

تأثیر تنش خشکی بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی مرزنجوش بخارایی (*Origanum vulgare L. ssp. gracile*)

آزاد مینایی^۱، عباس حسنی^{۲*}، حسین ناظمیه^۳ و سینا بشارت^۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- نویسنده مسئول، استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، پست الکترونیک: a.hassani@urmia.ac.ir

۳- استاد، مرکز تحقیقات ریز فناوری دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۴- دانشیار، گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۷

تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۷

چکیده

به منظور بررسی اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر رشد، عملکرد و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه مرزنجوش بخارایی (*Origanum vulgare L. ssp. gracile*)، آزمایشی گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و پنج تکرار انجام گردید. تیمارهای تنش خشکی شامل چهار سطح ۱۰۰٪ (بدون تنش)، ۸۰٪، ۶۰٪ و ۴۰٪ ظرفیت زراعی بودند. نتایج نشان داد که تنش خشکی تأثیر معنی داری بر مؤلفه‌های رشدی، عملکرد ماده خشک، محتوی نسبی آب برگ (RWC)، فنل کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کلروفیل a، b و کلروفیل کل و درصد و عملکرد اسانس دارد. از نظر مقدار کاروتنوئید اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف وجود نداشت. با کاهش مقدار آب خاک، ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و طول شاخه‌های جانبی، عملکرد ماده خشک، RWC، کلروفیل a، b و کلروفیل کل و عملکرد اسانس کاهش و در مقابل میزان فنل و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد اسانس افزایش یافت. علیرغم کاهش عملکرد ماده خشک، اختلاف بین تیمارهای ۸۰٪، ۶۰٪ و ۴۰٪ ظرفیت زراعی معنی دار نبود. بیشترین درصد اسانس (۱/۵۴ میلی‌لیتر در صد گرم ماده خشک) در تیمار ۶۰٪ ظرفیت زراعی و بیشترین مقدار فنل کل (۵/۲۱ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده تر)، فلاونوئید کل (۰/۵ میلی‌گرم کوئرستین در گرم ماده تر) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۷/۳۶٪) در تیمار ۴۰٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: تنش کم‌آبی، ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی، عملکرد، محتوای نسبی آب برگ، مرزنجوش (*Origanum*).

مقدمه

مورفولوژیکی و شیمیایی بالایی در دنیا برخوردار هستند (Kokkini, 1997). *O. vulgare L.* یکی از مهمترین گونه‌های این جنس است که گسترش فراوانی نه تنها در منطقه مدیترانه بلکه در سایر مناطق دنیا از جمله ناحیه ایران

جنس مرزنجوش (*Origanum*) متعلق به خانواده نعناع و دربرگیرنده بسیاری از گونه‌هایی است که معمولاً به صورت وحشی در نواحی مدیترانه‌ای یافت می‌شوند و از تنوع

منجر به آسیب شدید دستگاه فتوسنتزی خواهد شد (Lawlor & Cornic, 2002). در چنین شرایطی، اغلب تولید ترکیب‌های فنلی مانند فلاون‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، لیگنین‌ها و حتی اسیدهای آمینه حلقوی مانند تیروزین و تریپتوفان افزایش می‌یابد. ترکیب‌های یادشده دارای نقش‌های متعدد اکولوژیکی و فیزیولوژیکی مانند نقش‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی هستند (Andre et al., 2009). طبق اظهار نظر Selmar و Kleinwächter (۲۰۱۳)، گیاهان هنگامی که در معرض کم‌آبی قرار می‌گیرند ترکیب‌های ثانویه بیشتری را در مقایسه با شرایط آبی عادی تولید و انباشته می‌کنند.

در دو تحقیق جداگانه، اثر سطوح مختلف تنش خشکی (۵۵، ۷۰، ۸۵ و ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی)، توسط Omidbaigi و همکاران (۲۰۰۳) در ریحان (*Ocimum basilicum*) و Hassani (۲۰۰۶) در بادرشنبو (*Dracocephalum moldavica*) بررسی و نتایج نشان داد که در هر دو گیاه با تشدید تنش خشکی تا حد ۷۰٪ ظرفیت زراعی، درصد اسانس افزایش یافت؛ در حالیکه عملکرد اسانس در تمام سطوح تنش نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد. در بررسی اثر تنش آبی بر گونه‌ای از ریحان (*Ocimum gratissimum*) مشخص گردید که ارتفاع گیاه، مقدار کلروفیل کل و محتوای نسبی آب برگ را در پاسخ به تنش کاهش داد؛ در حالیکه مقادیر فنل کل در برگ‌ها و ریشه‌های گیاهان تحت تنش به ترتیب ۱۰۴٪ و ۹۷٪ نسبت به شرایط بدون تنش افزایش نشان دادند. همچنین با وجود افزایش درصد اسانس در اثر تنش، اختلاف بین گیاهان تحت تنش و بدون تنش معنی‌دار نبود (Hazzoumi et al., 2015). بررسی واکنش ژنوتیپ‌های مختلف رازیانه (*Foeniculum vulgare*) به تنش خشکی نشان داد که با تشدید خشکی، مقدار ماده خشک و ارتفاع گیاه، تعداد چتر در گیاه، تعداد میوه در چتر، وزن هزاردانه، پتانسیل آب برگ، محتوای نسبی آب برگ و میزان کلروفیل a، b و کل و عملکرد اسانس در تمام ژنوتیپ‌ها کاهش اما درصد اسانس افزایش یافت (Askari & Ehsanzadeh, 2015). Tátrai و

و تورانی دارد. این گونه دارای شش زیرگونه *hirtum* *glandulosum* و *gracile*، *viride*، *virens*، *vulgare* سراسر جهان می‌باشد (Spada & Perrino, 1996) که در ایران تنها سه زیرگونه *gracile* و *vulgare*، *viride* شناسایی شده است که در استان‌های گیلان، مازندران، آذربایجان و کردستان پراکنش دارند (Maroofi, 2005). مرزنجوش بخارایی (*O. vulgare* ssp. *gracile*) گیاهی چندساله، دارای گل‌های سفید و بومی افغانستان، ایران، شرق ترکیه، شمال عراق، شمال غربی پاکستان و جنوب و مرکز روسیه است. این زیرگونه در استان‌های شمالی و غربی ایران به صورت وحشی رویش دارد (Maroofi, 2005). از مرزنجوش به عنوان گیاهی دارویی در طب سنتی و مدرن و نیز ادویه‌ای استفاده می‌شود. پیکر رویشی این گیاه حاوی اسانس (با غالبیت مونوترپن‌های فنلی به ویژه کارواکرول)، فلاونوئیدها، مواد تلخ و ترکیب‌های موسیلاژی است. از مواد مؤثره این گیاه برای درمان سرفه، به عنوان خلط‌آور، ضدنفخ، اشتهاآور، مدر و آرام‌بخش استفاده می‌شود. اسانس این گیاه به دلیل غنی بودن از ترکیب‌های فنولی دارای خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی قوی است (Omidbaigi, 1997)؛ (Moradi et al., 2015).

