Archive of SID

فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، شماره پیاپی 8، سال دوم، شماره 4، زمستان 1393

بررسی اثر تنش‌های خشکی و شوری بر میزان ترکیبات فنلی گیاه دارویی *Thymus vulgaris* L.

افسانه صیادی[1]، جعفر احمدی[2و4*]، بهور اصغری[3]، سیدمحسن حسینی[3]

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

[2] دانشیار، گروه تولید و اصلاح نباتات، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)

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

تاریخ دریافت: 93/7/29 ؛ تاریخ پذیرش: 93/10/9

چکیده

ترکیبات فنلی گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) از جمله مهم‌ترین فرآورده‌های آنتی اکسیدانی آن می‌باشد که در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار میگیرد. بدین منظور در این تحقیق تغییرات کمی ترکیبات فنلی گیاهدارویی آویشنتحت تنش خشکی و شوری مورد بررسی قرار گرفت. این تحقیقدر سال 1392در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه و آزمایشگاه دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) اجرا گردید. عصاره‌گیری به روش ماسراسیون انجام گرفت و ترکیبات فنلی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری گردید. نتایج آزمایش نشان داد که تنش شوری و خشکی اثر معنی‌داری ($P\leq 1\%$) در میزان تیمول و سایر ترکیبات فنلی دارند. در تنش خشکی مقادیر وانیلیک اسید، تیمول، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، پاراکوماریک اسید، فرولیک اسید وسالیسیلیک اسید به‌ترتیب 189، 48، 144، 158، 153، 137 و 84 درصد نسبت به شرایط بدون تنش (شاهد) افزایش نشان دادند. مقدار ترکیبات بررسی شده در اثر تنش شوری نیز تغییراتی نشان داد اما این تغییرات در مقایسه با تنش خشکی قابل توجه نبود. بیشترین افزایش در تنش شوری مربوط به ترکیب رزمارینیک اسید بود که نسبت به شاهد افزایش 36/3 درصدی را نشان داد.

واژگان کلیدی: آویشن، ترکیبات فنلی، تنش خشکی، تنش شوری، کروماتوگرافی

* نویسنده مسئول: njahmadi910@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

یکی از مهم‌ترین زمینه‌های تحقیقی در مورد گیاهان دارویی، بررسی شرایط مختلف محیطی تأثیرگذار بر میزان عملکرد کمی و کیفی این گیاهان است. شاید بتوان گفت یکی از مهم‌ترین دغدغه‌های تولیدکنندگان گیاهان دارویی علاوه بر میزان کمی محصول، تولید گیاهی با کیفیت بالا است. از آنجا که هدف نهایی از کشت گیاهان دارویی استفاده از مواد مؤثره موجود در آن‌ها است و مسلماً هر چه مقدار این مواد مؤثره و متابولیت های ثانویه در واحد وزن گیاه بیشتر باشد از نظر اقتصادی نفع بیشتری حاصل خواهد شد.

بنابراین بررسی و به دست آوردن بهترین شرایط محیط کشت که بتواند منجر به تولید گیاهی با بیشترین درصد متابولیت‌های ثانویه گردد از مهم‌ترین اهداف در تحقیقات مربوط به کشت گیاهان دارویی می‌باشد (Jaafar *et al*., 2012). آویشن (*Thymus vulgaris* L.) از خانواده نعناعیان گیاهی بوته‌ای و چندساله است که دارای ساقه‌ای مستقیم، علفی یا چوبی و پوشیده از کرک‌های سفید رنگ می‌باشد و در حال حاضر در بسیاری از نقاط دنیا از جمله ایران کشت و تولید می‌شود (Omidbaigi, 2000). یکی از با ارزش‌ترین فرآورده‌های به دست آمده از این گیاه اسانس آن است که از جمله 10 اسانس معروف و پرکاربرد دنیاست (Zargari, 1990).از اسانس گیاه آویشن می‌توان به فعالیت‌های ضد اسپاسم، آنتی اکسیدانتی، ضد باکتری، ضد قارچی، ضد رماتیسم، ضد حشره و غیره اشاره کرد (Zeghad and Merghan, 2013; Szczepanik *et al*., 2012). همچنین گزارشات فراوانی از انواع خواص بیولوژیکی و دارویی ترکیبات فنلی وجود دارد که از جمله آنها می توان به خواص آنتی‌اکسیدانتی، ضدسرطانی، ضدباکتری، ضدویروسی، ضدالتهابی و غیره اشاره کرد (Baidez *et al*., 2007; Huang *et al*., 2009).

