی بافت‌های تحت تنش در اثر انباشت گروهی از مواد اسمزی در سلول‌ها کاهش می‌یابد و در نتیجه

فشار تورژسانس سلول‌ها در حد مطلوبی نگهداری می‌شود. برخی متابولیت‌ها مانند اسیدهای آمینه به ویژه پرولین، ترکیب‌های فیتوشیمیایی مانند اسانس‌ها، فنل‌ها، قندها، هومون‌ها، پروتئین‌ها و غیره می‌باشند (Mundim and Pringle, 2018; Sharma et al., 2019).

سودائی‌زاده و همکاران (Sodaii zadeh et al., 2016) بیان نمودندکه تنش خشکی باعث کاهش ارتفاع بوته، وزن تر و خشک گیاه و تعداد شاخه‌های فرعی گیاه دارویی مرزه تابستانه *S. hortensis* شد؛ به‌طوری‌که بیشترین مقدار این صفات مربوط به تیمار بدون تنش (آبیاری معمول منطقه هر ۵ روز یک‌بار) و کمترین مربوط به تیمار دور آبیاری ۹ روز بود. در مطالعه‌ای نتایج نشان داد که کاهش آبیاری تاثیر معنی‌داری در کاهش پارامتر های رشد شامل وزن خشک و طول ریشه، قطر ساقه، تعداد شاخه فرعی، ارتفاع گیاه و عملکرد کل اندام هوایی مرزه بختیاری داشت (Eskandari, 2013). گیاه مرزه تابستانه، با به کارگیری برخی مکانیسم‌های دفاعی از قبیل کاهش معنی‌دار ارتفاع گیاه، قطر و حجم تاج پوشش، وزن خشک اندام هوایی، سطح برگ و از طرف دیگر کاهش ضخامت و افزایش طول ریشه‌ها، افزایش محتوی پرولین و کلروفیل در مقابل تنش خشکی تا حدی مقاومت می‌کند (Sodaii zadeh et al., 2016).

تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله اسانس‌ها در گیاهان دارویی تحت کنترل عوامل ژنتیکی است، ولی عوامل محیطی بویژه شرایط تنش‌زا، نقش عمده‌ای را در کمیّت و کیفیّت محصول بدست آمده از گیاهان دارویی به عهده دارند. از عوامل محیطی مؤثر بر رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه می‌توان به شرایط اقلیمی مانند نور، درجه حرارت، بارندگی، ارتفاع از سطح دریا، عرض جغرافیایی، شرایط خاک همچون حاصلخیزی، بافت خاک، رطوبت خاک، شوری، اسیدیته، توپوگرافی و مدیریت زراعی اشاره نمود، با این حال کنترل کامل این عوامل امکان‌پذیر نیست، ولی می‌توان با استفاده از روش‌هایی، اثرات محیطی را به‌شکلی مدیریت کرد که گیاه تحت هر شرایطی، حداکثر توانایی خود را بروز دهد (Yang et al., 2018). در مطالعه‌ای توسط شریعت و همکاران (۱۳۹۷) روی گیاه دارویی مرزه سهندی برداشت در پنج مرحله پس از برداشت به فاصله سه روز صورت گرفت و نتایج نشان داد با افزایش فاصله برداشت پس از قطع آبیاری میزان درصد اسانس و ترکیب تیمول به‌عنوان مهمترین ترکیب در اسانس این گیاه افزایش قابل توجهی پیدا کرد. در بررسی روی اسانس دو گونه مرزه خوزستانی (*S. khuzistanica* Jamzad) و مرزه رشینگری (*S. rechingeri* Jamzad) بازده اسانس تحت تنش خشکی در هر دو گونه افزای شقابل توجهی نمود (Nooshkam et al., 2014). در مطالعاتی روی گیاه دارویی ریحان (Omidbaigi et al., 2003) و بادرشبو (Hassani, 2006) اعمال تنش خشکی (۵۵، ۷۰، ۸۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) نتایج نشان داد با افزایش شدت تنش خشکی درصد اسانس افزایش قابل توجهی نمود اما عملکرد اسانس به دلیل کاهش درصد ماده خشک کاهش پیدا کرد. در مطالعه‌ای روی گیاه دارویی مرزنجوش اعمال تنش خشکی منجر به کاهش محتوی کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ، افزایش فنل و درصد اسانس گردید (Minaei et al., 2019). در تحقیقی روی گیاه دارویی آویشن تنش خشکی منجر به میزان کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ و ماده خشک تحت تنش خشکی کاهش پیدا کرد (Tátrai et al., 2016).

وضعیت بحرانی آب در ایران از یک سو و مصرف عمده آب در بخش کشاورزی از سوی دیگر، تجدیدنظر در نوع گیاهان مورد کشت را به یک ضرورت اجتناب ناپذیر مبدل کرده است. در همین

راستا شناسایی و معرفی گیاهان متحمل به خشکی و جایگزینی این گیاهان کم توقع و با نیاز آبی پایین اهمیت بالایی دارد. با توجه به بررسی‌های صورت گرفته تاکنون مطالعه جامعه‌ای روی مرزه سهندی صورت نگرفته است. لذا با توجه به اهمیت گیاهان دارویی مرزه سهندی در تامین سلامت جامعه و امکان توسعه کشت آن در مناطقی از کشور به ویژه مناطق شمال غرب کشور و همچنین اثرات تنش کم‌آبی بر رشد و عملکرد و تغییرات مواد موثره‌ی گیاهان دارویی، هدف ازتحقیق بررسی تنش کم‌آبی بر رشد و شاخص‌های فیزیولوژیک و ترکیب‌های فیتوشیمیایی گیاه مرزه تحت تنش کم‌آبی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه تجاری-تحقیقاتی واقع در کلیبر استان آذربایجان شرقی با مختصات جغرافیایی عرض ۳۸ درجه و ۲۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۲۰ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۵۱۰ متر از سطح دریا قرار دراد در بهار و تابستان سال ۱۳۹۸-۹۹ اجرا گردید. آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام پذیرفت. تیمارهای آزمایش شامل تیمار تنش کم‌آبی در سه سطح (شاهد، تنش کم‌آبی ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی و تنش کم آبی ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی) روی گیاه دارویی مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm.) بودند. بذرهای مورد استفاده در این تحقیق از منطقه کلیبر جمع‌آوری شدند (کد هرباریوم ۹۹۰۰۱ در هرباریوم دانشگاه شهید مدنی آذربایجان توسط دکتر مصطفی عبادی تشخیص داده شد، نگهداری می‌گردد) و سپس در داخل سینی‌های کشت مخصوص نشاء کشت شدند. بعد از رسیدن گیاهان به رشد مورد نظر تا مرحله ۴ و ۵ برگی، در اسفند ماه سال ۱۳۹۸ هرکدام از نشا گیاهان به داخل گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی متر و گنجایش ۴ کیلوگرم خاک که دارای زهکش مناسب بود انتقال یافتند، بافت خاک انتقال یافته به گلدان‌ها، لوم شنی بود (مخلوطی از ۷۵/۸۲ درصد شن، ۱۱/۲۵ درصد سیلت، ۱۲/۹۳ درصد رس) بود. همچنین pH خاک مورد استفاده ۷/۹۲، هدایت‌الکتریکی آن $1/65 dS.m^{-1}$، مواد آلی آن ۱/۳۸ درصد و کربن آلی آن ۰/۸ درصد بود. گلدان‌ها در گلخانه در شرایط ۱۶ساعت روشنایی و دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. زمان اعمال تیمار تنش کم آبی، سه هفته قبل از گلدهی کامل بود. در این آزمایش برای اندازه‌گیری رطوبت خاک هر یک از گلدان‌ها جهت اعمال تیمار کم آبی از دستگاه رطوبت سنج (TDR) استفاده شد.

