

اثر شوری آب بر کمیّت و کیفیت ترکیبات بیوشیمیایی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinallis L.*)

زینب خادم‌الحسینی^۱، زینب جعفریان^{۲*}، وحید روشن^۳ و غلامحسین رنجبر^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۳۰ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۰۵/۲۶

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثرات سطوح مختلف شوری آب آبیاری بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinallis L.*) انجام شد. برای این منظور یک آزمایش مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک تصادفی در سه تکرار در ارسنجان اجرا شد. تیمارهای شوری در این تحقیق در سه سطح ۱، ۴ و ۷ دسی‌زیمنس بر متر بودند که با استفاده از آب چاه‌های کشاورزی با شوری طبیعی اعمال شدند. وزن خشک اندام‌های هوایی، مقادیر سدیم، پتاسیم و پرولین در اوایل گلدهی گیاه اندازه‌گیری و سنجش مواد موثره انجام گردید. تمامی نشاءها در شوری ۷ دسی‌زیمنس بر متر خشک شدند لذا داده‌ای در این سطح شوری حاصل نشد. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد که در تیمار شوری ۱ دسی‌زیمنس بر متر میزان وزن خشک و پرولین بالاتر بود ولی با رسیدن شوری به ۴ دسی‌زیمنس بر متر از مقدار این دو شاخص کاسته شد. همچنین با افزایش شوری میزان سدیم افزایش ولی مقدار پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم کاهش پیدا کرد. در خصوص ترکیبات موجود در اسانس گیاه نیز با افزایش تنش شوری برخی از این ترکیبات افزایش و برخی کاهش پیدا کردند. برخی در تیمار شاهد وجود نداشتند ولی با افزایش تنش شوری در تیمار ۴ دسی‌زیمنس بر متر تولید شدند. برخی دیگر از ترکیبات در تیمار شاهد تولید شدند ولی با افزایش تنش شوری در تیمار ۴ دسی‌زیمنس بر متر تولید آنها قطع شد. از آنجایی که گیاه در شوری ۷ دسی‌زیمنس بر متر کاملاً خشک شد و در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر نیز شاخص‌هایی که نقش مکانیسم دفاعی را به هنگام بروز تنش شوری در گیاه برعهده دارند کاهش یافتند، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که این گیاه حساس به شوری است و کشت آن در مناطق شور یا آبیاری آن با آب شور بیش از ۱ دسی‌زیمنس بر متر توصیه نمی‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، پرولین، تنش شوری، نسبت پتاسیم به سدیم، GC/MS.

۱- مربی گروه منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه پیام نور، ایران

۲- دانشیار گروه علوم مرتع، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ساری

* نویسنده مسئول: Z.jafarian@sanru.ac.ir

۳- استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، شیراز

۴- استادیار مرکز ملی تحقیقات شوری، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، یزد

مقدمه

گیاه بادرنجبویه با نام علمی (*Melissa officinalis*) در رده دولپه‌ای‌ها، پایا و علفی، راسته لب‌گلی‌ها، از خانواده نعناعیان (*Lamiaceae*) قرار دارد. این گیاه، بومی مناطق مدیترانه‌ای، غرب آسیا و جنوب غرب صربستان می‌باشد. از خواص این گیاه می‌توان به خاصیت مسکن، تب‌بر، ضدنفخ، ضدویروسی و قارچی آن اشاره نمود (۱۴). اسانس بادرنجبویه از گل و شاخه‌های تازه یا خشک و برگ‌های آن، با تقطیر بخار آب یا استخراج شیمیایی تهیه می‌شود که از ویژگی‌های آن بوی تازه لیمو و رنگ زرد کم‌رنگ می‌باشد. اسانس این گیاه از نظر عطر و طعم‌دهی، کاربردهای متنوع و زیادی در بسیاری صنایع مانند آرایشی و عطرها، آشامیدنی، بستنی‌سازی، شیرینی‌سازی و محصولات غذایی و غیره دارد (۱۳). همچنین از این گیاه در درمان بی‌خوابی و اختلالات خواب، اضطراب، افسردگی، بیماری‌های عصبی، میگرن، حالت تهوع، ناراحتی عصبی معده، کم‌اشتهایی، کولیک (قولنج)، سرفه، دندان درد و لرزش‌های عصبی استفاده می‌شود (۴).

بنابراین با توجه به اهمیت و پتانسیل فوق‌العاده بالای درمانی این گونه بومی و حفظ پایداری تولید هرچند با عملکرد کم و نقش مهم آن در درآمدزایی و از طرفی کاهش فشار بر منابع طبیعی و حفظ این گونه در رویشگاه‌هایی که در معرض خطر انقراض هستند، این گونه در ایران بیشتر تحت کشت قرار می‌گیرد (۳۵).

یکی از موانع مهم توسعه و کشت گیاهان دارویی در کشور، استقرار ضعیف و غیریکنواخت آن در خاک‌های مناطق خشک خصوصاً در شرایط تحت تنش‌های محیطی غیرزنده از جمله تنش شوری است (۱۸ و ۲۳) تنش شوری از مهمترین تنش‌های محیطی تولید محصولات زراعی و دارویی است (۳۳). تنش شوری بعد از تنش خشکی از موانع اصلی در تولید گیاهان دارویی در بسیاری از مناطق به‌ویژه مناطق خشک می‌باشد. امروزه شوری خاک و آب یکی از موانع و محدودیت‌های استفاده از این منابع در تولید بهینه محصولات کشاورزی است. بیشترین حد حساسیت به شوری در چرخه زندگی گیاهان به هنگام جوانه‌زنی و در ابتدای رشد بذر مشاهده می‌گردد (۱۸). تنش شوری با کاهش پتانسیل آب، کاهش یون‌های غذایی مورد نیاز گیاه