تحقیقات نشان داده که یکی از مهمترین عوامل تأثیرگذار در میزان متابولیت‌های ثانویه موجود درگیاهان، تنش های محیطی اعمال شده بر آن‌ها است. در حقیقت یکی از با اهمیت‌ترین وظایف متابولیت های ثانویه در گیاهان نقش محافظتی آن‌ها در شرایط تنش است. این ترکیبات به گیاهان کمک می‌کنند تا بتوانند در مقابل عوامل مزاحم خارجی (مانند آفاتوپاتوژن‌ها) و شرایط نامساعد محیطی (مانند خشکی و یا شرایط نامساعد خاک) مقاومت کنند و به حیات خود ادامه دهند. شواهد زیادی بر افزایش چند برابری متابولیت های ثانویه تحت تنش‌های محیطی وجود دارد، اما برخی تحقیقات نیز نشان می‌دهد که این تأثیر همیشگی نیست و در مواردی حتی کاهش میزان متابولیت‌های ثانویه تحت شرایط تنش‌های محیطی دیده می‌شود (Ramakrishna and Ravishankar *et al*., 2011). تنش‌های محیطی از عوامل اصلی کاهنده رشد و عملکرد گیاهان زراعی به شمار می‌آیند و همواره امنیت غذایی انسان‌ها را تهدید می‌کنند. از جمله این تنش‌ها، تنش‌خشکی و شوری را می توان نامبرد که از عمده‌ترین خطرات برای تولید موفق محصولات زراعی در ایران و جهان هستند (Bartls and Sourer, 2004). کشور ایران بدلیل کمی نزولات جوی در بسیاری از نقاط آن نیاز آبی گیاهان زراعی و باغی را تأمین نمی‌کند و قرار گرفتن گیاهان در معرض تنش کمبود آب به ویژه در برخی مواقع سال امری اجتناب ناپذیر است، ضمن این که کشور ایران به دلیل قرار گرفتن در مناطق خشک و نیمه خشک مستعد خاک‌های شور نیز می‌باشد. به رغم این که در رابطه با اثر تنش آبی و شوری بر محصولات زراعی تحقیقات وسیعی انجام گرفته است، اما متأسفانه رفتار گیاهان دارویی تحت شرایط کم آبی و

www.SID.ir

Archive of SID

شوری به خوبی مطالعه نشده است. با توجه به این موضوع تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر تنش‌های خشکی و شوری بر میزان ترکیبات فنلی گیاه آویشن انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط آزمایش: این تحقیق به صورت یک آزمایش در سال زراعی 92-1391 در گلخانه (کشت گیاهان و اعمال تنش) و آزمایشگاه (اندازه گیری ترکیبات فنلی) دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) قزوین در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) با سه تکرار بر روی گیاه آویشن اجرا گردید. تیمارهای مورد استفاده شامل اعمال تنش خشکی به صورت یک بازه زمانی عدم آبیاری تا ظهور علائم تنش (سه روزه) و تنش شوری با استفاده از محلول نمک Naclبا غلظت 4500ppm به همراه تیمار شاهد (آبیاری معمولی و بدون تنش) بودند.

مواد شیمیایی مورد استفاده: استانداردهای خالص مربوط به مواد اندازه‌گیری شده شامل تیمول، کافئیک اسید،کلروژنیک اسید، پاراکوماریک اسید، وانیلیک اسید ، فرولیک اسید، روتین،سالیسیلیک اسید و رزمارینیک اسید به همراه کلیه حلال‌های مورد استفاده جهت عصاره‌گیری و آنالیز HPLC (اتانول، آب، متانول و اسید سولفوریک) از شرکت‌های Fluka و Merck تهیه شدند.