گیاهان در مرحله گلدهی برداشت و سپس بسته‌بندی کرده و درون محفظه خنک و مملو از یخ به آزمایشگاه گیاهان زراعی انتقال داده شدند. در آزمایشگاه نمونه‌های جمع‌آوری شده به منظور بررسی صفات فیزیولوژیک به تعداد یکسان و به‌صورت تصادفی به دو نمونه گیاهی‌تر و خشک تقسیم‌بندی گردیدند. نمونه‌های‌تر را درون زیپ کیپ بسته‌بندی و سپس در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد جهت اندازه گیری صفات فیزیولوژیکی فریز شدند. نمونه‌های خشک به آزمایشگاه گیاهان دارویی انتقال داده شدند تا در محیطی عاری از آلودگی و تابش مستقیم نور خورشید (در شرایط سایه) خشک شوند و سپس جهت اندازه‌گیری درصد اسانس، استخراج عصاره جهت اندازه‌گیری میزان فنل کل مورد استفاده قرار گرفت.

در این آزمایش صفات ماده خشک اندام هوایی، محتوای رنگدانه‌ها (Lichtenthaler and Wellburn, 1983)، محتوای آب نسبی برگ، محتوای پرولین (Bates et al., 1973)، محتوای مالون‌دی‌آلدهید

(Heath and Packer, 1968)، محتوای هیدروژن پراکسید (Alexieva et al., 2001)، محتوای فنل (McDonald et al., 2001)، بازده اسانس و ترکیبات اسانس اندازه گرفته شد.

استخراج اسانس: محتوای اسانس به روش تقطیر با آب بر اساس روش پیشنهادی فارماکوپه اروپا (British Pharmacopoeia, 1993) و با استفاده از دستگاه کلونجر صورت گرفت برای استخراج اسانس ۳۰ گرم نمونه خشک شده (شاخساره) به مدت ۱۵۰ دقیقه اندازه‌گیری شد.اسانس به‌دست آمده توسط سولفات سدیم خشک و به دقت توزین گردید در پایان درصد اسانس (وزنی/ وزنی) محاسبه شد. نمونه‌های اسانس در شرایط خنک و تاریک یخچال برای آنالیز بعدی با دستگاه‌های GC و GC-MS نگهداری شدند.

شناسایی ترکیب‌های اسانس: از گاز کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی مدل Agilent Technologies-7890A، مجهز به ستون HP-5 به‌طول ۳۰ متر، قطر ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت لایه ساکن ۰/۲۵ میکرومتر می‌باشد استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شبیه به برنامه‌ریزی ستون در دستگاه GC بود. درجه حرارت محفظه تزریق ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و درجه حرارت INTERFACE ۲۵۰ درجه سانتی گراد تنظیم شد. گاز حامل، هلیوم بود که با سرعت ۱/۵۰ میلی‌لیتر در دقیقه در طول ستون حرکت کرده است. زمان اسکن برابر با ۰/۴ ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰-۴۶۰ بوده است.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از آزمایش با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۰۷ انجام شد.

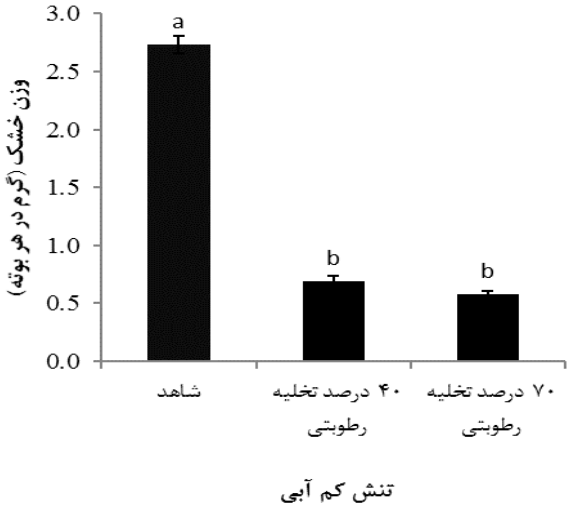
نتایج

وزن خشک بوته: نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که تنش کم‌آبی تاثیر معنی‌داری بر وزن خشک بوته‌های مرزه سهندی داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها بیانگر آن است که تنش کم‌آبی در هر دو سطح (۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی) به‌ترتیب باعث کاهش معنی‌دار ۷۴/۷۳ و ۷۸/۸۳ درصدی این صفت در مرزه سهندی در مقایسه با تیمار شاهد شد؛ اما تفاوت معنی‌داری بین دو سطح تنش مشاهده نشد (شکل ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس وزن خشک و صفات فیزیولوژیک در مرزه سهندی تحت تنش کم‌آبی

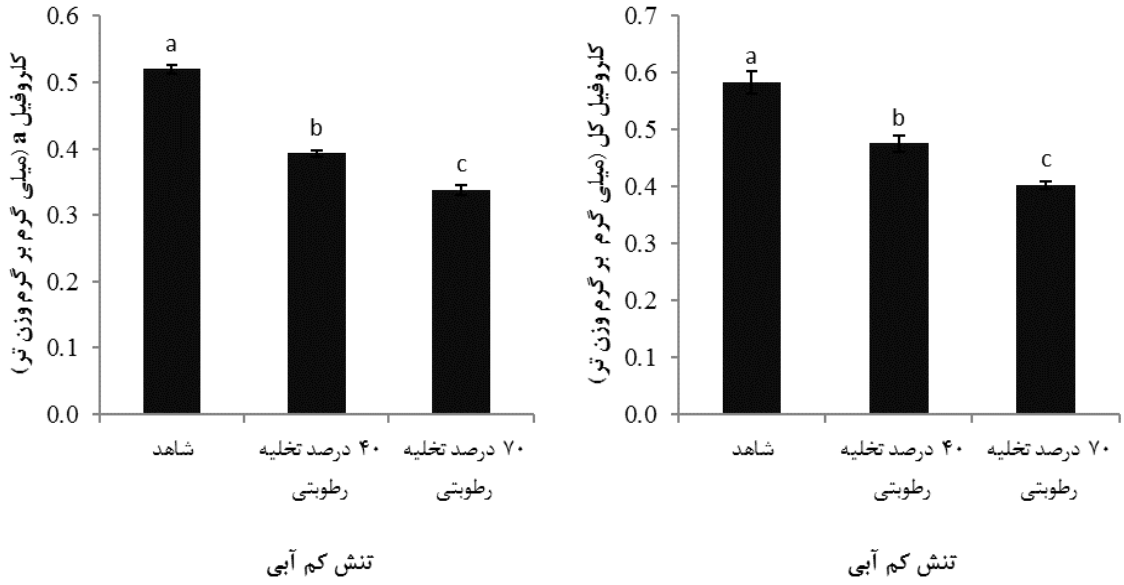
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		وزن خشک بخش هوایی	محتوای نسبی آب برگ	محتوای کلروفیل a	محتوای کلروفیل b	محتوای کلروفیل کل	محتوای کاروتنوئید
بلوک	۲	۰/۰۱۹ ns	۶/۲۹۸ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۱ *	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۳ ns
تیمار	۲	۴/۴۱۵ **	۳۷۰/۸۸۶ **	۰/۰۲۶ **	۰/۰۰۰۳ ns	۰/۰۲۴ **	۰/۰۰۱ ns
اشتباه آزمایشی	۴	۰/۰۰۳	۴/۳۷۲	۰/۰۰۰۰۹	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۱

*، ** به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ و یک درصد؛ ns، عدم اختلاف معنی‌دار



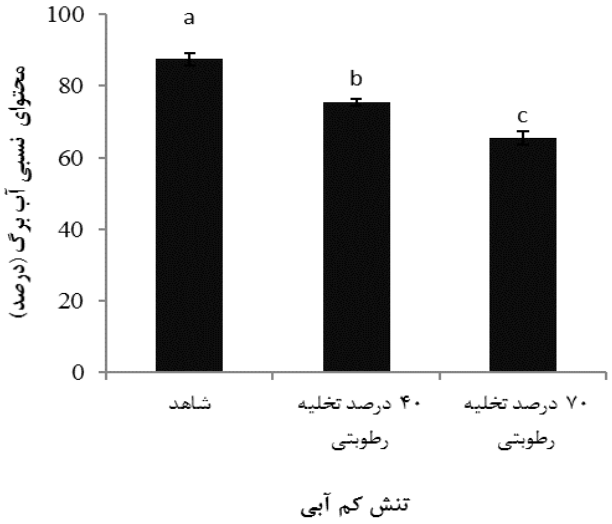
شکل ۱: تاثیر تنش کم‌آبی بر وزن خشک بوته مرزه سهندی

رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد تنش کم‌آبی تاثیر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل a و کلروفیل کل در مرزه سهندی داشته ولی بر محتوای کلروفیل b و کاروتنوئیدها تاثیری نداشت (جدول ۱). بیشترین محتوی کلروفیل a و کل در تیمار عدم تنش کم‌آبی به میزان ۰/۵۲.و ۰/۵۸ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر بدست آمد. تنش کم‌آبی با ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی باعث کاهش ۲۴/۴۲ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی منجر به کاهش ۳۵/۱۲ درصدی محتوای کلروفیل a شد، همچنین تنش کم‌آبی با ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی به ترتیب منجر به کاهش ۱۸/۴۹ و ۳۰/۸۷ درصدی محتوای کلروفیل کل شد (شکل ۲).