مانند کلسیم و پتاسیم، همچنین افزایش سمیت یون‌های خاص از قبیل سدیم و کلر بر جوانه‌زنی و رشد بذرها تأثیر می‌گذارد (۲۶). شوری علاوه بر اختلال و کاهش قابلیت جذب آب توسط ریشه‌ها، گیاهان را نیز از نظر تغذیه‌ای و فرآیندهای متابولیکی دچار مشکل می‌نماید (۱۵). تنش اسمزی و سمیت یون به عنوان علل احتمالی مسمومیت شوری شناخته شده است. تنش اسمزی با عدم الحاق دیواره سلولی و گسترش سلول همراه است که منجر به توقف رشد می‌گردد. همچنین با ایجاد اختلال در تعادل مواد مغذی، حمل و نقل یون‌های ضروری داخل گیاه، باعث کاهش نرخ فتوسنتز خالص و تأثیر سمیت تنش شوری، تأثیر ترکیبات اسمزی قوی در گیاهان آسیب دیده می‌شود (۲۵). تنش شوری علاوه بر کاهش شاخص‌های رشد، تولید متابولیت‌های ثانویه و اسانس‌ها را هم در گیاهان دارویی تحت تأثیر قرار می‌دهد. تولید ترکیبات ثانویه در گیاهان همیشه به یک میزان صورت نمی‌گیرد و عوامل متعددی وجود دارند که می‌توانند تولید این ترکیبات را تحت تأثیر قرار دهند (۳۶).

نتایج آزمایش‌های مختلف بر میزان و درصد ترکیبات ویژه اسانس‌ها نشان می‌دهد تحریک تولید روغن‌های ضروری تحت درجات ملایم شوری به دلیل تراکم زیاد غده‌های روغنی و افزایش تعداد مطلق غده‌ها می‌باشد. تنش شوری ممکن است بر تجمع اسانس‌ها، به‌طور غیرمستقیم از طریق تأثیر بر اسیمپلاسیون خالص و یا تسهیم اسمولیت‌ها نقش داشته باشد (۳۱). بنابراین افزایش در محتوای اسانس‌ها در گیاهان تحت تنش شوری می‌تواند به دلیل کاهش متابولیت‌های اولیه در نتیجه اثر شوری باشد که موجب می‌شود ترکیبات حدواسط به مصرف سنتز متابولیت‌های ثانویه برسند. کاهش در محتوای روغن‌های ضروری نیز می‌تواند به دلیل کاهش آنابولیسیم گیاه باشد (۲۸).

همچنین تنش شوری می‌تواند تأثیر منفی بر قندهای محلول، اسیدهای چرب و محتوای پروتئین داشته باشد. پرولین نقش کلیدی در ثبات پروتئین‌ها و غشاء سلولی در زمان وقوع تنش‌های اسمزی دارد (۳۸). همچنین پرولین تجمع‌یافته نقش‌هایی از قبیل ایجاد ترکیبات اسمزی، ترکیب ذخیره‌ای ازت، از بین برنده رادیکال‌های

مدل CTS-406 ساخت کمپانی EZDO تایوان، آماده شد. لازم به ذکر است که بعد از شخم و تسطیح مزرعه از چند نقطه که بر روی قطر مزرعه واقع شده بود نمونه برداری انجام شد، نمونه‌ها با هم مخلوط شده و نهایتاً یک نمونه به آزمایشگاه ارسال گردید (جدول ۲). لازم به ذکر است که بعد از شخم و تسطیح مزرعه از چند نقطه که بر روی قطر مزرعه واقع شده بود نمونه برداری انجام شد، نمونه‌ها با هم مخلوط شده و نهایتاً یک نمونه به آزمایشگاه ارسال گردید (جدول ۲). برای تهیه نشاء، بذر گیاه در اسفندماه در خزانه کشت و در اوایل بهار به بستر اصلی در کرت‌هایی با ابعاد $1/5 \times 1/5$ متر انتقال داده شدند. زمان اعمال تیمارها پس از استقرار کامل بوته‌ها تا دو ماه در نظر گرفته شد. برداشت بوته‌ها در زمان قبل از رسیدن به مرحله گلدهی و در زمان رشد رویشی صورت گرفت. سپس شاخص‌های زیر مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

اندازه‌گیری وزن خشک اندام‌های هوایی - نمونه‌ها در آن در درجه ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و با استفاده از ترازوی دیجیتالی $0/001$ وزن شدند.

اندازه‌گیری میزان سدیم و پتاسیم - نمونه‌ها پس از خشک شدن در آن با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، در هاون حاوی سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد حل گردیده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس عصاره حاصله با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف شده و سپس با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر (M410, Corning, Palo Alto, CA, USA) میزان سدیم و پتاسیم عصاره اندازه‌گیری شدند (۱۰).

اندازه‌گیری میزان پرولین - پرولین با استفاده از روش باتس و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. $0/125$ گرم نین هیدرین را به ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال اضافه کرده سپس محلول گرم می‌شود. بعد از آن ۲ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار به محلول اضافه نموده و محلول به دست آمده را به مدت ۲۴ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود تا معرف به خوبی تثبیت شود. بعد $0/05$ گرم ماده تر را در ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد ساییده و محلول با کاغذ واتمن شماره ۲ صاف می‌شود و سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف

هیدروکسیل، محافظ، تنظیم پتانسیل‌های اکسیداسیونی سلولی، کاهش اسیدیتته، حفظ تورژسانس و حجم سلول را به عهده دارد که نهایتاً همه آن‌ها موجبات سازش و یا تحمل در برابر تنش اسمزی (شوری) را فراهم می‌نمایند.