آب یکی از عوامل محیطی است که تأثیر عمده‌ای در رشد و نمو و میزان مواد مؤثره گیاهان دارویی دارد. شرایط کم‌آبی علاوه بر کاهش رشد گیاه، باعث تحریک پاسخ‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی متعددی مانند بسته شدن روزنه‌ها، کاهش فتوسنتز و تعرق، کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی، انباشت مواد محلول و آنتی‌اکسیدان‌ها و بیان ژن‌های خاص تنشی می‌گردد (Bettaieb et al., 2009). کاهش میزان فتوسنتز در شرایط تنش خشکی عمدتاً ناشی از بسته شدن روزنه‌ها و اختلالات متابولیکی می‌باشد. ادامه واکنش‌های نوری فتوسنتز در طول تنش خشکی و در شرایط کاهش غلظت CO₂ درون سلولی، باعث انباشت ترکیب‌های احیاء شده زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی می‌گردد. چنین وضعیتی به طور بالقوه می‌تواند باعث احیاء مولکول اکسیژن و در نتیجه تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) گردد که

بیوشیمیایی گیاه مرزنجوش بخارایی به عنوان یکی از گیاهان دارویی مهم مورد استفاده در شمال غرب ایران با هدف توسعه کشت آن در استان آذربایجان غربی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به صورت یک آزمایش گلدانی در طی بهار و تابستان سال ۱۳۹۵ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و پنج تکرار بر روی گیاه مرزنجوش بخارایی انجام شد. بذر مورد استفاده در این تحقیق، از رویشگاه طبیعی آن در منطقه سارال (۵۰ کیلومتری شمال غربی شهرستان سنندج) جمع‌آوری شده و با کد ۹۴۲۸ در هر بار یوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان نگهداری می‌گردد. این بذر در کلکسیون گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، در شرایط ایزوله مورد کشت و بذرگیری دوباره قرار گرفته و برای انجام کارهای تحقیقاتی استفاده می‌شود. تیمارهای خشکی شامل چهار سطح ۱۰۰٪ (بدون تنش)، ۸۰٪ (تنش خشکی ملایم)، ۶۰٪ (تنش خشکی متوسط) و ۴۰٪ (تنش خشکی شدید) ظرفیت زراعی در نظر گرفته شدند. بافت خاک مورد استفاده در گلدان‌ها از نوع شنی لومی و درصد رطوبت وزنی آن در حد ظرفیت زراعی برابر ۱۹/۲٪ تعیین شد. گلدان‌های مورد استفاده از نوع پلاستیکی با قطر دهانه ۲۳ سانتی متر و ارتفاع ۲۵ سانتی متر بودند. پس از آماده‌سازی و پرکردن گلدان‌ها با خاک مورد نظر، تعدادی بذر در داخل هر یک از گلدان‌ها کاشته شده و پس از سبز شدن، بوته‌ها در طی چند مرحله تنک گردیده و در نهایت در داخل هر گلدان ۹ بوته نگهداری گردید. به طوری که تا ۲۰ روز پس از کاشت (مرحله ۴ تا ۶ برگی شدن بوته‌ها)، گلدان‌ها به مقدار مساوی آبیاری گردیدند و از این مرحله به بعد، تیمارهای خشکی با توزین روزانه گلدان‌ها و اضافه نمودن آب مصرفی بر اثر تبخیر و تعرق (کاهش وزن هر یک از گلدان‌ها) اعمال شد. در طول مدت آزمایش دمای بیشینه و کمینه گلخانه به‌طور متوسط ۳۰/۱ و ۱۸/۳ درجه سلسیوس و میانگین رطوبت نسبی

همکاران (۲۰۱۶) در بررسی پاسخ‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گونه‌ای از آویشن (*Thymus citriodorus*) به تنش خشکی گزارش نمودند که وزن تر پیکر رویشی، میزان کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ و تبادلات گازی در پاسخ به تنش خشکی کاهش یافتند، در حالیکه درصد اسانس در سطوح متوسط تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش افزایش یافت. در تحقیق دیگری که توسط Mohammadi و همکاران (۲۰۱۸) در مورد تأثیر تنش کم‌آبی بر گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*) انجام شد، نتایج نشان داد که وزن خشک ریشه، شاخه و گلها و نیز مقادیر رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a, b، کل و کاروتنوئیدها) در شرایط کم‌آبی کاهش یافتند.

کشور ایران در محدوده جغرافیایی خشک و نیمه خشک دنیا قرار گرفته است و با وجود محدودیت منابع آب و توزیع مکانی نامناسب آن در پهنه جغرافیایی ایران، متأسفانه بهره‌وری و کارایی استفاده از این منابع بسیار پایین است (Kafi et al., 2009). 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 اجتناب‌ناپذیر مبدل کرده است. در همین راستا شناسایی و معرفی گیاهان متحمل به خشکی و جایگزینی این گیاهان کم‌توقع و با نیاز آبی پایین بجای گیاهان دارای نیاز آبی بالا اهمیت بالایی پیدا می‌کند. از آنجایی که نیاز آبی تعدادی از گیاهان دارویی در مقایسه با محصولات زراعی غیردارویی پایین‌تر می‌باشد، بنابراین به نظر می‌رسد که افزایش سطح زیر کشت این قبیل گیاهان در بخش‌های خشک و نیمه‌خشک جهان مانند ایران مزایای زیادی به‌همراه داشته باشد (Askari & Ehsanzadeh, 2015). اهمیت این موضوع در مباحث مربوط به احیاء دریاچه ارومیه که همواره از تغییر الگوی کاشت به‌عنوان یکی از راهکارهای کاهش مصرف آب در بخش کشاورزی در راستای نجات این دریاچه نام برده می‌شود دوچندان می‌گردد. بنابراین این تحقیق به‌منظور بررسی اثر شرایط تنش کم‌آبی بر پاسخ‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و

میزان فنل کل

برای اندازه‌گیری فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، اقدام به تهیه عصاره الکلی از برگ‌ها گردید. برای این منظور، یک گرم از بافت تر گیاه داخل ۱۰ میلی لیتر متانول ۸۰٪ در هاون چینی به تدریج سائید شد. در ادامه نمونه‌ها به مدت نیم ساعت در دستگاه اولتراسونیک با دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. عصاره‌های تهیه شده درون یخچال (در شرایط تاریکی) نگهداری شدند.

میزان کل ترکیب‌های فنلی با روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد. در این روش ۱۰ میکرولیتر از عصاره متانولی با ۱/۶ میلی لیتر آب مقطر و ۲۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو ۱۰٪ مخلوط شد. بعد از گذشت ۱ تا ۸ دقیقه ۲۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۷٪ به آنها افزوده شد و با آب دی‌یونیزه به حجم ۵ میلی لیتر رسانده شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه میزان جذب آنها در طول موج ۷۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Dynamica مدل Halo DB-20 ساخت کشور ژاپن) قرائت شد. اسید گالیک به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد و میزان ترکیب‌های فنلی گیاه برابر اسید گالیک در یک گرم نمونه تر گیاه اندازه‌گیری گردید (Ebrahimzadeh et al., 2008).