شکل ۲: تاثیر تنش کم‌آبی بر محتوای کلروفیل a و کل در مرزه سهندی

محتوای نسبی آب برگ (RWC): بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) تنش کم‌آبی تاثیر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب برگ برگ مرزه سهندی گذاشت. نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین محتوای محتوای نسبی آب برگ در تیمار عدم تنش کم‌آبی به میزان ۸۷/۵۰ درصد بدست آمد اما تنش کم‌آبی باعث کاهش معنی‌دار محتوای محتوای نسبی آب برگ در گیاه شد کاهش ۱۳/۸۴ و ۲۵/۳۵ درصدی به ترتیب با ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی در مرزه سهندی مشاهده شد (شکل ۳).



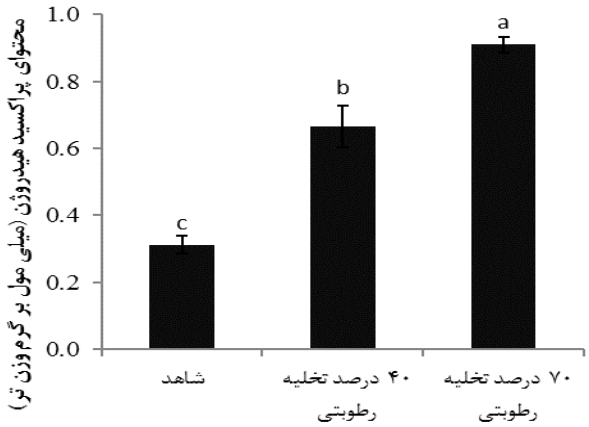
شکل ۳: تاثیر تنش کم‌آبی بر محتوای رطوبت نسبی برگ مرزه سهندی

محتوای پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و محتوای مالون دی آلدهید (MDA): براساس نتایج تجزیه واریانس محتوای H_2O_2 و محتوای MDA در گیاه مرزه سهندی تحت تاثیر شرایط تنش کم‌آبی قرار گرفت (جدول ۲). افزایش معنی‌دار ۱۱۲/۴۷ و ۱۹۱/۲۵ درصدی در محتوای H_2O_2 به‌ترتیب در شرایط تنش کم‌آبی با ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی در مقایسه با تیمار عدم تنش کم‌آبی مشاهده شد (شکل ۴). همچنین براساس مقایسه میانگین بین ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی تفاوت قابل توجهی مشاهده شده به طوری که میزان افزایش H_2O_2 در ۷۰ درصد تخله رطوبت ۲۵ درصد بیشتر بود.

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک و درصد اسانس در مرزه سهندی تحت تنش کم‌آبی

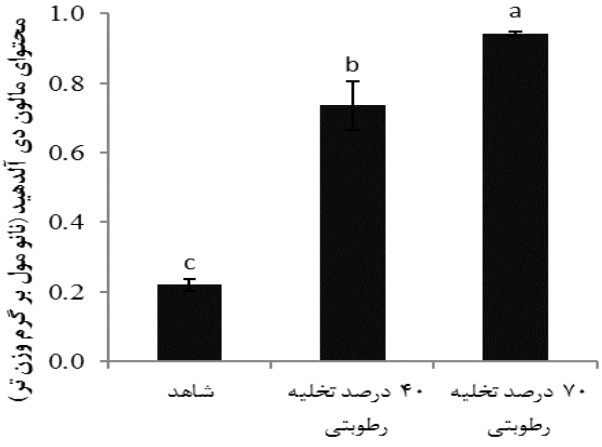
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		محتوای H_2O_2	محتوای MDA	محتوای پرولین	محتوای فنل کل	محتوای اسانس
بلوک	۲	۰/۰۱۰ ns	۰/۰۰۳ ns	۵۶/۴۰ ns	۲۱/۰۳ *	۰/۰۱۹ ns
تیمار	۲	۰/۲۷۰ **	۰/۴۱۴ **	۱۶۵۸/۰۴ **	۷۸۹/۰۷ ns	۱/۱۵۰ **
اشتباه آزمایشی	۴	۰/۰۰۲	۰/۰۰۶	۱۹/۸۳	۶/۹۷	۰/۰۰۸

*، ** به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ و یک درصد؛ ns، عدم اختلاف معنی‌دار



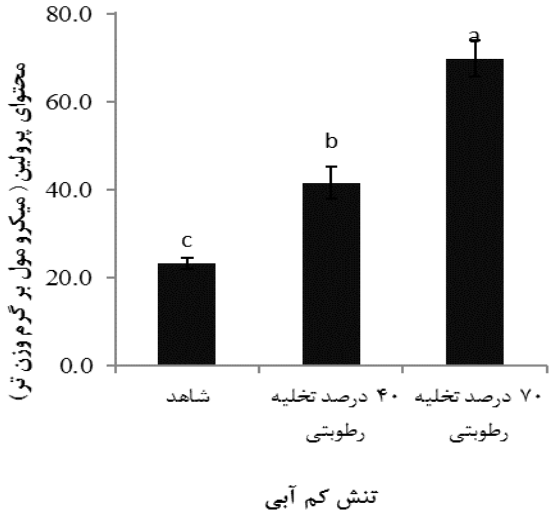
شکل ٤: تاثیر تنش کم‌آبی بر محتوای H_2O_2 مرزه سهندی

افزایش معنی‌دار ۲۳۴/۹۰ و ۳۲۸/۶۷ درصدی در محتوای MDA به‌ترتیب در شرایط تنش کم‌آبی با ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی در مرزه سهندی مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد بین دو سطح ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی تفاوت آماری قابل توجهی وجود دارد به‌طوری که محتوای MDA در تیمار تنش شدید ۲۰ درصد در مقایسه با تنش متوسط افزایش پیدا کرد (شکل ۵).



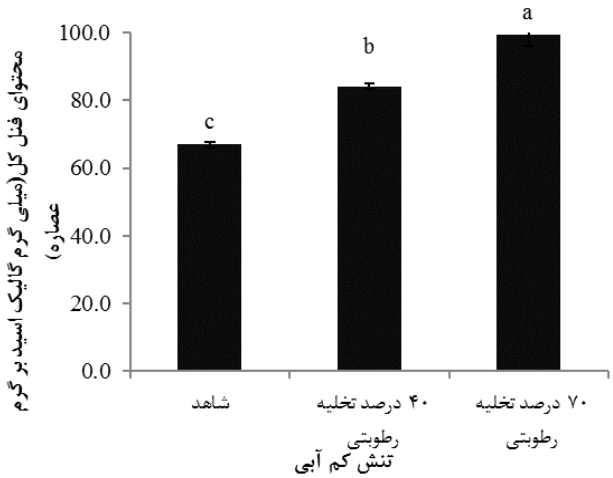
شکل ۵: تاثیر تنش کم‌آبی بر محتوای MDA مرزه سهندی

محتوای پرولین: نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد محتوای پرولین تحت تاثیر شرایط تنش کم‌آبی قرار گرفت (جدول ۲). افزایش معنی‌دار ۷۹/۲۳ و ۲۰۱/۰۷ درصدی در مرزه سهندی در محتوای پرولین به‌ترتیب در شرایط تنش کم‌آبی با ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی مشاهده شد، همچنین بین دو سطح تنش تفاوت قابل توجهی وجود داشت به‌طوری‌که در تیمار تنش شدید میزان پرولین ۲۸ درصد افزایش یافت (شکل ۶).