عصاره‌گیری از نمونه‌ها با روش ماسراسیون: برای آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی جهت عصاره‌گیری ابتدا اندام‌های گیاهی در دمای اتاق و دور از نور خورشید خشک گردیدند. سپس 0/1 گرم از ماده خشک گیاهی که به خوبی در هاون خرد شده بود توسط 20 میلی‌لیتر حلال استخراجی (80 درصد اتانول و 20 درصد آب) تحت عصاره‌گیری قرار گرفت. فرآیند استخراج به مدت 150 دقیقه در دمای 25 درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر ادامه یافت. در نهایت پس از تکمیل فرآیند عصاره‌گیری، محلول با استفاده از کاغذ واتمن صاف گردید و پس از سانتریفیوژ کردن (به مدت 5 دقیقه باسرعت 400 دور بر دقیقه) محلول عصاره به صورتی کاملاً صاف و شفاف به دست آمد. این محلول با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخان خشک گردید و متناسب با وزن عصاره به دست آمده از هر نمونه محلول‌های استوک (1000ppm)، با استفاده از حلال متانول تهیه شد که از این محلول‌ها جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنلی استفاده گردید (Aleksandra *et al*., 2011).

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی با HPLC: برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی از روش کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا (HPLC) استفاده شد. برای این منظور 20 میکرولیتر از عصاره تهیه شده به دستگاه HPLC مدل (KNAUER-Germany) تزریق گردید. این دستگاه مجهز به دتکتورUV مدل K2500 و ستون C_{18} (Vertex) دارای اندازه ذرات 5 میکرومتر، طول 250 میلی‌متر و قطر 4 میلی‌متر بود. شستشوی ستون با استفاده از آب حاوی 0/2 درصد اسیدسولفوریک به‌عنوان حلال A و متانول حاوی 0/2 درصد اسیدسولفوریک به‌عنوان حلال B با شدت جریان 0/5 میلی‌لیتر بر دقیقه به‌صورت گرادیانت انجام گرفت. نحوه تغییر درصد حلال‌ها در طی فرآیند آنالیز با جزئیات کامل در جدول (1) آورده شده است. اندازه‌گیری تیمول در طول موج 280 نانومتر و رزمارینیک اسید، پارا-کوماریک اسید، کافئیک اسید، فرولیک اسید، کلروژنیک اسید، سالیسیلیک اسید، وانیلیک اسید و روتین در طول موج 305 نانومتر انجام شد. آنالیز کیفی هر کدام از ترکیبات مورد نظر با استفاده از مقایسه زمان بازداری پیک‌های موجود در کروماتوگرام با زمان بازداری پیک مربوط به ماده خالص استاندارد انجام گرفت. همچنین جهت آنالیز

www.SID.ir

Archive of SID

کمی ترکیبات فنلی، با تزریق محلول‌های استاندارد با غلظت‌های معین و به دست آوردن سطح زیر پیک هر کدام منحنی کالیبراسیون مربوط به هر ترکیب رسم شد و با استفاده از معادله خطی این منحنی کالیبراسیون، میزان کلی هر کدام از مواد مورد نظر در عصاره‌ها تعیین گردید (Aleksandra *et al*., 2011).

تجزیه آماری داده‌ها: پس از اندازه‌گیری صفات و جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه واریانس صفات و نیز مقایسه میانگین تیمارها به روش دانکن انجام گرفت. کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

جدول 1. نحوه شویش ستون HPLC جهت تعیین میزان ترکیبات فنولی در گیاه داروئی آویشن

محلول B* (درصد)	محلول A* (درصد)	زمان (دقیقه)
20	80	0-6
20-25	80-75	10-6
25	75	14-10
25-30	75-70	14-20
30-45	70-55	20-25
45	55	25 -32
45-90	55-10	32-38
90	10	38 -42
90-20	10-80	42-47
20	80	47 -56

* محلول A : آب اسید سولفوریک 0/2 درصد و محلول B : متانول اسید سولفوریک 0/2 درصد

جدول 2. تجزیه واریانس ترکیبات مختلف گیاه دارویی آویشن تحت تیمارهای شاهد، شوری و خشکی