میزان فلاونوئید کل

فلاونوئید کل با استفاده از روش رنگ آمیزی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. یک میلی لیتر عصاره با ۱۵۰ میکروگرم از سدیم نیترات ۵٪ مخلوط شد. بعد از ۵ دقیقه ۳ میلی لیتر از هگزا هیدرات آلومینیوم کلرید ۱۰٪ اضافه شد. بعد از ۵ دقیقه ۱ میلی لیتر NaOH یک مولار به مخلوط اضافه شد و با استفاده از آب مقطر دی‌یونیزه به حجم ۵ میلی لیتر رسانده شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگره داشتن در تاریکی و دمای اتاق، میزان جذب آنها در طول موج ۴۱۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد فلاونوئید از کوئرستین استفاده شد و میزان

۵۰٪ بود و روشنایی مورد نیاز گیاهان نیز با تابش طبیعی آفتاب تأمین می‌شد. حدود ۸ هفته پس از شروع تیمارهای تنشی (زمانی که بیشتر بوته‌ها در مرحله گلدهی کامل بودند) صفات مختلف رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

صفات مورفولوژیکی

از هر واحد آزمایشی پنج بوته به تصادف انتخاب و صفاتی مانند ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و طول شاخه‌های جانبی و عملکرد ماده خشک در گلدان اندازه‌گیری گردید.

محتوای نسبی آب برگ‌ها

برای این منظور از هر واحد آزمایشی، تعدادی برگ سالم و کاملاً توسعه یافته برداشت نموده و دیسک‌هایی به قطر هشت میلی متر از قسمت میانی پهنک آنها تهیه گردید (از هر واحد آزمایشی ۱۰ دیسک برگگی). بلافاصله بعد از تهیه دیسک‌ها، وزن تر آنها اندازه‌گیری شد و بعد به درون لوله‌های آزمایش محتوای آب مقطر انتقال یافتند و به مدت چهار ساعت در داخل یخچال (دمای چهار درجه سلسیوس) نگهداری شدند. پس از گذشت چهار ساعت دیسک‌ها دوباره توزین شده و وزن آماس آنها اندازه‌گیری شد. پس از تعیین وزن آماس، دیسک‌های برگگی در داخل آون (با دمای ۷۵ درجه سلسیوس) به مدت ۴۸ ساعت خشک گردیده و دوباره وزن شدند و در نهایت محتوای نسبی آب برگ‌ها از رابطه زیر محاسبه گردید (Turner, 1981).

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100$$

RWC: محتوای نسبی آب برگ‌ها

FW: وزن تر برگ‌ها

DW: وزن خشک برگ‌ها

TW: وزن آماس برگ‌ها

$100 \times (A_{control} - A_{sample}) / A_{control}$ = درصد مهار

$A_{control}$: جذب محلول بلانک در ۵۱۷ نانومتر

A_{sample} : جذب نمونه در ۵۱۷ نانومتر

رنگدانه‌های فتوستتزی

برای اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید، مقدار ۰/۵ گرم از برگ تر گیاه مرزنجوش در هاون چینی با استون ۸۰٪ به صورت تدریجی سائیده شد. عصاره حاصل به لوله فالكون انتقال داده شده و حجم آن با استون ۸۰٪ به ۱۰ میلی لیتر رسید. محلول حاصل سانتریفیوژ شده و میزان جذب عصاره فوقانی در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Arnon, 1967).

$$a \text{ کلروفیل} = \frac{(12.7 \times A_{663}) - (2.69 \times A_{645})}{1000W} \times V$$

$$b \text{ کلروفیل} = \frac{(22.9 \times A_{645}) - (4.68 \times A_{663})}{1000W} \times V$$

$$\text{کلروفیل کل} = \frac{(20.2 \times A_{645}) + (8.02 \times A_{663})}{1000W} \times V$$

$$\text{کاروتنوئید} = \frac{100(A_{470}) - 3.27(\text{mg CHL } a) - 104(\text{mg CHL } b)}{227}$$

V = حجم محلول صاف شده

A = جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

W = وزن تر نمونه برحسب گرم

ترکیب‌های فنولی گیاه برابر کوئرستین در یک گرم نمونه تر اندازه‌گیری گردید (Agbo et al., 2015).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

به منظور ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نمونه‌های مورد مطالعه، از توانایی هیدروژن‌دهی عصاره‌ها به دلیل بی‌رنگ نمودن محلول متانولی ارغوانی رنگ دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده شد. برای این منظور ۱۵ میکرولیتر از عصاره متانولی در لوله های آزمایش ریخته شده و با ۲ میلی لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴٪ DPPH مخلوط گردید. محلول شاهد شامل ۲ میلی لیتر DPPH و ۲ میلی لیتر متانول ۸۰٪ بود. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شدند و بعد در طول موج ۵۱۷ نانومتر میزان جذب آنها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. اعداد قرائت شده از جذب نمونه توسط رابطه زیر به درصد مهار تبدیل شد (Burits & Bucar, 2000).

استخراج و اندازه‌گیری کمی اسانس

برای این منظور، بوته‌ها در مرحله گلدهی کامل برداشت شده و در دمای اتاق (حدود ۲۵ درجه سلسیوس) و در شرایط سایه خشک گردیدند و بعد به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر، عمل استخراج اسانس انجام شد. محتوای اسانس برحسب میلی لیتر در ۱۰۰ گرم ماده خشک و عملکرد اسانس نیز براساس مجموع وزن خشک ۹ بوته (عملکرد ماده خشک در گلدان) و برحسب میلی لیتر در گلدان محاسبه و گزارش گردید.

داده‌های بدست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که سطوح مختلف تنش خشکی اثر معنی‌داری بر ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و طول شاخه‌های جانبی، عملکرد ماده خشک در گلدان، محتوای نسبی آب برگ، فنل و فلاونوئید کل، فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی، کلروفیل a، b و کل، درصد و عملکرد اسانس در سطح ۱٪ داشته است ولی تأثیر آن بر میزان کاروتنوئید معنی‌داری نبود.

صفات رویشی اندازه‌گیری شده شامل ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و طول شاخه‌های جانبی تحت تأثیر تنش خشکی دچار کاهش گردیدند، به‌طوری‌که بیشترین و کمترین مقدار هر یک از صفات رویشی ذکر شده به ترتیب در تیمارهای ۱۰۰٪ و ۴۰٪ ظرفیت زراعی مشاهده گردید (جدول ۲). همچنین اگرچه میزان عملکرد ماده خشک در گلدان تحت تأثیر تنش خشکی کاهش یافت اما فقط اختلاف تیمار شاهد (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) با سایر تیمارها معنی‌دار بود. به‌طوری‌که میزان عملکرد ماده خشک در گلدان در تیمارهای ۸۰٪، ۶۰٪ و ۴۰٪ ظرفیت زراعی به ترتیب ۴۰/۵۹، ۴۱/۸۸ و ۶۶/۴۷٪ نسبت به تیمار ۱۰۰٪

ظرفیت زراعی کاهش داشته است (جدول ۲).