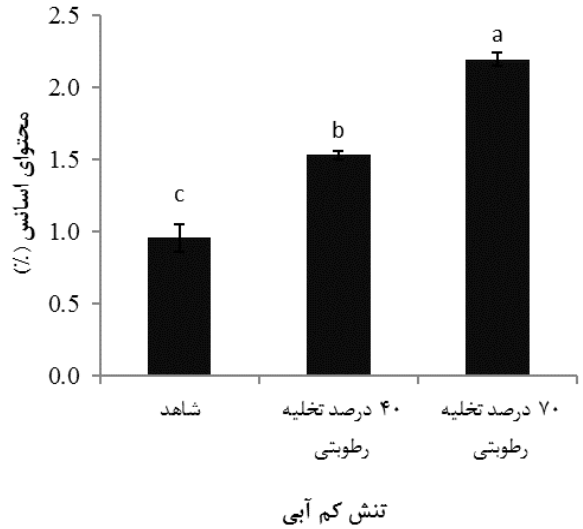
شکل ٦: تاثیر تنش کم‌آبی بر محتوای پرولین مرزه سهندی

محتوای فنل کل: شرایط تنش کم‌آبی در گیاهان داروئی مرزه سهندی باعث افزایش معنی‌دار محتوای فنل کل شد (جدول ۲). ولی این افزایش در مرزه سهندی ۲۵/۷۸ و ۴۸/۴۴ درصد در محتوای فنل کل به‌ترتیب در شرایط تنش کم‌آبی با ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی بود (شکل ۷).



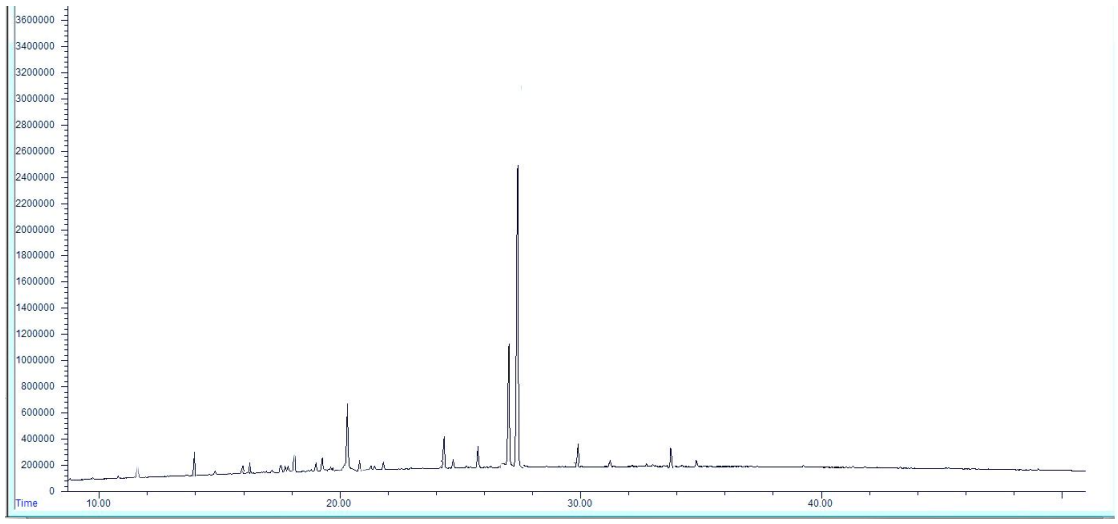
شکل ۷: تاثیر تنش کم‌آبی بر محتوای فنل کل مرزه سهندی

محتوای اسانس: نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد تنش کم‌آبی تاثیر معنی‌داری بر محتوای اسانس داشت (جدول ۲). کمترین محتوی اسانس در تیمار شاهد بدست آمد، به‌طوری‌که افزایش شدت تنش کم‌آبی موجب افزایش قابل توجهی در محتوای اسانس گیاه مرزه سهندی شد این افزایش به‌ترتیب ۶۰/۱۲ و ۱۲۹/۶۰ درصد با ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی مشاهده شد (شکل ۸).

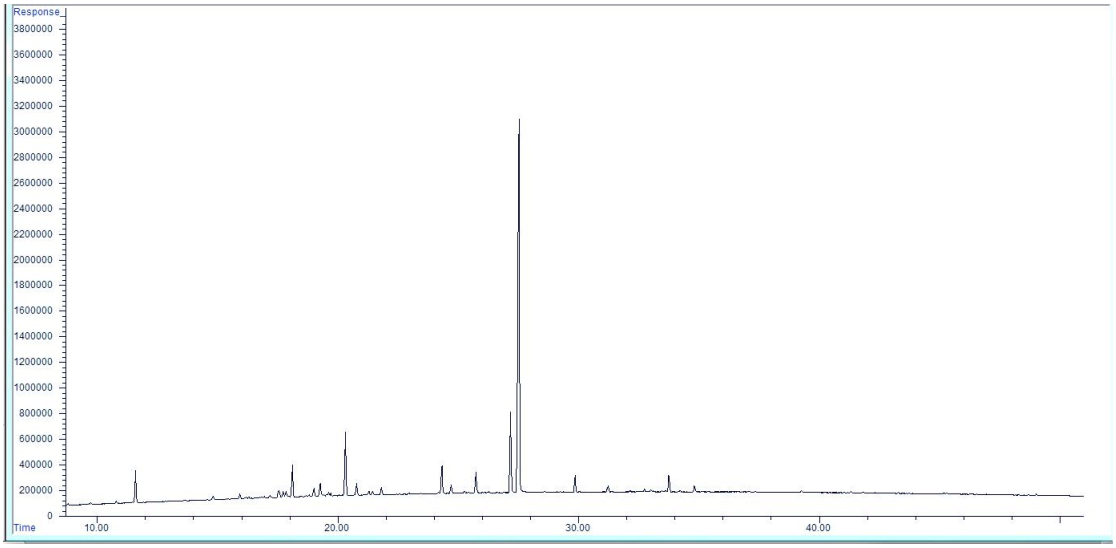


شکل ۸: تاثیر تنش کم‌آبی بر محتوای اسانس مرزه سهندی

ترکیبات اسانس: نتایج تجزیه اسانس توسط دستگاه GC-MS در شکل‌های۹، ۱۰ و ۱۱ و جدول (۳) آمده است. بر اساس نتایج این جدول تعداد ۲۴ نوع ترکیب در زمان گلدهی در مرزه سهندی شناسایی شد، مهمترین ترکیب اسانس گیاه مرزه سهندی در همه تیمارها شامل پی سیمن، گاما-ترپینن و تیمول بود که تنش کم‌آبی میزان این ترکیب‌های را تحت تاثیر قرار داد (جدول ۳). نتایج نشان داد در شرایط شاهد محتوای تیمول (۳۴/۷۱ درصد)، گاما-ترپینن (۲۵/۵۰ درصد)،و پی سیمن (۱۸/۶۸ درصد) بود در حالی که افزایش معنی‌دار ۱۱/۴۷ و ۳۰/۶۵ درصدی در محتوای تیمول به‌ترتیب در شرایط تنش کم‌آبی با ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی در مرزه سهندی مشاهده شد (جدول ۳). به عبارتی در شرایط تنش کم‌آبی با ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی، محتوای پی سیمن (۱۷/۶۴ درصد)، گاما-ترپینن (۱۹/۶۹ درصد) و تیمول (۳۸/۶۹) بود و در شرایط تنش کم‌آبی با ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی، محتوای پی سیمن (۱۹/۹۶ درصد)، گاما-ترپینن (۱۴/۲۳ درصد) و تیمول (۴۵/۳۵) بود (جدول ۳).