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)								
		تیمول	کافئیک اسید	کلروژنیک اسید	پارا کوماریک	وانیلیک اسید	فرولیک اسید	روتین	سالیسیلیک اسید	رزمارینیک اسید
تیمار	2	14/1**	52**	5/5**	2232**	5/5**	13/6**	2/02$^{n.s}$	8/2**	0/39**
خطای‌آزمایش	6	0/77	1/02	1/04	3/36	0/03	0/23	0/43	0/22	0/015
ضریب‌پراکندگی(CV٪)		8/05	12/4	8/6	4/52	10/2	11	14/7	11	7

n.s و**: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال 0/01

نتایج

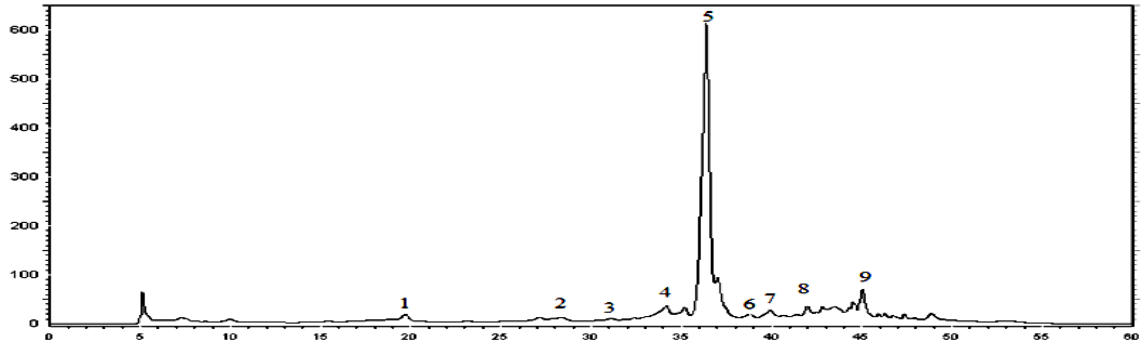
فرآیند اندازه‌گیری ترکیبات فنلی گیاه آویشن توسط دستگاه HPLC انجام گرفت. کروماتوگرام مربوط به عصاره گیاه آویشن تحت تنش خشکی در شکل 1 آورده شده است که در آن پیک مربوط به هر کدام از ترکیبات مورد بررسی مشخص شده است.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنش خشکی و شوری اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ($P\leq 0/01$) بر میزان تیمول و کافئیک اسید در آویشن داشته است (جدول 2). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها نیز از نظر میزان تیمول بین تنش خشکی با شاهد و تنش شوری اختلاف معنی‌داری وجود داشت.

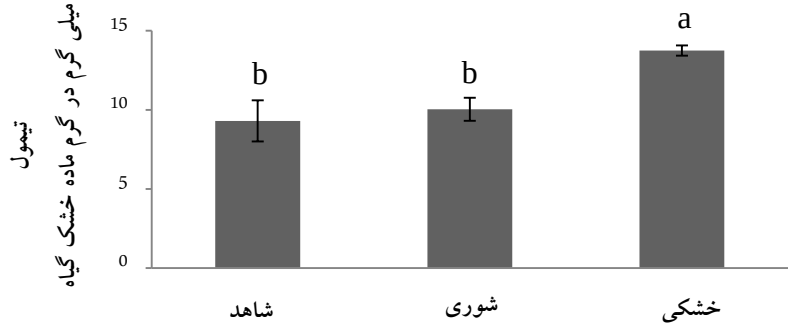
www.SID.ir

Archive of SID

با اعمال تنش خشکی میزان تیمول در گیاه 48 درصد نسبت شاهد افزایش یافت به‌طوری که بیشترین مقدار تیمول (13/75 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه) در تنش خشکی و کمترین آن (9/3 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه) در تیمار شاهد (بدون تنش) مشاهده گردید. بین میزان تیمول در شرایط تنش شوری و شاهد تفاوتی مشاهده نگردید و در یک کلاس آماری قرار گرفتند (شکل 2). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که از نظر میزان کافئیک اسید بین تنش خشکی با شاهد و تنش شوری اختلاف معنی‌داری وجود دارد (شکل 3)، به‌طوری‌که بیشترین مقدار کافئیک اسید با افزایش 144 درصدی(12/89 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه) در تنش خشکی و کمترین آن (5/29 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه) در تیمار شاهد (بدون تنش) مشاهده شد. میزان کافئیک اسید در گیاه‌هایی که تحت تنش شوری قرار گرفته بودند در مقایسه با نمونه‌های شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت.