حکیم و همکاران (۲۰۱۴) و راجاکومار و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعات خود بیان داشتند که در اغلب گیاهان تجمع پرولین تحت شرایط تنش شوری منجر به افزایش تحمل گیاهان به تنش شده و افزایش مقدار پرولین در این شرایط به عنوان یکی از فاکتورهای تحمل به تنش در نظر گرفته می‌شود.

به‌رغم بررسی‌های گسترده‌ای که در مورد تاثیر تنش‌های محیطی بر رشد و عمل‌کرد گونه‌های مختلف گیاهی انجام شده است، در مورد واکنش گیاهان دارویی به تنش‌های محیطی اطلاعات اندکی وجود دارد بنابراین با توجه به وجود آب و خاک شور زیاد در کشور، شناخت ویژگی‌های عمل‌کردی گیاه بادرنجبویه در ارتباط با تنش شوری می‌تواند در گسترش سطح کشت آن اثرگذار داشته باشد. در این راستا هدف از پژوهش حاضر بررسی سطوح مختلف شوری بر میزان و نوع ترکیبات بیوشیمیایی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه‌ای واقع در شهرستان ارسنجان با وسعت ۱۴۶۹ کیلومتر مربع در فاصله ۱۲۰ کیلومتری شمال شرقی شیراز با طول جغرافیایی ارسنجان ۵۳ درجه و ۱۸ دقیقه و ۳۰ ثانیه و عرض جغرافیایی آن ۲۴ درجه و ۵۵ دقیقه و صفر ثانیه است، اجرا گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و سه تیمار شوری آب مورد استفاده برای آبیاری (شامل هدایت الکتریکی ۱ به عنوان شاهد و ۴ و ۷ دسی‌زیمنس بر متر) انجام گردید. به منظور یکسان‌سازی نوع نمک موجود در آب (جدول ۱) و جلوگیری از تاثیر نوع املاح بر نتایج، آبی با شوری ۹ تا ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر از یک چاه کشاورزی به‌وسیله تانکر به مزرعه انتقال، سپس با آب با شوری $0/6$ دسی‌زیمنس بر متر ترکیب شد (۳۲).

شوری‌های مورد نظر (۱، ۴ و ۷ دسی‌زیمنس بر متر) با اندازه‌گیری EC آب بوسیله دستگاه هدایت الکتریکی سنج

با ترکیب هاس استاندارد صورت گرفت. مشخصات دستگاه عبارت بود از ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، مد یونیزاسیون EI و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود. برنامه حرارتی اون ۳ دقیقه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد، سپس ۶۰ تا ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه بود. دمای محل تزریق ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد گاز حامل هلیوم و سرعت حرکت آن ۹۹/۹۹۹ میلی‌متر بر دقیقه بود.

بررسی آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با سه تکرار برای هر تیمار انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹٫۱ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با ضریب اطمینان ۹۵ درصد ($p \leq 0/05$) انجام گرفت. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

جدول ۱ و ۲ آنالیز املاح موجود در آب و خاک مزرعه را نشان می‌دهند.

شده را با ۲ میلی‌لیتر محلول اسیدناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک مخلوط کرده و به مدت نیم ساعت در دمای ۱۰۰ درجه قرار داده می‌شود. بعد از سپری شدن این مدت زمان لوله‌ها جهت سرد شدن به حمام یخ منتقل و در نهایت به لوله‌های آزمایش ۶ میلی‌لیتر تولوئن اضافه می‌شوند و بعد از ثابت شدن محلول، برای اندازه‌گیری پرولین از طول موج ۵۲۰ نانومتر با شاهد تولوئن خالص استفاده می‌شود.

استخراج و آنالیز اسانس- استخراج روغن‌های اسانسی از اندام‌های هوایی شامل ساقه و برگ به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر صورت گرفت (۲). جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده استخراج روغن‌های اسانسی از اندام‌های هوایی نیز به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر (از نوع شیشه‌اس ساخت شرکت گلدیس ایران) صورت پذیرفت (۲) جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS) (Agilent technologies) مدل اچ پی ۹۵۰۵۲۵ و مقایسه این پارامتر

جدول ۱- آنالیز املاح آب موجود در منطقه مورد

هدایت الکتریکی EC × 10 ⁶	اسیدیته pH	مجموع املاح محلول T.D.S mg/l	میلی‌اکی‌والان در لیتر											
			کربنات	بیکربنات	کلراید	سولفات	مجموع آنیونها	کلسیم	منیزیم	سدیم	پتاسیم	مجموع کاتیونها	درصد سدیم	
			CO ₃ ²⁻	CO ₃ H ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	S.S.P	S.S.A.R	نسبت جذب سدیم محلول	درصد سختی کل
۱۰۰۰	۷/۴۸	۷۲۸	۰	۴/۵	۴	۳/۴	۱۱/۹	۳	۳/۵	۰/۰۵	۱۲/۵۵	۱/۶۵	۲۷	۲۲۵
۴۰۰۰	۷/۶۳	۲۹۴۳	۰	۴/۵	۲۵	۱۱/۵	۴۱	۸	۲۳	۰/۲۲	۴۳/۲۲	۷/۲۷	۵۳	۲۲۵
۷۰۰۰	۷/۷۷	۵۳۲۶	۰	۴	۴۸	۷۹/۲	۲۰	۱۷	۴۶	۸۳/۴	۰/۴	۱۰/۶۰	۵۵	۲۰۰

جدول ۲- آنالیز املاح خاک مزرعه

هدایت الکتریکی EC × 10 ³	اسیدیته اشباع pH of paste	درصد اشباع S.P	بافت			درصد کربن آلی OC%	درصد مواد خنثی شونده TNV%	ازت کل Total N %	فسفر قابل جذب (ava) ppm	پتاسیم قابل جذب (ava) ppm
			درصد رس Clay%	درصد سیلت Silt%	درصد شن Sand%					
۳/۷۲	۷/۴۴	۴۵	۳۰	۴۴	۲۶	۳۲/۵	۰/۱	۲۶	۵۵۲	

احتمال ۵ درصد ($p \leq 0.05$) بر مقدار وزن خشک ساقه و برگ، پتاسیم، سدیم، نسبت پتاسیم به سدیم و مقدار پرولین در گیاه داشت.