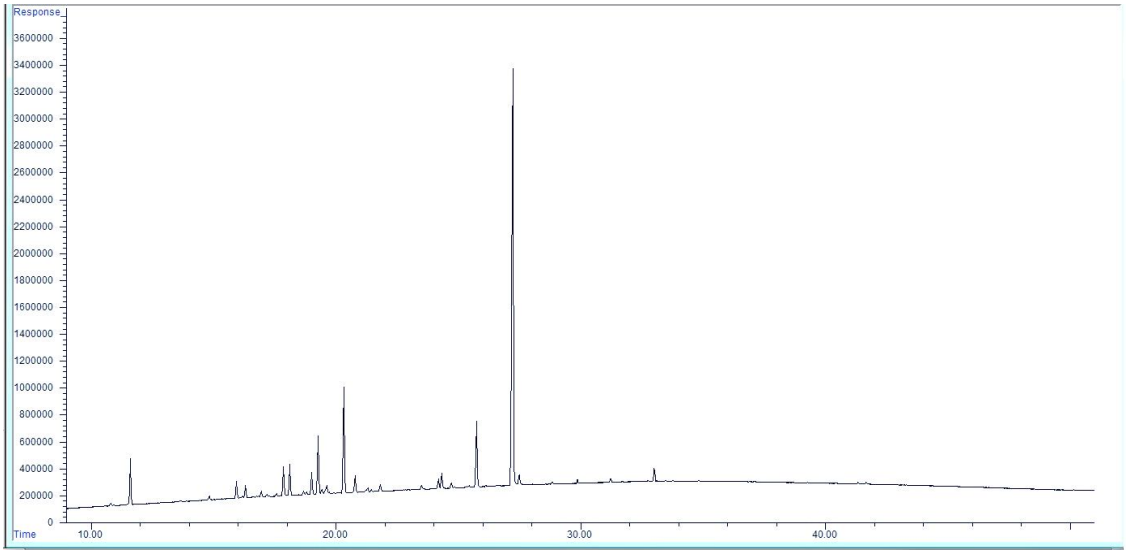
شکل ۹: کروماتوگرام آنالیز اسانس مرزه سهندی عدم تنش کم‌آبی (شاهد)



شکل ۱۰: کروماتوگرام آنالیز اسانس مرزه سهندی پس از تخلیه ۴۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (تنش متوسط)

جدول ۳: درصد ترکیب‌های شناسایی شده در مرزه سهندی تحت تاثیر تنش کم‌آبی (برحسب وزنی-وزنی)

ردیف	ترکیبات	شاخص بازداری (RI)	آبیاری نرمال (شاهد)	۴۰ درصد تخلیه رطوبتی	۷۰ درصد تخلیه رطوبتی
۱	α-Thujene	۹۲۶	۱/۶۲۲	۱/۴۰۶	۱/۷۰۲
۲	α-Pinene	۹۳۴	۱/۰۲۴	۱/۶۴۷	۱/۰۵۰
۳	camphene	۹۵۰	۰/۵۳۶	۰/۳۵۵	۰/۶۰۲
۴	Sabinene	۹۷۳	۰/۲۶۲	۰/۳۶۵	۰/۱۳۲
۵	β-Pinene	۹۷۸	۱/۸۳۳	۳/۱۵۷	۰/۳۳۷
۶	β-Myrcene	۹۸۹	۲/۳۷۲	۱/۶۳۳	۲/۶۲۸
۷	α-Phellandrene	۱۰۰۶	۰/۸۶۸	۰/۱۸۵	۰/۳۸۲
۸	α-Terpinene	۱۰۱۷	۱/۶۱۳	۴/۹۹۸	۱/۹۱۲
۹	p-Cymene	۱۰۲۶	۱۸/۶۸۶	۱۷/۶۴۴	۱۹/۹۶۳
۱۰	Limonene	۱۰۲۹	۰/۶۱۸	۰/۷۱۶	۰/۸۴۲
۱۱	1,8-Cineol	۱۰۳۱	۰/۴۲۵	۱/۰۶۳	۰/۷۴۸
۱۲	γ-Terpinene	۱۰۶۰	۲۵/۵۰۱	۱۹/۶۹۷	۱۴/۲۳۲
۱۳	cis-Sabinene hydrate	۱۰۶۷	۰/۵۱۴	۰/۹۰۹	۱/۸۷۸
۱۴	trans-Sabinene hydrate	۱۱۰۲	۱/۰۹۴	۰/۸۶۷	۰/۵۲۶
۱۵	Borneol	۱۱۷۰	۰/۳۳۴	۰/۵۶۱	۱/۶۹۷
۱۶	4-Terpineol	۱۱۸۱	۱/۶۴۵	۱/۰۲۳	۰/۷۶۰
۱۷	cis-carveol	۱۲۲۶	۰/۵۹۱	۱/۰۱۴	۰/۴۶۵
۱۸	Thymol	۱۲۸۶	۳۴/۷۱۴	۳۸/۶۹۹	۴۵/۳۵۶
۱۹	Carvacrol	۱۳۱۳	۱/۶۷۵	۰/۲۷۱	۰/۶۳۴
۲۰	thymyl acetate	۱۳۵۵	۰/۵۷۷	۰/۴۳۷	۰/۳۲۷
۲۱	trans-Caryophyllene	۱۴۲۰	۰/۴۵۵	۰/۷۹۷	۰/۳۵۷
۲۲	β-Bisabolene	۱۵۰۸	۱/۰۳۹	۰/۵۵۸	۱/۲۵۸
۲۳	Spathulenol	۱۵۷۹	۰/۴۱۳	۰/۲۴۰	۰/۴۰۱
۲۴	Caryophyllene oxide	۱۵۸۵	۱/۳۰۳	۱/۵۹۰	۱/۳۳۹
	کل		۹۹/۷۱۴	۹۹/۸۱۳	۹۹/۵۲۸



شکل ۱۱: کروماتوگرام آنالیز اسانس مرزه سهندی پس از تخلیه ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (تنش شدید)

بحث

باتوجه به نتایج حاصل از آزمایش حاضر، ماده خشک گیاه مرزه سهندی تحت تاثیر تنش خشکی کاهش شدیدی یافت، به‌طوری که در تنش متوسط این کاهش در مقایسه با تنش شدید تفاوت معنی‌داری نداشت که می‌تواند به دلیل حساسیت زیاد گیاه دارویی مرزه سهندی به کم‌آبی باشد. در شرایط تنش کم آبی، کاهش ماده خشک می‌تواند به دلیل فشار آماس سلول ناشی از کاهش رشد و نمو گیاه رخ دهد، اولین اثرمحسوس کم‌آبی را می‌توان اندازه کوچکتر برگ‌ها یا ارتفاع گیاهان ارتباط داد. به دنبال کاهش سطح برگ، جذب نور نیز کاهش یافته و ظرفیت کل فتوسنتزی گیاه کاهش می‌یابد و با محدود شدن فرآورده‌های فتوسنتزی در این شرایط، رشد گیاه و در نهایت میزان عملکرد کاهش می‌یابد (Hussain et al., 2018). باهرنیک و همکاران (BaherNik et al., 2004) با بررسی اثر تنش کم‌آبی بر عملکرد بوته و اسانس گیاه مرزه به این نتیجه رسیدند که وزن خشک کل تحت تنش کاهش یافته است. در مطالعه دیگری روی مرزه بختیاری تنش خشکی باعث کاهش قابل توجهی در عملکرد ماده خشک شد (Eskandari, 2013). از مهمترین دلایل کاهش در وزن خشک گیاه درطول دوره تنش کم‌آبی را می‌توان به اثر سوء تنش بر رشد و فیزیولوژی گیاه شامل رشد رویشی، سیستم فتوسنتزی، جذب عناصرغذایی و متابولیسم نیتروژن مرتبط دانست (Osakabe et al., 2014).