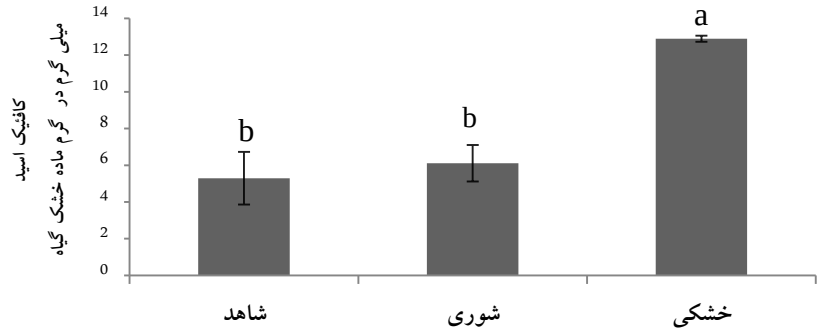
شکل 1. کروماتوگرام مربوط به آنالیز HPLC عصاره‌های گیاه آویشن رشد کرده تحت خشکی برای سنجش ترکیبات فنولی 1) وانیلیک اسید، 2) کلروژنیک اسید، 3) سالیسیلیک اسید، 4) کافئیک اسید، 5) پارا-کوماریک اسید، 6) فرولیک اسید، 7) روتین، 8) رزمارینیک اسید و 9) تیمول.