نتایج تجزیه واریانس وزن خشک ساقه و برگ و سایر عوامل مورد بررسی در جدول ۳ ارائه شده است. لازم به یادآوری است که بوته‌های گیاه در شوری ۷ دسی‌زیمنس بر متر کاملاً خشک شدند و داده‌ای از این سطح شوری حاصل نشد. با توجه به نتایج، تنش شوری اثر معنی‌داری در سطح

جدول ۳- تجزیه واریانس عوامل مورد بررسی در گیاه *Melissa officinalis* L. تحت تیمارهای مختلف شوری

مقدار پرولین (میکرو مول بر گرم وزن خشک)	میانگین مربعات			وزن خشک (گرم)	درجه آزادی
	K ⁺ /Na ⁺	Na ⁺ (میکرو مول بر گرم)	K ⁺ (میکرومول بر گرم)		
۰/۰۰*	۰/۰۳*	۰/۰۰*	۰/۰۰*	۰/۲۲*	خطای آزمایش
۲/۰۰*	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۲۰*	۰/۰۲*	۲/۵۰ ^{ns}	بلوک
۸۰۷/۳۶*	۲/۲۵*	۱/۷۴*	۰/۰۱*	۹/۹۱*	شوری

※: تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد، ns: عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد

که در این جدول مشاهده می‌گردد در اسانس موجود در برگ گیاه تحت تیمار شوری ۱ دسی‌زیمنس بر متر، ۳۹ ترکیب دارویی با مختلف دیده شد که ۹۸/۶۱ درصد از کل ترکیبات اسانس را تشکیل می‌دهند.

نتایج مربوط به اثر سطوح مختلف شوری بر مقدار و نوع ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در گیاه *Melissa officinalis* L. در جدول ۴ نشان داده شده است. همان‌گونه

جدول ۴- آنالیز HS-GSMS به منظور شناسایی ترکیبات موجود در اسانس برگ گیاه *Melissa officinalis* L

معنی‌داری (t-test)	درصد ترکیبات در تیمارهای شوری مختلف (dS m-1)		زمان بازداری	نام ترکیب	ردیف
	شوری ۴	شوری ۱			
۰/۰۰۱*	۰/۰۰۵	۰	۹۲۶	α -Thujene	۱
۰/۰۰۰*	۰/۰۱۹	۰	۹۳۳	α -Pinene	۲
۰/۰۰۷*	۰/۰۰۳	۰	۹۴۷	Camphene	۳
۰/۰۰۰*	۰/۱۹۸	۰	۹۷۶	1-Octen-3-ol	۴
۰/۰۰۰*	۰/۸۲	۰/۹۲۷	۹۸۵	6-methyl-5-Hepten-2-one	۵
۰/۰۰۰*	۰/۱۹۸	۰/۳۹۱	۹۹۰	Myrcene	۶
۰/۳۷ ^{ns}	۰	۰/۱۵۶	۹۹۸	α -Phellandrene	۷
۰/۰۰۰*	۰/۰۱۷	۰/۱۱۳	۱۰۱۶	α -Terpinene	۸
۰/۰۰۰*	۰/۰۵۹	۰/۱۶۸	۱۰۲۳	p-Cymene	۹
۰/۰۰۰*	۰/۰۲۹	۰/۲۱	۱۰۲۷	Limonene	۱۰
۰/۰۰۱*	۰	۰/۰۵	۱۰۴۲	β -Phellandrene	۱۱
۰/۰۰۰*	۰	۰/۰۶۷	۱۰۴۵	(Z)-b-Ocimene	۱۲
۰/۰۰۰*	۰/۰۵۱	۰/۰۸۸	۱۰۵۶	Benzene acetaldehyde	۱۳
۰/۰۰۰*	۰/۰۲۲	۰/۱۲۵	۱۰۸۷	(E)-b-Ocimene	۱۴
۰/۰۰۰*	۰/۱۰۶	۰/۰۷۵	۱۰۹۶	g-Terpinene	۱۵
۰/۰۰۰*	۰/۰۱۴	۰/۱۳	۱۰۹۹	Terpinolene	۱۶
۰/۰۰۰*	۰/۰۶۵	۰/۰۷۱	۱۱۴۳	Unknown	۱۷
۰/۰۰۰*	۰/۴۰۵	۰/۲۸۷	۱۱۴۸	Linalool	۱۸
۰/۰۰۰*	۰	۰/۰۹۱	۱۱۵۱	1,3,8-p-Menthatriene	۱۹
۰/۰۰۰*	۰/۸۲۷	۰/۷۲۵	۱۱۶۳	neo-Isopulegol	۲۰
۰/۰۰۵*	۰/۱۳	۰/۱۶۳	۱۱۷۳	Citronellal	۲۱