میزان کلروفیل در گیاهان یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است، در آزمایش حاضر تحت تنش کم‌آبی منجر به کاهش قابل توجهی در میزان کلروفیل گیاه مرزه سهندی شد. به‌نظر می‌رسد کاهش میزان کلروفیل تحت تنش کم‌آبی به علت افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد که این رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز تحت تنش باشد که منجر به تجزیه کلروفیل می‌گردد (Hazrati et al., 2016). همچنین ممکن است گیاهان تحت تنش شدید کم‌آبی به‌منظور تاثیر بر تنش اکسیداتیو نوری که در این زمان توقف فتوسنتز به دلیل وجود انرژی بیش از حد نوری اتفاق می‌افتد، میزان کلروفیل را در شرایط تنش شدید کاهش دهند (Aranjuelo et al., 2011). تحت تنش کم آبی میزان خسارت به کلروفیل a نسبت به کلرفیل b بیشتر بود. سایر محققان نیز تاثیر

پذیری کلرفیل a نسبت به کلرفیل b را تحت تنش کم‌آبی گزارش نمودند (Fang, 1998). نتایج تحقیق حاضر با پژوهش صورت گرفته توسط اسماعیل‌پور و همکاران (Esmaielpour et al., 2013) روی گیاه دارویی مرزه و مینایی و همکاران (Minaei et al., 2019) روی گیاه دارویی مرزنجوش که گزارش کردند تحت شرایط تنش خشکی شدید محتوی کلروفیل به طور قابل توجهی کاهش پیدا کرد مطابقت دارد.

نتایج تحقیق حاضر با نتایج اسماعیل‌پور و همکاران (Esmaielpour et al., 2013) مبنی بر کاهش قابل توجه محتوی نسبی آب برگ در گیاه دارویی مرزه تابستانه تحت شرایط تنش خشکی، مطابقت دارد. محتوای نسبی آب برگ منعکس کننده ظرفیت نگهداری آب در گیاهان است و نشان‌دهنده ارتباط بین صفات فیزیولوژیک و سطوح تحمل به تنش خشکی است (Farooq et al., 2009). حفظ وضعیت آبی مناسب در بافت‌های گیاهی می‌تواند به جلوگیری از دهیدراسیون کمک کند و از این طریق از غیر فعال شدن و تغییر ماهیت آنزیم‌های کربوکسیلاز و دیگر آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند (Sanchez-Rodriguez et al., 2010). محتوای نسبی آب برگ، اغلب به‌عنوان شاخص فیزیولوژیکی مناسبی برای ارزیابی میزان تحمل به کم‌آبی در گیاهان مدنظر می‌باشد. در آزمایش حاضر محتوی نسبی آب برگ تحت تنش کاهش قابل توجهی نمود که نشان دهنده از بین رفتن تورژسانس سلول است که منجر به محدود شدن آب قابل دسترس برای فرایند رشد سلولی که در نتیجه منجر به کاهش رشد و نمو و عملکرد گیاه مرزه سهندی شد (Tátrai et al., 2016).

یکی از مهمترین تغییرات ایجاد شده در گیاهان در معرض تنش‌های زیستی و غیر زیستی، میزان H_2O_2 در گیاهان افزایش می‌یابد تجمع H_2O_2 سبب تولید بیش از اندازه گونه‌های اکسیژن فعال دیگری می‌شود که تغییر در ساختار پروتیئن‌ها، لیپیدها و DNA را تحریک می‌کند مکانیزم‌های خنثی‌کننده‌ی گونه‌های اکسیژن فعال در همه گیاهان وجوددارد و یکی از این مکانیزم‌ها فعالیت سسیستم دفاع آنزیمی می‌باشد (Huang et al., 2019). بنابراین در این بررسی می‌توان نتیجه گرفت در شرایط تنش غلظت پراکسید هیدروژن افزایش پیدا می‌کند و در نتیجه اثر زیانبار رادیکال‌های آزاد زیاد شده و گیاه نیاز به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی برای مقابله با اثرات مخرب تنش را دارد (Khaleghi et al., 2019). در تحقیق حاضر اثرتنش کم‌آبی بر محتوی مالون‌دی‌آلدئید معنی‌دار بود و موجب افزایش محتوی آن شد. به نظر می‌رسد در شرایط تنش، رادیکال‌های آزاد باعث افزایش اکسیداسیون چربی‌ها شده و در نتیجه باعث افزایش مالون دی‌آلدئید گردد. اسیدهای چرب غیراشباع حساس‌ترین بخش غشاء به اکسیداسیون و تخریب توسط تنش اکسیداتیو هستند. در اثر تجزیهٔ این اسیدها به‌وسیله اکسیژن واکنشگر، ترکیباتی نظیر مالون‌دی‌آلدئید تولید می‌شود که برای سلول، مسمومیت ایجاد می‌کند. مالون‌دی‌آلدئید یک آلدئیدی فعال و الکترون دوست است، که به طور معمول به شکل خالص دیده نمی‌شود و اغلب یک نشانگر زیستی برای پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء که در اثر تنش اکسیداتیو ایجاد می‌شود، محسوب می‌گردد. تجمع آن در شرایط تنش موجب افزایش نفوذپذیری غشاء پلاسمایی می‌شود و نشت یونی افزایش می‌یابد (Ayala et al., 2014).

تنش‌کم‌آبی موجب تغییر در مسیر برخی فرایندهای بیوشیمیایی نیز می‌گردد. در بین واکنش‌های بیوشیمیایی مختلف به تنش خشکی در گیاهان تجمع پرولین عموماً مشاهده شده است (Pedrol et al., 2000)، همچنین پرولین به‌عنوان یک املاح سازگار نسبت به شرایط تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش کم‌آبی

در نظر گرفته شده است و مقاومت گیاهان را نسبت به شرایط نامطلوب محیطی افزایش می‌دهد، از تغییر ماهیت پروتیئن‌ها جلوگیری و موجبات، حفاظت و پایداری غشاء سلولی می‌گردد (Claussen, 2005). پژوهشگران گزارش کردند که پرولین یکی از مهم‌ترین اسیدآمینه پایدار در شرایط تنش‌های غیر زیستی می‌باشد. از آزمایش ما چنین می‌شود استنباط کرد که تحت شرایط تنش کم‌آبی میزان آب موجود در بافت‌ها کاهش می‌یابد و باعث ایجاد تنش در گیاه شده و گیاه مرزه سهندی به‌منظور افزایش مقاومت به تنش میزان تجمع پرولین را در بافت‌های خود افزایش می‌دهد.

به نظر می‌رسد ترکیب‌های فنولیک موجود در برگ به‌عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد در پاسخ به تنش‌های محیطی عمل می‌کنند و گیاهان را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌نمایند. با توجه به اینکه ترکیب‌های فنولیک جزو فعالی از گیاهان دارویی می‌باشد و خواص دارویی دارند به‌عنوان یک ترکیب مهم نقش فعالی در مقاومت به تنش‌ها دارد (Tattini et al., 2004). اعمال تنش کم‌آبی باعث افزایش فنل کل در گیاه مرزه سهندی شد که در همین راستا محققین دیگر به این امر که تنش خشکی باعث افزایش سنتز فنل و فلاونوئید کل در گیاهان دارویی می‌شود، اشاره نموده‌اند (Ramakrishna and Ravishankar, 2011; Yuan et al., 2012). به دلیل وجود همبستگی بین افزایش میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و افزایش غلظت فنل‌ها، گزارش شده که میزان بیوسنتز ترکیب‌های یاد شده درگیاهان تحت تنش خشکی در مقایسه با گیاهان آبیاری نرمال به‌شدت افزایش می‌یابد افزایش فعالیت آنزیم PAL درشرایط تنش ممکن است به عنوان شروع فرایندهای سازشی سلول‌ها در برابر تنش کم‌آبی می‌باشد (Jaafar et al., 2012)

بر اساس تحقیقات صورت گرفته معمولاً تحت تنش کم آبی درصد اسانس در بیشتر گیاهان دارویی افزایش می‌یابد، چون در موارد تنش متابولیت‌های ثانویه بیشتری تولید شده و در بیشتر موارد باعث جلوگیری از عمل اکسیداسیون درون سلولی می‌شوند (Selmar and Kleinwächter, 2013). همچنین گزارش شده با وقوع تنش کم‌آبی رشد گیاه متوقف شده و گیاه کربن را در مسیر سنتز و تشکیل مخازن متابولیت‌های ثانویه صرف می‌کند. بر این اساس در پی تنش کم‌آبی رشد گیاه کاهش می‌یابد و کربن تثبیت شده در فتوسنتز می‌تواند برای سنتز متابولیت‌های ثانویه به ویژه اسانس استفاده شود (Chen et al., 2011). افزایش سنتز اسانس که یکی از جنبه‌های مثبت تنش کم آبی در گیاهان دارویی می باشد که در آزمایش حاضر این نتیجه حاصل شد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق در مطالعه‌ای توسط شریعت و همکاران (Shariat et al., 2018) روی مرزه سهندی مطابقت دارد.