شکل 2. مقایسه میانگین محتوای تیمول در گیاه آویشن تحت تنش خشکی، شوری و شاهد

www.SID.ir

Archive of SID

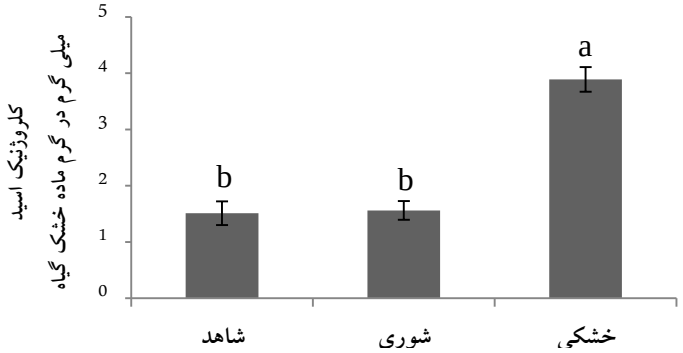


شکل 3. مقایسه میانگین محتوای کافئیک اسید در گیاه آویشن تحت تنش خشکی، شوری و شاهد

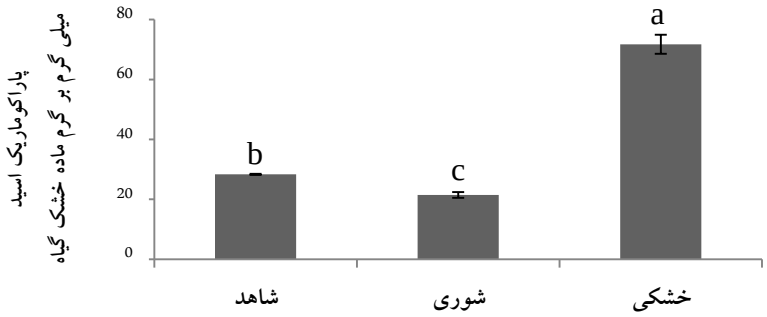
تجزیه واریانس میزان کلروژنیک اسید و پاراکوماریک در گیاه آویشن (جدول2) تحت سه شرایط مختلف در سطح احتمال یک درصد (0/01 ≥P) اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. با مقایسه میانگین میزان کلروژنیک اسید در سه شرایط (شکل 4)، تیمار تنش خشکی در کلاس a و تیمارهای شاهد و شوری بدون اختلاف معنی‌دار در کلاس b قرار گرفتند. به طوری که بیشترینمیزان کلروژنیک اسید تحت تنش خشکی با افزایش 158 درصدی نسبت به شاهد (3/89 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه) و کمترین آن در تیمار بدون تنش (شاهد) با میزان 1/51 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه مشاهده شد. همان‌طوری که در شکل 5 مشاهده می‌شود این اختلاف‌ها به قدری زیاد بود که تیمارها در سه گروه مختلف قرار گرفتند، به صورتی که تیمار خشکی با بالاترین مقدار پاراکوماریک (71/76 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه)و افزایش 153 درصدی نسبت به شاهد در کلاس aو تنش شوری با میزان پاراکوماریک 21/45 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه در کلاس c قرار گرفتند.نتایج نشان داد که بین تیمارها از نظر میزان وانیلیک اسید اختلاف معنی‌داری (0/01 ≥P) وجود دارد(جدول 2). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که تنش خشکی اختلاف معنی‌داری با تنش شوری و تیمار شاهد داشت به طوری که بیشترین مقدار وانیلیک اسید (3/33 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه) در تنش خشکیو کمترینمقدار آن (0/84 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه) در تنش شوری مشاهده گردید (شکل 6). تجزیه واریانس فرولیک اسید نشان داد که اثر تیمار بر میزان فرولیک اسید در آویشن تاثیر معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (0/01 ≥P) داشته است (جدول 2). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش خشکی و شاهد به‌ترتیب دارای بیشترین (6/70 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه) و کمترین (2/83 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه) میزان فرولیک اسید بوده است (شکل 7). میزان فرولیک اسید در شرایط تنش خشکی 137 درصد نسبت به شرایط بدون تنش افزایش نشان داد.نتایج نشان داد که اثر تیمارهای تنشی بر محتوای روتین برخلاف سایر ترکیبات معنی‌دار نبود (جدول 2). بیشترین مقدار روتین (5/03 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه) در تیمار شاهد (بدون تنش) و کمترین مقدار آن (3/51 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه) در تنش شوری مشاهده گردید (شکل 8).

www.SID.ir

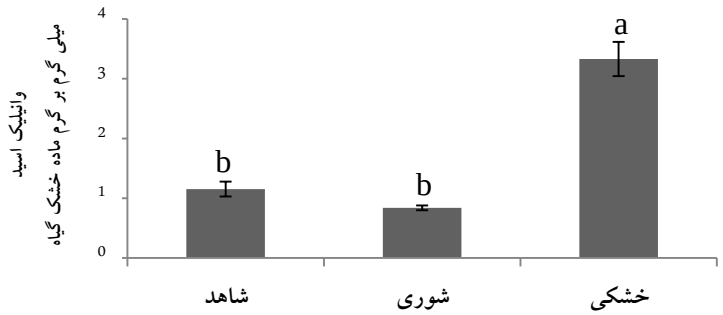
Archive of SID



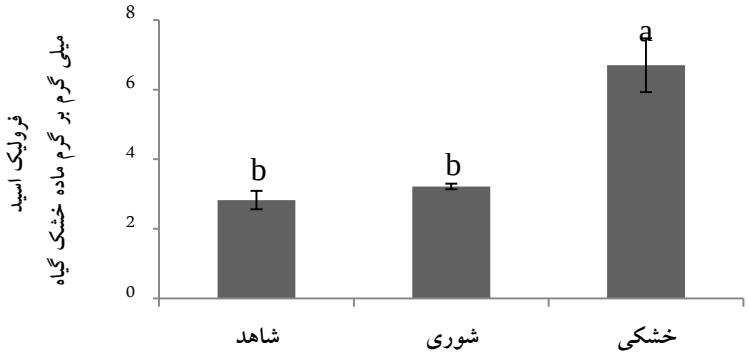
شکل 4. مقایسه میانگین محتوای کلروژنیک اسید در گیاه آویشن تحت تنش خشکی، شوری و شاهد



شکل 5. مقایسه میانگین محتوای پارا-کوماریک اسید در گیاه آویشن تحت تنش خشکی، شوری و شاهد