۰/۰۰۰*	۱/۱۸۸	۰/۹	۱۱۸۱	neo-Menthol	۲۲
۰/۰۰۱*	۰/۱۵۶	۰/۲۱	۱۱۸۹	Rosefuran epoxide	۲۳
۰/۰۰۰*	۰/۱۵۶	۲/۰۵۷	۱۱۹۳	iso-Menthol	۲۴
۰/۰۱۳*	۰/۰۴	۰/۰۶۵	۱۲۱۷	α -Terpineol	۲۵
۰/۰۰۰*	۰/۱۰۲	۰/۱۱۱	۱۲۲۷	Methyl salicylate	۲۶
۰/۰۰۴*	۰/۰۵	۰/۰۸۴	۱۲۳۹	trans-Carveol	۲۷
۰/۰۰۰*	۰/۴۷۲	۰/۲۳	۱۲۵۴	Nerol	۲۸
۰/۰۰۰*	۳۲/۲۲۶	۳۴/۰۱۱	۱۲۶۹	Neral	۲۹
۰/۰۰۰*	۱/۵۲۲	۰/۹۱	۱۲۹۱	Geraniol	۲۷
۰/۰۰۰*	۴۱/۶۴	۴۴/۸۲	۱۲۹۸	Geranial	۲۸
۰/۰۰۰*	۰/۲۳۴	۰/۰۵۹	۱۳۳۳	Thymol	۲۹
۰/۰۰۱*	۰/۰۱۸	۰/۰۱۱	۱۳۶۳	Carvacrol	۳۰
۰/۰۰۰*	۰/۵۳۳	۰/۴۵۸	۱۳۸۲	Methyl geranate	۳۱
۰/۰۰۰*	۰/۰۵۹	۰/۰۴۲	۱۴۱۷	Neryl acetate	۳۲
۰/۰۰۰*	۱۲/۶۵	۹/۰۴۴	۱۴۵۱	Geranyl acetate	۳۳
۰/۰۰۰*	۲/۱۰۲	۲/۲۸۹	۱۴۵۸	(E)-Caryophyllene	۳۴
۰/۲۸ ^{ns}	۰/۱۰۶	۰/۱۰۷	۱۴۸۴	α -Humulene	۳۵
۰/۰۱۹*	۰/۰۳	۰/۰۰۸	۱۵۴۹	allo-Aromadendrene	۳۶
۰/۰۰۱*	۰/۰۱۸	۰/۰۱۱	۱۵۷۹	(E)-b-Ionone	۳۷
۰/۰۰۰*	۰/۰۲۱	۰/۰۴۵	۱۶۰۵	Elemol	۳۸
۰/۰۰۰*	۱/۳۹۹	۰/۵۰۷	۱۶۶۹	Caryophyllene oxide	۳۹
۰/۰۰۰*	۰/۱۰۸	۰/۰۶۱		14-hydroxy-9-epi-(E)- caryophyllene	۴۰
۰/۰۰۰*	۰/۰۳۸	.		Humulene epoxide II	۴۱
۰/۰۰۰*	۰/۳۲۳	.		trans-Verbenol	۴۲
۰/۰۰۰*	۰/۰۳۵	.		2,4- Heptadienal	۴۳
	۹۹/۹۹	۹۸/۶۱		مجموع ترکیبات	

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که با افزایش تنش شوری مقدار وزن خشک گیاه بادرنجوبیه به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (جدول ۱) به‌طوری‌که مقدار آن از ۶/۸۸ گرم در تیمار شوری ۱ دسی‌زیمنس بر متر به ۴/۳۱ گرم در تیمار شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر رسید که تفاوت معنی‌داری با شاهد داشت. کاهش وزن خشک به‌دلیل کاهش آماس سلول‌ها در شرایط شور، متاثر از فرایندهای اسمزی و کاهش جذب آب و عناصر غذایی است. از علل دیگر کاهش رشد و عمل کرد گیاه در اثر شوری بالا رفتن مصرف انرژی در گیاه برای خروج یون‌های سدیم مهاجم که در محیط به مقدار وفور وجود دارند و در نتیجه مصرف مقدار زیادی از انرژی سلولی برای سازش و مقابله با تنش شوری است (۷). ستایش مهر و همکاران (۲۰۱۳)؛ مونس (۲۰۰۵)؛ سوفو (۲۰۰۵) نشان دادند که به هم خوردن تنظیم اسمزی، کاهش آب قابل

عمده ترکیبات مهم و بازاری شناسایی شده در اسانس شاهد به ترتیب شامل Geranial (۴۴/۸۲ درصد)، Neral (۳۴/۰۱۱ درصد)، Geranyl acetate (۹/۴۴ درصد)، (E)-Caryophyllene (۲/۲۸۹ درصد) و iso-Menthol (۲/۰۵ درصد) و در تیمار شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر عمده این ترکیبات به ترتیب شامل Geranial (۴۱/۶۴ درصد)، Neral (۳۲/۲۳ درصد)، Geranyl acetate (۱۲/۶۵ درصد)، (E)-Caryophyllene (۲/۱۰۲ درصد)، Geraniol (۱/۵۲۲ درصد)، neo-Menthol و Caryophyllene oxide (۱/۳۹۹ درصد) و (۱/۱۸۸ درصد) بودند. مقدار ترکیبات مختلف در دو سطح شوری با استثنای دو ترکیب α -Phellandrene و α -Humulene با هم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد داشتند. در واقع با افزایش شوری میزان وزن خشک گیاه و ترکیبات مهم آن کاهش یافته که خود نشان دهنده زیان اقتصادی به این محصول در اثر آبیاری با آب شور است.

از یک مخلوط با غالبیت یون سدیم داشته باشند و همزمان قادر به جمع‌آوری مقدار کافی از یون‌های سدیم برای تنظیم اسمزی نیز باشند (۱۷).