تغییرات در ترکیب‌های اسانس تحت شرایط تنش‌های غیرزیستی می‌تواند به خاطر تغییر در فعالیت آنزیم‌ها و متابولیسم گیاه باشد (Hosseini et al., 2018)، در مطالعه‌ای بررسی تغییرات کمیت و کیفیت اسانس در برخی گیاهان دارویی و معطر مشخص شد که میزان رطوبت بیش از سایر فاکتورهای محیطی بر کمیت و کیفیت اجزای تشکیل دهنده اسانس تأثیر می‌گذارد (Szabó et al., 2020). که در آزمایش حاضر مشاهده شد ترکیب‌های غالب تحت شرایط کم‌آبی تفاوت معنی‌داری نشان دادند. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که میزان تیمول افزایش قابل توجهی پیدا کرد اما گاما-ترپینین کاهش معنی‌داری داشت. در مطالعه‌ای روی گیاه مرزه تابستانه کارواکرول و گاما ترپینن را ترکیب‌های عمده اسانس معرفی کردند و همچنین کاهش گاما ترپینن و افزایش کارواکرول

تحت تنش خشکی در نتایج آن‌ها به اثبات رسید که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Baher et al., 2000). در تحقیقی توسط شریعت و همکاران (Shariat et al., 2018) تنش خشکی باعث تاثیر قابل توجهی بر ترکیب‌های اسانس شامل کارواکرول، تیمول، گاما-ترپینن و پاراسیمن داشت به‌طوری‌که میزان تیمول افزایش اما سه ترکیب دیگر کاهش نشان داد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. تنش کم‌آبی باعث افزایش سنتز ترکیباتی مانند تیمول از طریق تاثیر روی سنتز پیش ماده سازنده این ترکیب می‌شود (Hussein et al., 2019) با توجه به اینکه بخش اعظم ترکیب‌های اسانس ترکیب فنلی تیمول است از سویی این ترکیب دارای خواص دارویی بالایی است می‌توان نتیجه گرفت تنش کم آبی باعث افزایش کیفت اسانس شده است.

نتیجه‌گیری نهایی

بر اساس نتایج بدست آمده تنش کم‌آبی منجر به تجمع ترکیب‌های اسمزی یا مولکول‌های آلی توسط گیاه افزایش قابل توجهی یافت که منجر به کاهش پتانسیل اسمزی و افزایش مقاومت به تنش کم آبی شد؛ به طوری که بیشترین محتوی پرولین، فنل کل و درصد اسانس در تیمار ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی حاصل شد اما منجر به کاهش وزن خشک گیاه، رنگدانه‌های فتوسنتری و محتوی رطوبت نسبی برگ گردید. بنابراین، در پرورش گیاهان دارویی همان قدر که وجود آب یکی از مهمترین نهاده محیطی در تولید است، کمبود آب نیز می‌تواند باعث افزایش توان تولید مواد مؤثره شود. در نتیجه، محدودیت آب نه تنها یک عامل نامساعد، بلکه راهکاری بدون هزینه برای افزایش تولید ترکیب‌های موثره مورد نظر است.

References

1. Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant, Cell & Environment, 24(12): 1337-1344.
2. Aranjuelo, I., Molero, G., Erice, G., Avice, J.C. and Nogués, S. 2011. Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Journal of Experimental Botany, 62: 111–123.
3. Ayala, A., Muñoz, M.F. and Argüelles, S. 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2014: 360438.
4. Babajafari, S., Nikaein, F., Mazloomi, S.M., Zibaeenejad, M.J. and Zargaran, A. 2015. A review of the benefits of *Satureja* species on metabolic syndrome and their possible mechanisms of action. Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine, 20(3): 212-223.
5. Baher, Z., Mirza, M., Ghorbanli, M. and Bagher Rezaii, M. 2000. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. Flavour and Fragrance Journal, 17: 275-277.
6. BaherNik, Z., Rezaei, M.B, Asgari, F., Araghi, M.K. and Ghorbanli, M.L. 2004. Research on the changes of metabolism in response to water stress in *Satureja hortensis* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 20 (3): 263-275.
7. Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39(1): 205-207.
8. British Pharmacopoeia. 1988. HMSO, London. 2: A137-A138.
9. Capone, W., Mscia, C., Spanedda, L. and Chiappin, M. 1989. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of Sardinian *Satureja thymbra*. Planta Medical, 60: 90-92.
10. Chen, Y., Guo, Q., Liu, L., Liao, L. and Zhu, Z. 2011. Influence of fertilization and drought stress on the growth and

production of secondary metabolites in *Prunella vulgaris* L. Journal of Medicinal Plants Research, 5(9): 1749.
11. Claussen, W. 2005. Proline as a measure of stress in tomato plants. Plant Science, 168: 241–248.
12. Eskandari, M. 2013. Changes in growth parameters and essential oil content of *Satureja bachtiarica* Bunge. under the effects of 28-Homobrassinolid and drought stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29(1): 176-186.
13. Esmaielpour, B., Jalilvand, P. and Hadian, J. 2013. Effects of drought stress and arbuscular mycorrhizal fungi on some morphophysiological traits and yield of savory (*Satureja hortensis* L.). Agroecology, 5 (2): 169-177.
14. Fang, Z., Bouwkamp, J.C. and Solomos, T. 1998. Chlorophyllase activies and chlorophyll degradation during leaf senescence in non-yellowing mutant and wild type of *Phaseolus vulgaris* L. Journal of Experimental Botany, 49: 503-510.
15. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development, 29: 185–212.
16. García-Caparrós, P., Romero, M.J., Llanderal, A., Cermeño, P., Lao, M.T. and Segura, M.L. 2019. Effects of drought stress on biomass, essential oil content, nutritional parameters, and costs of production in six Lamiaceae species. Water, 11 (3): 73.
17. Hasani, A. 2006. Effect of water deficit stress on growth, yield and essential oil content of *Dracocephalum moldavica*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant, 23(3): 256-261.
18. Hadian, J. 2008. Evaluation of genetic diversity of different *Satureja* species from Iran. PhD Thesis in Horticulture, University of Tehran.
19. Huang, H., Ullah, F., Zhou, D.X., Yi, M. and Zhao, Y. 2019. Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. Frontiers in Plant Science, 10:800.
20. Hazrati, S., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Modarres-Sanavy, S.A.M., Mokhtassi-Bidgoli, A. and Nicola, S. 2016. Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of *Aloe vera* L. Plant Physiology and Biochemistry, 106: 141-148.
21. Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts, I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125: 189-198.
22. Hosseini, H., Fatehi, F., Mousavi, Fard, S. and Qaderi, A. 2018. Gene expression analysis of thymol and carvacrol biosynthesis pathway in *Thymus vulgaris* under salinity stress. Iranian Genetics Society, 13 (3): 409-418.
23. Hussain, H.A., Hussain, S., Khaliq, A., Ashraf, U., Anjum, S.A., Men, S. and Wang, L. 2018. Chilling and drought stresses in crop plants: implications, cross talk, and potential management opportunities. Frontiers in Plant Science, 9: 393.
24. Hussein, A.H., Said-Al, A., Sabra, A.S., Alataway, A., Astatkie, T., Mahmoud, A.A. and Bloem, E. 2019. Biomass production and essential oil composition of *Thymus vulgaris* in response to water stress and harvest time. Journal of Essential Oil Research, 31(1): 63–68.
25. Khaleghi, A., Naderi, R., Brunetti, C., Maserti, B.E., Salami, S.A. and Babalar, M. 2019. Morphological, physiochemical and antioxidant responses of *Maclurapomifera* to drought stress. Scientific Reports, 9(1): 1-12.
26. Jaafar, H.Z.E., Ibrahim, M.H. and MohamadFakri, N.F. 2012. Impact of soil field water capacity on secondary metabolites, phenylalanineammonia-lyase (PAL), malondialdehyde (MDA) and photosynthetic responses of Malaysian Kacip Fatimah(Labisiapumila Benth). Molecules, 17(6):7305-7322.
27. Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents.