مقایسه میانگین محتوای نسبی آب برگ‌ها (RWC) نشان می‌دهد که با تشدید تنش خشکی میزان RWC کاهش یافته است، به‌طوری‌که بیشترین میزان RWC (۸۲/۸٪) در تیمار ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (شاهد) و کمترین میزان RWC (۶۸/۳۳٪) در تیمار ۴۰٪ ظرفیت زراعی (تنش خشکی شدید) مشاهده گردید (جدول ۲).

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، مقادیر فنل و فلاونوئید کل و نیز فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی قرار گرفته و با تشدید تنش خشکی مقادیر آنها افزایش یافت. در مورد فنل کل ملاحظه گردید که با وجود افزایش این صفت تحت تأثیر تشدید خشکی، اختلاف بین تیمارهای ۴۰، ۶۰ و ۸۰٪ ظرفیت زراعی معنی‌دار نبود (جدول ۲).

با افزایش سطوح خشکی، میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل روند کاهشی به خود گرفته است. بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل به ترتیب با میانگین ۰/۲۴۵، ۰/۱۵۸ و ۰/۵۰۳ میلی گرم بر گرم وزن تر در تیمار ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (شاهد) و کمترین آنها به ترتیب با میانگین ۰/۱۳۷، ۰/۰۶۲ و ۰/۱۹۹ میلی گرم بر گرم وزن تر در تیمار ۴۰٪ ظرفیت زراعی (تنش خشکی شدید) مشاهده گردید (جدول ۲).

طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲)، با تشدید تنش خشکی تا حد ۶۰٪ ظرفیت زراعی، درصد اسانس افزایش یافت؛ به‌طوری‌که بیشترین (۱/۵۴ میلی لیتر در ۱۰۰ گرم ماده خشک) و کمترین (۱/۱۶ میلی لیتر در ۱۰۰ گرم ماده خشک) درصد اسانس به ترتیب در تیمارهای ۶۰٪ و ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی بدست آمد. در مورد عملکرد اسانس نیز مشاهده گردید که با تشدید تنش خشکی مقدار این صفت کاهش می‌یابد؛ هرچند که اختلاف بین تیمارهای ۱۰۰٪ و ۶۰٪ ظرفیت زراعی معنی‌دار نبود.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه مرزنجوش بخارایی تحت تأثیر تنش خشکی

میانگین مربعات															
منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	قطر ساقه	تعداد شاخه‌های جانبی	طول شاخه‌های جانبی	عملکرد ماده خشک در گلدان	محتوای نسبی آب برگ (%)	فنل کل	فلاونوئید کل	فعالیت آنتی‌اکسیدانی نی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	عملکرد اسانس
تنش خشکی	۳	۳۴۳**	۰/۱۱۵**	۱۶۸/۱۹**	۲۱۵۹۶/۵**	۱۳۲/۰۹**	۱۹۱/۳۸**	۱/۶۵**	۰/۰۲۵**	۵۹/۸**	۰/۰۴**	۰/۰۰۸**	۰/۰۸۷**	۰/۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۱۵**
اشتباه آزمایشی	۱۶	۱/۹۳	۰/۰۰۱	۶/۵۰	۴۱۴/۷	۱/۳۶	۷/۱۳	۰/۳۷	۰/۰۰۰۸	۱/۲۶	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۹	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۷
ضریب تغییرات (%)		۴/۱۱	۳/۴۶	۱۰/۶۶	۱۴/۰۱	۹/۹۷	۳/۵۹	۱۳/۴۲	۶/۷	۱/۵۳	۶/۷	۹/۲۱	۱۲/۵۷	۱۴/۰۱	۱۸/۲۶

** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و غیر معنی‌دار

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه مرزنجوش بخارایی تحت تأثیر تنش خشکی

صفات تنش خشکی	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	قطر ساقه (میلی‌متر)	تعداد شاخه‌های جانبی	طول شاخه‌های جانبی (سانتی‌متر)	عملکرد ماده خشک در گلدان (گرم)	محتوای نسبی آب برگ (%)	اسید در گرم ماده (تر)	فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین در گرم ماده)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (%)	کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم ماده تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم در گرم ماده تر)	کلروفیل کل (میلی‌گرم در گرم ماده تر)	درصد اسانس (میلی‌لیتر در گلدان)	عملکرد اسانس
۱۰۰ FC	۴۳/۶۱a	۲/۶۳a	۲۹/۷۵a	۲۴۴/۵۳a	۱۸/۶۷a	۸۲/۸a	۳/۹۱b	۰/۳۳c	۶۹/۴۷d	۰/۳۴۵a	۰/۱۵۸a	۰/۵۰۳a	۱/۱۶b	۰/۲۱a	
۸۰ FC	۳۸/۷۴b	۲/۱۴b	۲۴/۹۳b	۱۳۵/۸۴b	۱۱/۰۹b	۷۴/۸b	۴/۲۴ab	۰/۴۰b	۷۲/۰۲c	۰/۲۷۴b	۰/۱۲۵b	۰/۳۹۹b	۱/۲۸ab	۰/۱۴b	
۶۰ FC	۲۹/۲۸c	۲/۰۷b	۲۵/۶۳b	۱۳۸/۴۴b	۱۰/۸۵b	۷۱/۷bc	۴/۷۸ab	۰/۴۴b	۷۵/۰۸b	۰/۱۹۶c	۰/۰۸۹c	۰/۲۸۵c	۱/۵۴a	۰/۱۶ab	
۴۰ FC	۲۳/۵۶d	۱/۶۲c	۱۴/۵۸c	۶۶/۶۸c	۶/۲۶b	۶۸/۳۳c	۵/۲۱a	۰/۵۰a	۷۷/۳۶a	۰/۱۳۷d	۰/۰۶۲d	۰/۱۹۹c	۱/۳۲ab	۰/۰۸c	