نتایج به‌دست آمده از سنجش مقدار پرولین در این پژوهش نشان داد که با افزایش تنش شوری میزان پرولین کاهش می‌یابد به‌طوری‌که مقدار آن در تیمار ۱ دسی‌زیمنس بر متر از ۳۳/۳۳ میکرومول بر گرم وزن خشک به ۱۰/۳۰ میکرومول بر گرم وزن خشک در تیمار شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر رسید. در اکثر موارد مکانیسم افزایش پرولین در گیاهان به هنگام تنش، نوعی سازوکار دفاعی است که پرولین با چندین سازوکار مانند تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم، حفظ و سنتز پروتئین مقاومت گیاه را در برابر تنش‌ها افزایش می‌دهند (۱۹).

کاوی کیشور و همکاران (۱۹۹۵)؛ وودرج و شراب (۱۹۹۱)؛ در مطالعات خود تغییر محتوای پرولین را یکی از غالب‌ترین پدیده‌ها گزارش کرده‌اند که به‌وسیله تنش‌های شوی و آب در گیاهان القاء می‌شود و اغلب پذیرفته شده است که در سازوکارهای بردباری به تنش دخیل می‌باشد و در بیشتر گیاهان تجمع پرولین تحت شرایط تنش شوری منجر به افزایش توان تحمل گیاه به تنش می‌شود لذا افزایش مقدار پرولین در این شرایط به‌عنوان یکی از فاکتورهای تحمل به تنش در نظر گرفته می‌شود. با این وجود برخی از پژوهش‌های دیگر نشان دادند که تجمع پرولین در گیاهان حساس به شوری بیشتر از گیاهان مقاوم به شوری است (۱). بنابراین نقش دقیق پرولین به‌عنوان فاکتور تشخیص گونه مقاوم از حساس هنوز به صورت یک موضوع بحث برانگیز باقی مانده است (۱).

بررسی نتایج تجزیه اسانس گیاه بادرنجبویه نشان داد که در تیمار شاهد (شوری با ۱ دسی‌زیمنس بر متر) ۳۹ و در تیمار ۴ دسی‌زیمنس بر متر ۴۲ ترکیب شناسایی شدند که عمده‌ی این ترکیبات، مانند Geranial, Geraniol, Neral, (E)-iso-Menthol و Caryophyllene با افزایش تنش شوری مقدار آن‌ها کاهش یافت درحالی‌که عمده ترکیباتی مانند Geranyl acetate, Geraniol, Caryophyllene oxide, neo-Menthol مقدارشان افزایش پیدا کرد. از طرف دیگر ترکیباتی مانند 1-Octen-3-ol, Humulene epoxide II, α -Thujene, 2,4-Heptadienal, trans-Verbenol

دسترس، عدم تعادل عناصر غذایی، سمیت یون‌های کلر و سدیم سبب کاهش وزن خشک گیاهان می‌شوند.

نتایج این تحقیق حاکی از تاثیر معنی‌دار تنش شوری بر سدیم، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم بود به‌طوری‌که در تیمار ۱ دسی‌زیمنس بر متر مقدار سدیم از ۰/۸ میلی‌مول بر گرم به ۱/۸۸ میلی‌مول بر گرم در تیمار ۴ دسی‌زیمنس بر متر رسید اما میزان پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم کاهش پیدا کرد به‌طوری‌که میزان پتاسیم در تیمار ۱ دسی‌زیمنس بر متر از ۱/۶۵ میلی‌مول بر گرم به ۱/۵۹ میلی‌مول بر گرم در تیمار ۴ دسی‌زیمنس بر متر و نسبت پتاسیم به سدیم در تیمار ۱ دسی‌زیمنس بر متر از ۲/۰۷ میلی‌مول به ۰/۰۸ میلی‌مول بر گرم رسید که روند نزولی را نشان داد. پتاسیم یک یون ضروری برای رشد و توسعه گیاه است. با توجه به اینکه پتاسیم در تنظیم فشار اسمزی سلول گیاهی، افزایش مقاومت گیاه به خشکی، بهبود وضعیت نفوذپذیری غشاء سلول و بهبود روابط آب سلولی ریشه نقش دارد، با افزایش جذب این کاتیون اثرهای زیان‌بار یون سدیم کاهش و تحمل گیاه به شوری افزایش می‌یابد (۱۲).

تحت‌تأثیر تنش شوری، غلظت زیاد سدیم در اندام هوایی دامنه‌ای از مشکلات اسمزی و متابولیک گیاه را موجب شده و سمیت احتمالی ناشی از تجمع بیش از حد این یون در اندام گیاهی و کاهش تولید ماده خشک گیاه را به دنبال خواهد داشت (۳). یکی از مهم‌ترین اثرات سوئی که تنش شوری می‌تواند بر رشد گیاهان داشته باشد، تجمع برخی یون‌های سمی به‌ویژه سدیم در بافت‌های گیاهی است. محققین بیان کردند که به‌طور کلی در شرایط شور قابلیت جذب عناصر غذایی در محلول خاک به‌واسطه غلظت زیاد یون‌های کلرید سدیم کاهش یافته و منجر به اختلال در امر تغذیه می‌شود (۵). براساس یافته‌های محققین این نسبت K^+ / Na^+ در گیاه به‌عنوان شاخصی برای تعیین تحمل به شوری در گیاهان عالی است (۱۶). رشد موفق بسیاری از گیاهان در محیط‌های شور به‌دلیل حفظ نسبت بالاتر K^+ / Na^+ نسبت به سایر گیاهان می‌باشد. در میان مکانیسم‌های درگیر در این تعمیر و نگهداری، برداشت انتخابی K^+ به رغم رقابت قابل توجه یون Na^+ ، نقش مهمی دارد (۱۱). بدین ترتیب زمانی که این گیاهان یون سدیم را برای تنظیم اسمزی مصرف می‌کنند، باید توانایی انتخاب یون پتاسیم را

صورت نمی‌گیرد و عوامل متعددی وجود دارند که می‌توانند تولید این ترکیبات را تحت تأثیر قرار دهند. بر طبق مطالعات انجام شده قبلی نوع گونه یا جنس گیاهی، مرحله رشد و نمو، شرایط فصلی خاص، میزان دسترسی به مواد غذایی معدنی (۳۷) و مطابق مطالعه حاضر شرایط تنشی از جمله این عوامل هستند.