Biochemical Society Transactions, 11: 591-602.

28. Minaei, A., Hassani, A., Nazemiyeh, H. and Besharat, S. 2019. Effect of drought stress on some morphophysiological and phytochemical characteristics of oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. gracile). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 35(2):252-265.
29. Mundim, F.M. and Pringle, E.G. 2018. Whole-plant metabolic allocation under water stress. Frontiers in Plant Science, 9: 852.
30. Momtaz, S. and Abdollahi, M. 2010. An update on pharmacology of *Satureja* Species: From antioxidant, antimicrobial, antidiabetes and anti-hyperlipidemic to reproductive stimulation. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 6: 454–61.
31. McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. and Robard, S. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food and Chemical Toxicology, 73: 73-84.
32. Namayandeh, A., Mokhtari, N., Kamelmanesh, M.M. and Bedaf, M.T. 2017. Genetic diversity in *Satureja* species determined by sequence-related amplified polymorphism markers. Journal of Genetics, 96(1): 5-11.
33. Nooshkam, A., Majnoun Hoseini, N., Hadian, J. Jahansooz, M.R. and Khavaz K. 2014. The effects of irrigated and rainfed conditions on vegetative yield and essential oil yield of two medicinal species, *Satureja khuzistanica* Jamzad and *S. rechingeri* Jamzad in North of Khuzestan. Journal of Crop Production, 7(2): 61-75.
34. Omidbaigi, R., Hassani, A. and Sefidkon, F. 2003. Essential oil content and composition of sweet basil (*Ocimum basilicum*) at different irrigation regimes. Journal of Essential oil Bearing Plants, 6(2): 104-108.
35. Omidbaigi, R. 2007. Production and processing of medicinal plants*, 4th ed.* Astan Quds Razavi Publishing, 376 P.
36. Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K. and Tran, L.S.P. 2014. Response of plants to water stress. Frontiers in Plant Science, 5: 86.36.
37. Pedrol, N., Ramos, P. and Riegosa, M.J. 2000. Phenotypic plasticity and acclimation to water deficits in velvet-grass: a long-term greenhouse experiment. Changes in leaf morphology, photosynthesis and stress-induced metabolites. Plant Physiology, 157: 383-393.
38. Ramakrishna, A. and Ravishankar, G.A. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signaling &Behavior, 6: 1720–1731.
39. Sanchez-Rodriguez, E., Rubio-Wilhelmi, M., Cervilla, L.M., Blasco, B., Rios, J.J., Rosales, M.A., Romero, L. and Ruiz, J.M. 2010. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. Plant Science, 178: 30–40.
40. Sefidkon, F., Jamzad, Z. and Mirza, M. 2004. Chemical variation in the essential oil of *Satureja sahandica* from Iran. Food Chemistry, 88: 325–328.
41. Selmar, D. and Kleinwächter, M. 2013. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. Industrial Crops and Products, 42: 558-566.
42. Sodaii zadeh, H., Shamsaie, M., Tajamoliyan, M., Mirmohammady maibody, A.M. and Hakim zadeh, M.A. 2016. The effects of water stress on some morphological and physiological characteristics of *Satureja hortensis*. Journal of Plant Process and Function, 5(15): 1-12.33.
43. Shariat, A., Karimzadeh, G., Assareh, M.H. and Hadian, J. 2018. A promising application of drought stress for increasing product quality of Iranian endemic *Satureja sahendica* Bornm. Journal of Field Crop Sciences, 49(1): 167-177.
44. Sharifi-Rad M., Varoni, E.M., Iriti, M., Martorell, M., Setzer, W.N., Del Mar Contreras, M., Salehi, B., Soltani-Nejad, A., Rajabi, S., Tajbakhsh, M. and Sharifi-Rad, J. 2018. Carvacrol and human health: a comprehensive review. Phytotherapy Research, 32(9):1675-1687.

45.Sharma, A., Shahzad, B., Kumar, V., Kohli, S.K., Sidhu, G., Bali, A.S., Handa, N., Kapoor, D., Bhardwaj, R. and Zheng, B. 2019. Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress. Biomolecules, 9(7): 285. 45.

46.Szabó, K., Zubay, P. and Németh-Zámboriné, É. 2020. What shapes our knowledge of the relationship between water deficiency stress and plant volatiles?. Acta Physiology Plantrum, 42**:** 130.

47.Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D. and Agati, G. 2004. Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. New Phytologist, 163: 547–561.

48.Tajali, A., Mehrabi, H. and Larijani, K. 2013. Comparison of chemical composition of essential oil of *Satureja hortensis* L. in field and natural habitat in Nahavand area. Journal of Plant Environmental Physiology, 8: 57-65.

49.Tepe, B. and Cilkiz M. 2016. A pharmacological and phytochemical overview on *Satureja*. Pharmaceutical Biology, 54(3): 375-412.

50.Tátrai, Z.A., Sanoubar,R., Pluhár, Z., Mancarella, S., Orsini, F. and Gianquinto, G. 2016. Morphological and physiological plant responses to drought stress in *Thymus citriodorus*. International Journal of Agronomy, 20(16):1-8.

51.Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F. and Wang, Q. 2018. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. Molecules, 23(4): 762.

52.Yuan, Y., Liu, Y., Wu, C., Chen, S., Wang, Z., Yang, Z., Qin, S. and Huang, L. 2012. Water deficit affected flavonoid accumulation by regulating hormone metabolism in *Scutellaria baicalensis* Georgi roots. PLoSONE, 7: 1–10.

Phytochemical and Physiological Study of *Satureja sahendica* Bornm. Essential Oil and Extract to Water-deficit Stress

Mohammadi, H.[1*], Pourmohammad, P.[2], Hazrati, S.[3]

[1] Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

[2] M.Sc student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

[3] Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

Received: 2020-8-25; Accepted: 2020-10-16

Abstract

To investigate the effect of water-deficit stress on physiological characteristics, content and composition of *Satureja sahendica* Bornm. essential oil, an experiment was conducted in greenhouse conditions in a randomized complete block with three replications in 2019. Different levels of water-deficit stress included: control at 100% field capacity, 40% and 70% field capacity depletion. Essential oils were extracted by water distillation and then were analyzed using GC-MS. After preparing methanolic extract, total phenol content was measured by Folin-Ciocalteu method. The results showed that water-deficit stress in both levels (40 and 70% moisture depletion) caused a significant reduction of 74.73 and 78.83% of dry weight compared to the control, respectively, but no significant difference was observed between the two stress levels. Water-deficit stress with 40 % and 70% moisture depletion led to a reduction of 18.49% and 30.87% of total chlorophyll content, 13.84% and 25.35% of relative leaf water content (RWC) content, respectively. The content of hydrogen peroxide, malondialdehyde and proline increased significantly under water-deficit stress conditions. The total phenol content increased by 25.78% and 48.44% in 40% and 70% moisture depletion, respectively. The most important composition of *S.sahendica* essential oil in all treatments included p-cymene, γ-terpinene and thymol; water stress affected the amount of these compounds and a significant increase of 11.47% and 30.65% in thymol content was observed in 40 and 70% moisture depletion, respectively. Based on the results, it was found that water-deficit stress can increase the physiological properties, quantity and quality of *S. Sahandi* essential oils.

Keywords: Abiotic stresses, Essential oil, *S. sahendica,* Thymol.

*Corresponding author: hmohammadi@azaruniv.ac.ir