حروف مشابه در مقابل میانگین‌ها در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ بین آنهاست (آزمون دانکن).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که تنش خشکی بر مؤلفه های رشدی و میزان عملکرد گیاه مرزنجوش بخارایی اثر داشته است، به طوری که با کاهش میزان رطوبت خاک، ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و طول شاخه های جانبی و عملکرد گیاه کاهش یافت. یکی از اولین نشانه هایی که در اثر تنش خشکی بوجود می آید تغییر کمی و کیفی در رشد است. در اثر کمبود آب، تورژسانس سلولی و در نتیجه رشد و توسعه سلول به ویژه در ساقه و برگ ها دچار کاهش می گردد. به همین دلیل، اولین اثر محسوس کم آبی را می توان از اندازه کوچکتر برگ ها یا ارتفاع گیاهان تشخیص داد. به دنبال کاهش سطح برگ، جذب نور نیز کاهش یافته و ظرفیت کل فتوسنتزی گیاه کاهش می یابد و بدیهی است که با محدود شدن فرآورده های فتوسنتزی در این شرایط، رشد گیاه و در نهایت عملکرد آن دچار نقصان می شود (Ashraf & Foolad, 2007). تنش کم آبی رشد گیاه را با تأثیر بر فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مانند فتوسنتز، تنفس، جذب و انتقال یونها، کربوهیدرات ها و متابولیسم عناصر و افزایشده های رشد کاهش می دهد (Jaleel et al., 2009). یکی از عمده ترین تغییرات مسئول کاهش تولید محصول در شرایط کم آبی، پایین آمدن قابلیت فتوسنتز گیاه است. در همین راستا، تنش آبی ممکن است باعث کاهش آسمیلاسیون CO₂ در برگ ها، مقدار ATP و سطح آنزیم ریبولوز بیس فسفات گردد. مقادیر کلروفیل a و b در گیاهان تحت تنش کاهش می یابد و این به طور مستقیم بر تولید بیوماس گیاه اثر می گذارد (Silva et al., 2010). در تحقیق مشابهی، Said-Al Ahl و همکاران (۲۰۰۹) کاهش عملکرد پیکر رویشی مرزنجوش را در اثر تنش آبی به کاهش تاج پوشش و فتوسنتز نسبت دادند. همچنین کاهش وزن خشک گیاه تحت شرایط تنش می تواند ناشی از تخصیص بیشتر بیوماس تولیدی گیاه به سمت ریشه ها در این شرایط باشد (Albouchi et al., 2003). طبق اظهار نظر Singh و همکاران (۱۹۹۷)، برخی از گیاهان در شرایط

تداوم کمبود آب در ناحیه ریزوسفر، از طریق محدود کردن رشد خود به کم آبی سازش می یابند. به طور مشابه، Tátrai و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش نمودند که گیاه آویشن به بهای کاهش رشد، شانس بقای درازمدت در شرایط تنش خشکی را پیدا می کند. در این تحقیق همچنین مشاهده گردید که با تشدید تنش خشکی تعداد و طول شاخه های جانبی کاهش یافت. Hassani (۲۰۰۶) در بادرشبو و Babae و همکاران (۲۰۱۰) در آویشن باغی نیز کاهش میزان شاخه دهی را تحت شرایط تنش خشکی گزارش نموده اند. البته شاخه دهی زیاد تحت شرایط خشکی یک صفت نامطلوب به حساب می آید، زیرا باعث مصرف بیهوده رطوبت خاک و اتلاف آن می گردد. بنابراین محدود شدن شاخه دهی در شرایط خشکی را می توان به عنوان یک سازوکار سازگاری برای گیاه مرزنجوش در نظر گرفت.

نتایج این تحقیق بیانگر کاهش معنی دار میزان RWC برگ های مرزنجوش بخارایی در پاسخ به تنش خشکی می باشد. RWC احتمالاً مناسب ترین روش ارزیابی وضعیت آبی گیاه در ارتباط با پیامدهای فیزیولوژیکی کمبود آب سلولی است. کاهش محتوای نسبی آب، نشان دهنده از دست رفتن تورژسانس است که منجر به محدود شدن آب قابل دسترس برای فرایند توسعه سلولی و در نتیجه کاهش رشد و نمو گیاه می شود (Tátrai et al., 2016). محتوای نسبی آب برگ، اغلب به عنوان شاخص فیزیولوژیکی مناسبی برای ارزیابی میزان تحمل به خشکی در گیاهان مدنظر می باشد. چنین اظهار می شود که بافت هایی که در شرایط محدودیت رطوبت خاک و با وجود کاهش قابلیت آب، قادر به حفظ مقادیر بالاتری از RWC هستند به دهیدراسیون مقاوم ترند. قابلیت بالای نگه داشتن RWC در شرایط افت توان آب بافت ها ممکن است منعکس کننده استحکام بیشتر دیواره های سلولی و توانایی آنها برای تحمل تخریب ها و آسیب های مکانیکی ناشی از تلفات آب بافت ها باشد (Irigoyen et al., 1992). مشابه نتایج این تحقیق، کاهش میزان RWC در اثر تنش خشکی توسط Hazzoumi و همکاران (۲۰۱۵) در

تحقیق Hazzoumi و همکاران (۲۰۱۵) در ریحان، Askari و همکاران (۲۰۱۵) Ehsanzadeh در رازیانه، Tátrai و همکاران (۲۰۱۶) در آویشن و Mohammadi و همکاران (۲۰۱۸) در بابونه آلمانی مطابقت دارد.

طبق نتایج این تحقیق، با کاهش محتوای رطوبت خاک محتوای فنل و فلاونوئید کل و نیز فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه مرزنجوش بخارایی افزایش یافت. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که محتوای کلی متابولیت‌های ثانویه گیاهان در شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابند. به عنوان مثال در گیاه *Lamisia pumila* مقادیر فنل‌ها و فلاونوئیدهای کل در پاسخ به تنش خشکی افزایش یافتند و به دلیل وجود همبستگی خوب بین افزایش میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) و افزایش غلظت فنل‌ها، این محققان نتیجه گرفتند که میزان بیوسنتز ترکیب‌های یادشده در گیاهان تحت تنش خشکی در مقایسه با گیاهان خوب آبیاری شده بشدت افزایش می‌یابد (Jaafar et al., 2012). افزایش فعالیت آنزیم PAL در شرایط تنش ممکن است به‌عنوان شروع فرایندهای سازشی سلول‌ها در برابر تنش آبی قلمداد گردد (Hazzoumi et al., 2015). در کاهو (*Lactuca sativa*) نیز گزارش شده است که تنش آبی می‌تواند ژن مربوط به آنزیم PAL را که در بیوسنتز فنل‌های مختلف و فلاونوئیدها مشارکت دارد فعال نماید (Oh et al., 2009). بسته شدن روزنه‌ها در شرایط کم آبی باعث کاهش جذب دی‌اکسید کربن و در نتیجه کاهش قابل توجه مصرف اکسی‌والان‌های احیاءکننده ($\text{NADPH}+\text{H}^+$) برای تثبیت CO_2 از طریق چرخه کالوین می‌گردد. چنین شرایطی منجر به عرضه مقدار زیادی $\text{NADPH}+\text{H}^+$ و در نتیجه تغییر مسیر فرایندهای متابولیکی به سمت تولید ترکیب‌های به‌شدت احیاء شده مانند ایزوپرنوئیدها، فنل‌ها و آلکالوئیدها می‌گردد (Selmar & Kleinwächter, 2013). طبق نظر Bryant و همکاران (۱۹۸۳)، هنگامی که گیاهان تحت تنش هستند یک جابجایی بین مصرف کربن برای تولید بیوماس یا تشکیل ترکیب‌های ثانویه دفاعی اتفاق می‌افتد. ترکیب‌های ثانویه گیاهی تولید شده در شرایط تنش‌های محیطی مانند فنل‌های

ریحان، Askari و Ehsanzadeh (۲۰۱۵) در رازیانه و Tátrai و همکاران (۲۰۱۶) در آویشن نیز گزارش شده است.