به‌طور کلی نتایج نشان داد که گیاه بادرنجوبیه در شوری ۷ دسی‌زیمنس بر متر کاملاً خشک شد و در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شوری ۱ دسی‌زیمنس بر متر که شاهد در نظر گرفته شده، هم مقدار و هم نوع ترکیبات بیوشیمیایی و اسانس تغییر کرد همچنین که به هنگام تنش شاخص‌هایی که نقش مکانیسم دفاعی را در گیاه بازی می‌کنند به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا می‌کردند لذا می‌توان گفت که بادرنجوبیه جزء گیاهان حساس به تنش شوری است. پس کشت این گیاه در مناطق شور یا آبیاری آن با آبی شوری بیش از ۱ دسی‌زیمنس بر متر توصیه نمی‌شود. چون در اینصورت زیان اقتصادی را به دنبال دارد.

Pinene در تیمار شوری ۱ دسی‌زیمنس بر متر وجود نداشتند ولی در تیمار شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر یافت شدند. ترکیباتی دیگر مانند α -Phellandrene، 1,3,8-p-، Menthatriene، β -Phellandrene، (Z)-b-Ocimene، تیمار ۱ دسی‌زیمنس بر متر تولید شدند ولی با افزایش تنش شوری در تیمار ۴ دسی‌زیمنس بر متر تولید آن‌ها قطع شد. علت دقیق افزایش برخی از ترکیبات و کاهش برخی دیگر در این گیاه مشخص نیست. نتایج برخی از مطالعات حاکی از افزایش چند برابری متابولیت‌های ثانویه می‌باشد (۸ و ۲۱). این در حالی است که از ترک و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعات خود نشان دادند که گیاه بادرنجوبیه و اشرف و همکاران (۲۰۰۴) بیان کردند که گیاه ریحان تحت تنش شوری اسانس‌شان کاهش پیدا می‌کند گرگینی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند که شوری عمل‌کرد اسانس گیاه بادرنجوبیه را در خانواده نعناع کاهش می‌دهد و این مسئله به احتمال زیاد به دلیل محدود شدن عرضه سیتوکنین از ریشه‌ها به شاخه‌ها و در نتیجه تغییر نسبت بین سیتوکنین و اسیدآبسیزیک برگ باشد. با توجه به اینکه نتایج ضد و نقیضی در خصوص تغییر میزان اسانس گیاهان در برابر تنش شوری ارائه می‌گردد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تولید ترکیبات ثانویه در گیاهان همیشه به یک میزان

References

1. Akbari, M., M. Toorchi & M.R. Shakiba, 2016. The Effects of Sodium Chloride Stress on Proline Content and Morphological Characteristics in Wheat (*Triticum aestivum* L.). Biological Forum, 8(1): 379-385.
2. Aboli, J. & S. Zahedi., 2014. Isolation and identification of constituents of essential oil obtained by distillation with water (HD) and micro-extraction of solid phase from upper space (HS-SPME plant *Perovskia Abrotanoides* Karel. From Iran and compare the results. Journal of Quantum Chemistry and Spectroscopy, 4(12): 21-34.
3. Apse, M.P. & E. Blumwald., 2002. Engineering salt tolerance in plant. J. Biotech, 13: 146-150.
4. Ashraf, M. & N. Akhtar., 2004. Influence of salt stress on growth, ion accumulation and seed oil content in sweet fennel. Bologia Plantarum, 48(3):461-464.
5. Ashraf, Sh., H. Afshari & H. Abdolghaffar, 2009. Comparison of salinity due to calcium, sodium and potassium salts onion accumulation in *Helianthus annuus*. Plant and ecosystem, 6(22): 39-52.
6. Arzhang, M., M. Dakhili & F. Farahani, 2015. Investigation of chemical compounds and antimicrobial activity of essential oil result of *Melissa officinalis* L. Journal of Qom University of Medical Sciences, 9(1-2): 7-13 (in Persian).
7. Arvin, P., 2015. Effect of gibberellin on some morphological traits, photosynthetic pigments content and proline in savory (*Satureja hortensis* L.) under salinity stress conditions. Journal of Agricultural Research, 7(2): 90-104 (in Persian).
8. Baher, Z.F., M. Mirza., M. Ghorbanli & M.B. Rezaii., 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. Flavor and Fragrance, 17:275-277.
9. Bates, I.S., R.P. Waldren & I.D. Teare, 1973. Rapid determination of free proline water- stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.
10. Bagherifard, A. & U. Hamidoghli., 2014. The effect of magnetic saline water on absorption of sodium and potassium in artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaves. Ecophysiology Plant, 7(23): 1-9 (in Persian).
11. Ben Taarit, M., K. Msaad., K. Hosni & B. Marzouk, 2011. Physiological changes and essential oil composition of clary sage (*Salvia sclarea* L.) rosette leaves as affected by salinity. Acta Physiologia Plantarum, 33:153-162.