در این تحقیق رنگیزه‌های گیاهی تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفتند؛ به طوری که میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل به موازات افزایش سطح تنش، کاهش معنی داری یافتند، هرچند که در مورد میزان کاروتنوئید تغییر معنی داری مشاهده نگردید. کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش خشکی یک نشانه مشخص از اکسیداسیون نوری رنگدانه‌ها و زوال کلروفیل می‌باشد (Anjum et al., 2011). کاهش محتوای کلروفیل برگ می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز و در نتیجه تخریب کلروفیل از یک سو و ممانعت از تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی از سوی دیگر باشد (Singh & Dubey, 1995). تحریک تولید گونه‌های فعال اکسیژن (مانند رادیکال‌های پراکسید و پراکسید هیدروژن) در اثر تنش خشکی، یکی دیگر از دلایل تخریب و کاهش کلروفیل می‌باشد (Tátrai et al., 2016). کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در اثر تنش خشکی به طور مستقیم می‌تواند باعث کاهش قابلیت فتوسنتز شده و رشد گیاه را محدود سازد (Dashti et al., 2015). تخریب کلروفیل باعث می‌شود که میزان رنگیزه‌های محافظ کلروفیل از جمله کاروتنوئیدها افزایش یابند (Chalker-Scott, 2002). کاروتنوئیدها در این شرایط قادرند انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن یکتایی را به سه‌تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفاء نمایند (Inze & Montagu, 2000). کاروتنوئیدها که نقش اساسی در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه در شرایط تنشی بازی می‌کنند به‌عنوان رنگدانه کمکی برای حفظ عملکرد فتوسنتز ضروری می‌باشند (Silva et al., 2010). در نتیجه گیاهانی که بتوانند کاروتنوئید بیشتری داشته باشند شرایط خشکی و تنش اکسیداتیو ناشی از آن را بهتر تحمل خواهند کرد (Foyer et al., 1998). کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در اثر تنش خشکی که در این تحقیق مشاهده گردید با نتایج

زراعی بود (Gharibi et al., 2016). براساس آنچه گفته شد می توان نتیجه گرفت که انباشت فنل ها و فلاونوئیدها و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی در گیاه مرزنجوش بخارایی نیز در راستای تعدیل اثرهای مخرب تنش اکسیداتیو و افزایش تحمل این گیاه به تنش خشکی انجام شده است.

در این تحقیق، اگرچه درصد اسانس در سطوح ملایم، متوسط و شدید تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش افزایش یافت اما بالاترین درصد اسانس در تنش خشکی متوسط (۶۰٪ ظرفیت زراعی) مشاهده گردید. مشابه نتایج این تحقیق، بالاترین درصد اسانس در گیاهان ریحان (Omidbaigi et al., 2003)، بادرشبو (Hassani, 2006)، انجدان رومی (*Levisticum officinale*) (Akhzari & Pessarakli, 2016) و آویشن (Tátrai et al., 2016) در شرایط تنش خشکی متوسط بدست آمد. پاسخ گیاهان اسانس دار به تنش خشکی در گونه های مختلف متفاوت بوده و بستگی به شدت و طول مدت تنش دارد. به عنوان مثال در گونه ای از آویشن (*T. hyemalis*) سطوح مختلف آبیاری تأثیری بر میزان اسانس نداشته است (Jordan et al., 2003)؛ در حالیکه در گونه دیگری از آویشن (*T. zygis*)، بالاترین درصد اسانس در شرایط آبیاری متوسط بدست آمد (Sotomayor et al., 2004). طبق گزارش Singh و همکاران (۱۹۹۷)، تنش خشکی باعث تحریک فعالیت آنزیم PEP کربوکسیلاز و افزایش تولید اسانس در گونه ای از علف لیمو (*Cymbopogon flexuosus*) گردیده است. آنان افزایش فعالیت این آنزیم را به عنوان یک سازوکار سازگاری برای تداوم آسیمیلایون کربن فتوسنتزی و حفظ وضعیت آبی گیاه در نظر گرفتند. Simon و همکاران (۱۹۹۲) نیز پیشنهاد نمودند که افزایش تراکم غده های مترشحه اسانس در اثر کاهش سطح برگ می تواند توجیه کننده افزایش مقدار اسانس در شرایط خشکی باشد. طبق اظهار نظر Turtola و همکاران (۲۰۰۳)، در شرایط تنش کم آبی به علت کاهش تخصیص فرآورده های فتوسنتزی برای نیازهای رشدی گیاه، میزان تولید ترکیب های ترپنی افزایش یافته و این منجر به انباشت قابل توجه اسانس ها می گردد.

مشتمل شده از فنیل پروپانوئید، فلاونوئیدها، تانن ها و هیدروکسی سینامات استرها، توانایی زدودن گونه های فعال اکسیژن را دارند (Dixon & Paiva, 1995). تولید و انباشت متابولیت های ثانویه به شدت احیاء شده، باعث ممانعت از تولید بیش از حد رادیکال های اکسیژن و در نتیجه آسیب به کلروپلاست و سایر اجزاء سلولی در گیاهان دارویی تحت تنش آبی می شوند (Radacsi et al., 2010). خشکی اغلب باعث تنش اکسیداتیو شده و این شرایط منجر به افزایش مقادیر فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک در گیاهان می گردد. عملکردهای حفاظتی فلاونوئیدها در طول تنش خشکی گزارش گردیده است (Ramakrishna & Ravishankar, 2011). فلاونوئیدها از مهمترین ترکیب های آنتی اکسیدانی هستند که هم رادیکال های آزاد اکسیژن را از بین می برند و هم از تولید بیشتر آنها در گیاه ممانعت می نمایند (Nasibi & Kalantari, 2005). در یک تحقیق گزارش گردیده است که بیوسنتز ترکیب های پلی فنلی و کاروتنوئیدها به دلیل قابلیت جاروب کردن گونه های فعال اکسیژن (ROS) با تحمل به خشکی در ژنوتیپ های متحمل پنبه (*Gossypium hirsutum*) مرتبط بود (Yildiz-Aktas et al., 2009). محتوای کلی ترکیب های فنلی در گونه ای از گل راعی (*Hypericum brasiliense*) نیز در گیاهان تحت تنش خشکی به مراتب بیشتر از گیاهان شاهد بود (De Abreu & Mazzafera, 2005). در تحقیق مشابه دیگری، بررسی اثر تنش آبی بر گونه ای از ریحان (*Ocimum gratissimum*) نشان داد که مقادیر فنل کل در برگ ها و ریشه های گیاهان تحت تنش به ترتیب ۱۰۴٪ و ۹۷٪ نسبت به شرایط بدون تنش افزایش یافت (Hazzoumi et al., 2015). Manukyan (۲۰۱۱) گزارش کرد که تأثیر تنش خشکی بر محتوای پلی فنل ها در بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) و مریم گلسی (*Salvia officinalis*) به طور معنی داری مثبت بود. همچنین بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بر گونه های بومادران (*Achillea* ssp.) نشان داد که سطح تنشی مطلوب برای تولید فنل کل و فلاونوئید، ۵۰٪ ظرفیت