12. Black, C.A., C. Fanning & C. Fanning, 1992. Soil-plant relationship, Krier pub.co. USA.
13. Carnal, A.P., A. Camat., D. Fraisse & J.L. Lamaison, 1998. The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) tea. Pharm. Acta Helv, 72: 301-305.
14. Capecka, E. & A. Mareczek., 2005. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some lamiaceae species. Food Chem., 93(2):223-6.
15. Davazdehemami, S., F. Sefid kon., M.R. Jahansoz & D. Mazaheri, 2009. Investigating the effect of irrigation water salinity on quantitative and qualitative functions of medicinal plants (*Carumcopticum L.C.B.*). Journal of Research in Iranian Fragrant and Medicinal Plants, 25(4): 504-512 (in Persian).
16. Delgado, I.C. & A.J. Sanchez-Raya., 1999. Physiological response of seedling sunflower to salinity and K sources, Commun. Soil Sci. Plant Anal., 30 (5-6).
17. Flowers, T.J. & T.D. Colmer., 2008. Salinity tolerance in halophytes. New Phytologist, 179: 945-963.
18. Ganjali1, A.R., M. Ajorlo & A. Khaksafidi, 2017. The Effect of Drought and Salinity Stress on Seed Germination of (*Alyssum Homalocarpum*). Journal of Crop Breeding, 9(21): 139-146. (in Persian)
19. Gholami, R., B. Kashfi & S. Saeidi, 2013. Effect salicylic acid on alleviation of salt stress on growth traits of *Salvia limbata* L. Ecophysiology Plant, 5(15): 63-73. (in Persian)
20. Gorgini shbankare, H., B.A., Fakheri & R. Mohammadpour, 2015. Effect of Different Levels of Salinity and Drought Stresses on Growth Indices and essential oil (*Melissa officinalis* L.). Iranian Crop Science, 46(4):673-686. (in Persian)
21. Hendawy, S.F. & K.H.A. Khalid., 2005. Response of sage (*salvia officinalis* L.) plants to zinc application under different salinity levels. Applied Science and Research, 1:147-55.
22. Hakim, M.A., A.S. Juraimi., M.M. Hanafi., M.R. Ismail., A. Selamat., M.Y. Rafii & M.A. Lati, 2014. Biochemical and Anatomical Changes and Yield Reduction in Rice (*Oryza sativa* L.) under Varied Salinity Regimes. Biomedical Research International, 20:1-11.
23. Jia, J., Ch. Huang., J. Bai., G. Zhang & Q. Zhao, 2018. Effects of drought and salt stresses on growth characteristics of *euhalophyte Suaeda salsa* in coastal wetlands. Physics and Chemistry of the Earth, 103: 68-74.
24. Kavi kishor, P.B., Z. Hong., G.H. Miae., C.A. Iiu & D.P.A. Verma, 1995. Over expression of pyrrolin-5-eaboxylate increases production and confers osmotolerance in transgenic plants. Plant Physiology, 108: 1387-1394.
25. Munns, R., 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. New Phytologist, 167: 645 663.
26. Munns, R. & M. Tester, 2008. Mechanisms of salinity tolerance. – Annu. Rev. Plant Biol., 59: 651-81.
27. Morales, C., R.M. Cusido., J. Palazon & M. Bonfill, 1993. Response of *Digitalis purpurea* plants to temporary salinity. Journal of Plant Nutrition, 16(2):327-35.
28. Parvaiz, A. & M. Satyawati., 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants- a review. Plant Soil and Environment, 54:89-99
29. Baher, Z.F., M. Mirza., M. Ghorbanli & M.B. Rezaii, 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. Flavor and Fragrance, 17:275-277.
30. Ozturk, A., A. Ipek., A. Unlukara & B. Gurbuz, 2004. Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Pakistan Journal of Botany, 36(4): 787-792.
31. Rajakumar, R., 2013. A study on effect of salt stress in the seed germination and biochemical parameters of rice (*Oryza sativa* L.) under in vitro condition. Asian Journal of Plant Science and Research, 3(6):20-25.
32. Said-Al Ahl, H.A.H. & E.A. Omer., 2011. Medicinal and aromatic plants production under salt stress: A review. Herba Polonica, 57:72-87.
33. Setayeshmehr, Z. & S. Esmaeilzadeh., 2013. Effect of salt stress on some phonological and biochemical characteristics in *Coriandrum sativum* L. J. of Plant Production, 20(3):111-126.
34. Sofo, A., A.C. Tuzio., B. Dichio & C. Xiloyannis, 2005. Influence of water deficit and dewatering on the components of the ascorbate-gluta-thione cycle in four interspecific Prunus hybrids. Plant Science, 169(2): 403-412.
35. Szaboles, I., 1994. Soils and salinization. In Handbook of plant and crop stress. CRC Edition, 2: 1-12.
36. Tabrizi, L., P. Amini & K. Khoshbakht, 2015. Investigating the Production Systems and Biodiversity of Medicinal and Aromatic Plants in Agricultural Ecosystems of the Province Qazvin. Agro ecology, 6(4): 880-890.
37. Verpoorte, R., A. Contin & J. Memelink, 2002. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. Phyto chemistry, 1: 13-25.
38. Voetberg, G.S. & R.E. Sharp., 1991. Growth of the maize primary root at low water potentials. III. Role of increased proline deposition in osmotic adjustment. Plant Physiology, 96: 1125-1130.
39. Zaki, R.N. & T.E. Radwan., 2011. Improving wheat grain yield and its quality under salinity conditions at a newly reclaimed soil by using different organic sources as soil or foliar applications. J. Appl. Sci. Res., 7: 42-55.