پژوهش در قالب طرح رساله دکتری به شماره ۹۶۰۰۴۴۵۴
قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- Agbo, M.O., Uzor. P.F., Nneji, U.N.A., Odurukwe, C.U.E., Ogbatue, U.B. and Mbaoji, E.C., 2015. Antioxidant, total phenolic and flavonoid content of selected Nigerian medicinal plants. Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences, 14(1): 35-41.
- Akhzari, D. and Pessarakli, M., 2016. Effect of drought stress on total protein, essential oil content and physiological traits of *Levisticum officinale* Koch. Journal of Plant Nutrition, 39(10): 1365-1371.
- Albouchi, A., Bejaoui, Z. and El Aouni M.H., 2003. Influence of moderate or severe water stress on the growth of *Casuarina glauca* Sieb. seedlings. Sécheresse, 14(3): 137-142.
- Andre, C.M., Schafleitner, R., Legay, S., Lefèvre, I., Aliaga, C.A., Nomberto, G., Hoffmann, L., Hausman, J.F., Larondelle, Y. and Evers, D., 2009. Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. Phytochemistry, 70(9): 1107-1116.
- Anjum, S.A., Xie, X.Y., Wang, L.C., Saleem, M.F., Man, C. and Lei, W., 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research, 6(9): 2026-2032.
- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23: 112-121.
- Ashraf, M. and Foolad, M.R., 2007. Roles of glycine, betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206-216.
- Askari, E. and Ehsanzadeh, P., 2015. Osmoregulation-mediated differential responses of field-grown fennel genotypes to drought. Industrial Crops and Products, 76: 494-508.
- Babaee, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S.A.M. and Jabbari, R., 2010. Water deficit effect on morphology, proline content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(2): 239-251.
- Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W.A., Kchouk, M.E. and Marzouk, B., 2009. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. Scientia Horticulturae, 120(2): 271-275.

نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که با کاهش محتوای رطوبت خاک، عملکرد اسانس نیز دچار کاهش گردید. به‌طور مشابه در گیاه رازیانه نیز با وجود افزایش درصد اسانس در شرایط کمبود آب، به علت کاهش عملکرد بذر در اثر خشکی، در نهایت عملکرد اسانس نیز دچار کاهش گردید (Askari & Ehsanzadeh, 2015). کاهش عملکرد اسانس در اثر تنش خشکی در ریحان (Omidbaigi *et al.*, 2003) و بادرشبو (Hassani, 2006) نیز گزارش شده است. عملکرد اسانس تابعی از درصد و عملکرد گیاه است؛ بنابراین اگرچه در این تحقیق، درصد اسانس در شرایط تنش خشکی افزایش یافت اما به دلیل اثرهای زیان‌آور تنش کم‌آبی بر رشد و عملکرد پیکر رویشی، در مجموع عملکرد اسانس نیز کاهش نشان داد.

به‌عنوان نتیجه‌گیری نهایی باید گفت که نیاز شدید به توسعه تولید گیاهان دارای کارایی مصرف آب بالا در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان برای مقابله با کمبود آب در حال توسعه یک ضرورت است. در همین راستا و با هدف تغییر الگوی کاشت، کاهش مصرف آب در بخش کشاورزی و کمک به احیاء دریاچه ارومیه، امکان توسعه کشت گیاه دارویی مرزنجوش بخارایی در شرایط کم‌آبی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که با وجود کاهش عملکرد این گیاه در اثر کم‌آبی، تفاوت بین سطوح خشکی ملایم تا شدید از این نظر معنی‌دار نبود. از سوی دیگر افزایش معنی‌دار درصد اسانس (به‌ویژه در تنش خشکی متوسط)، فنل و فلاونوئید کل (به‌ویژه در تنش خشکی شدید)، به‌عنوان ترکیب‌های دارای ارزش غذایی و دارویی بالا، در پاسخ به تنش خشکی می‌تواند کاهش عملکرد ناشی از خشکی را از دیدگاه بهره‌برداری دارویی از این گیاه جبران نماید. ضمن اینکه جبران کاهش عملکرد این گیاه از طریق افزایش تراکم کاشت در شرایط کم‌آبی می‌تواند موضوع تحقیقات آینده باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مسئولان محترم صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور به‌دلیل حمایت مالی از این

- Jaafar, H.Z.E., Ibrahim, M.H. and Mohamad Fakri, N.F., 2012. Impact of soil field water capacity on secondary metabolites, phenylalanine ammonia-lyase (PAL), malondialdehyde (MDA) and photosynthetic responses of Malaysian Kacip Fatimah (*Labisia pumila* Benth). *Molecules*, 17(6): 7305-7322.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H.J., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R., 2009. Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11: 100-105.
- Jordan, M.J., Martinez, R.M., Cases, M.A. and Sotomayor, J.A., 2003. Watering level effect on *Thymus hyemalis* Lange essential oil yield and composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18): 5420-5427.
- Kafi, M., Borzooee, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masoumi, A. and Nabati, J., 2009. *Physiology of Environmental Stresses in Plants*. Jahad Daneshgahi Press, 502p.
- Kokkini, S., 1997. Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. Proceeding of the IPGRI International Workshop on Oregano, CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy, 8-12 May.
- Lawlor, D.W. and Cornic, G., 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Environment*, 25(2): 275-294.
- Manukyan, A., 2011. Effect of growing factors on productivity and quality of lemon catmint, lemon balm and sage under soilless greenhouse production. I: Drought stress. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 5: 119-125.
- Maroofi, H., 2005. Final report of collection and identification of the flora of Kurdistan province and establishment of the provincial herbarium (phase 2), Research Institute of Forests and Rangelands, 249p.
- Mohammadi, H., Esmailpour, M., Ghorbi, S. and Hatami, M., 2018. Physiological and biochemical changes in *Matricaria chamomilla* induced by *Pseudomonas fluorescens* and water deficit stress. *Acta Agriculturae Slovenica*, 111(1): 63-72.
- Moradi, M., Hassani, A., Sefidkon, F. and Maroofi, H., 2015. Chemical composition of leaves and flowers essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *gracile* growing wild in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(1): 242-247.
- Nasibi, F. and Kalantari, K.H. 2005. The effects of UV-a, UV-b and UV-c on protein and ascorbate content, lipid peroxidation and biosynthesis of
- Bryant, J.P., Chapin, F.S.I. and Klein, D.R., 1983. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*, 40: 357-368.
- Burits, M. and Bucar, F., 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14(5): 323-328.
- Chalker-Scott, L., 2002. Do anthocyanins function as osmoregulator in leaf tissues?. *Advances in Botanical Research*, 37: 103-127.
- Dashti, M., Kafi, M., Tavakkoli, H. and Mirza, M., 2015. Investigation on some morphophysiological indices in *Salvia lerifolia* Benth. under water deficit stress. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 13(2): 298-307.
- De Abreu, I.N. and Mazzafera, P., 2005. Effect of water and temperature stress on the content of constituents of *Hypericum brasiliense* choisy. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43: 241-248.
- Dixon, R.A. and Paiva, N.L., 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7: 1085-1097.
- Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J., Hamidian, A. and Jafari, M., 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sellowiana* fruits peel and leaves. *Pharmacologonline*, 1: 7-14.
- Foyer, C.H., Valadier, M.H., Migge, A. and Becker, T.W., 1998. Drought induced effects on reductase activity and mRNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves. *Plant Physiology*, 117: 283-292.
- Gharibi, S., Tabatabaei, B.E., Saeidi, G. and Goli, S.A., 2016. Effect of drought stress on total phenolic, lipid peroxidation, and antioxidant activity of *Achillea* species. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178(4): 796-809.
- Hassani, A., 2006. Effect of water deficit stress on growth, yield and essential oil content of *Dracocephalum moldavica*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 22(3): 256-261.
- Hazzoumi, Z., Moustakime, Y., Elharchli, H. and Joutei, K.M., 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and water stress on growth, phenolic compounds, glandular hairs, and yield of essential oil in basil (*Ocimum gratissimum* L.). *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2: 1-11.
- Irigoyen, J.J., Einerich, D.W. and Sánchez-Díaz, M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84: 55-60.
- Inze, D. and Montagu, M.V., 2000. *Oxidative Stress in Plant*. Tj International Ltd, Padstow, Cornwall, Great Britain, 321p.

- essential oil content and composition of sweet basil. *Journal of Essential Oil Research*, 4(1): 71-75.
- Singh, A.K. and Dubey, R.S., 1995. Changes in chlorophyll a and b contents and activities of photosystems I and II in rice seedlings induced by NaCl. *Photosynthetica*, 31: 489-499.
 - Singh, M., Ganesha-Rao, R.S. and Ramesh, S., 1997. Irrigation and nitrogen requirement of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* (Sleud) Wats) on a red sandy loam soil under semiarid tropical conditions. *Journal of Essential Oil Research*, 9(5): 569-574.
 - Spada, P. and Perrino, P., 1996. Conservation of oregano species in national and international collections: an assessment. *Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy, 8-12 May*: 14-23.
 - Sotomayor, J.A., Martinez, R.M., Garcia, A.J. and Jordan, M.J., 2004. *Thymus zygis* subsp. *gracilis*: watering level effect on phytomass production and essential oil quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(17): 5418-5424.
 - 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.
 - Turner, N.C., 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil*, 58: 339-366.
 - Turtola, S., Manninen, A.M., Rikala, R. and Kainulainen, P., 2003. Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, 29: 1981-1985.
 - Yildiz-Aktas, L., Dagnon, S., Gurel, A., Gesheva, E. and Edreva, A., 2009. Drought tolerance in cotton: Involvement of non-enzymatic ROS-scavenging compounds. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195(4): 247-253.
 - screening compounds in *Brassica napus*. *Iranian Journal of Science and Technology*, 29(1): 39-48.
 - Oh, M.M., Trick, H.N. and Rajashekar, C.B., 2009. Secondary metabolism and antioxidants are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce. *Journal of Plant Physiology*, 166: 180-191.
 - Omidbaigi, R., 1997. *Approaches to Production and Processing of Medicinal Plants (Vol 2)*. Tarrahan Nashr, Mashhad, Iran, 424p.
 - 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.
 - Radacsi, P., Inotai, K., Sarosi, S., Czovek, P., Bernath, J. and Nemeth, E., 2010. Effect of water supply on the physiological characteristics and production of basil (*Ocimum basilicum* L.). *European Journal of Horticultural Science*, 75: 193-197.
 - Ramakrishna, A. and Ravishankar, G.A., 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior*, 6(11): 1720-1731.
 - Said-Al Ahl, H.A.H., Omer, E.A. and Naguib, N.Y., 2009. Effect of water stress and nitrogen fertilizer on herb and essential oil of oregano. *International Agrophysics*, 23(3): 269-275.
 - 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.
 - Silva, E.N., Ribeiro, R.V., Ferreira-Silva, S.L., Viegas, R.A. and Silveira, J.A.G., 2010. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. *Journal of Arid Environments*, 74(10): 1130-1137.
 - Simon, J.E., Bubenheim, R.D., Joly, R.J. and Charles, D.J., 1992. Water stress-induced alterations in

Effect of drought stress on some morphophysiological and phytochemical characteristics of oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *gracile*)

A. Minaei¹, A. Hassani^{2*}, H. Nazemiyeh³ and S. Besharat⁴

1- Ph.D. student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

2*- Corresponding author, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

E-mail: a.hassani@urmia.ac.ir

3- Research Center for Pharmaceutical Nanotechnology, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

4- Department of Water Engineering, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

Received: September 2018

Revised: January 2019

Accepted: January 2019

Abstract

To study the effect of different levels of drought stress on growth, yield and some physiological and phytochemical characteristics of oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *gracile*), a pot experiment, in a randomized complete design with four treatments and five replications, was conducted. Drought stress treatments were 100% (non-stress), 80%, 60% and 40% of field capacity. The results showed that drought stress had significant effect on growth parameters, dry herb yield, leaf relative water content (RWC), total phenol and flavonoid content, antioxidant activity, a, b and total chlorophyll content, essential oil content and yield. There was no significant difference between drought stress treatments for carotenoids. As the soil water content decreased, plant height, stem diameter, number and length of axillary shoots, dry herb yield, RWC, a, b and total chlorophyll content and essential oil yield decreased, but total phenol and flavonoid content, antioxidant activity and essential oil content increased. Despite the decrease in dry herb yield, the difference between 80%, 60% and 40% treatments was not significant. The highest essential oil content (1.54 ml/100 g DW) was observed in 60% of field capacity and the highest amounts of total phenol (5.21 mg gallic acid/g FW), total flavonoid (0.5 mg quercetin/g FW) and antioxidant activity (77.36%) were obtained in 40% of field capacity. The highest percentage of essential oil (54.1 mg / g dry matter) was observed in 60% of treatment capacity and the highest amount of total phenol (0.51 mg gallic acid per gram of fresh material), total flavonoid (0.5 mg Gram quercetin in grams of fresh milk) and antioxidant activity (37.36%) in 40% of treatment capacity.

Keywords: Water deficit stress, antioxidant compounds, yield, leaf relative water content, oregano.