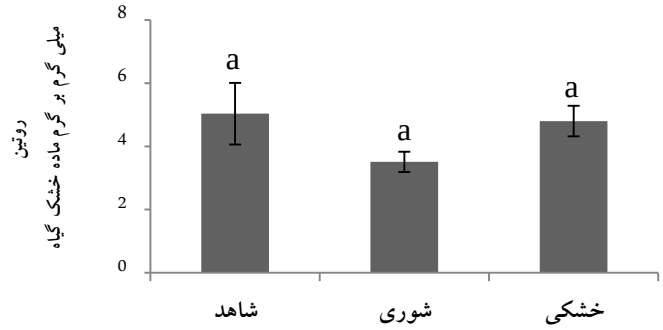
شکل 6. مقایسه میانگین محتوای وانیلیک اسید در گیاه آویشن تحت تنش خشکی، شوری و شاهد



شکل 7. مقایسه میانگین محتوای فرولیک اسید در گیاه آویشن تحت تنش خشکی، شوری و شاهد

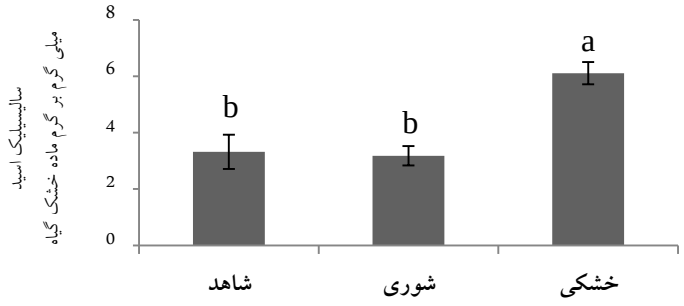
www.SID.ir

Archive of SID

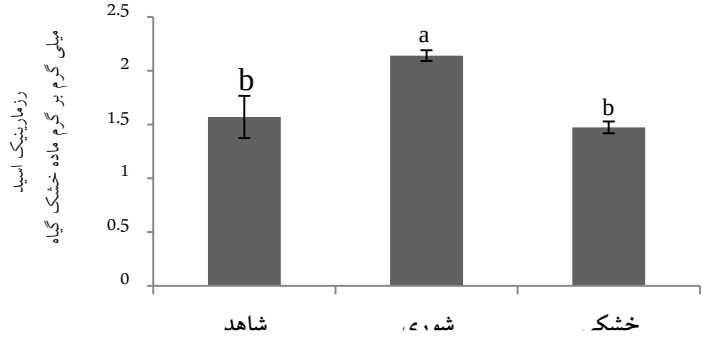


شکل 8. مقایسه میانگین محتوای روتین در گیاه آویشن تحت تنش خشکی، شوری و شاهد

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمارها در آویشن اثر معنی‌داریدر سطح احتمال یک درصد ($P\leq 0/01$) روی میزان سالیسیلیک اسید و محتوای رزمارینیک اسید داشتند (جدول 2). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در تنش خشکی میزان سالیسیلیک اسید نسبت به تیمار شاهد (افزایش 84 درصدی نسبت به شاهد) و تنش شوری نزدیک به دو برابر شده استبه طوری‌که بیشترین مقدار سالیسیلیک اسید مربوط به تنش خشکی با میزان 6/11 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه و کمترین میزان آن 3/18 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه) در تنش شوری مشاهده گردید. بین تیمار شاهد و تنش شوری از نظر میزان سالیسیلیک اسید اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل 9). نتایج مقایسه میانگین نشان داد (شکل 10) که بیشترین و کمترین مقدار رزمارینیک اسید به‌ترتیب در تنش شوری و تنش خشکی بامیزان 2/14 و 1/47 میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه بود. میزان افزایش رزمارینیک اسید در تنش شوری نسبت به شرایط بدون تنش 36/3 درصد بود.



شکل 9. مقایسه میانگین محتوای سالیسیلیک اسید در گیاه آویشن تحت تنش خشکی، شوری و شاهد



شکل 10. مقایسه میانگین محتوای رزمارینیک اسید در گیاه آویشن تحت تنش خشکی، شوری و شاهد

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که تنش آبی بر ترکیبات اندازه‌گیری شده گیاه آویشن اثر معنی‌داری دارد، به‌طوری که تحت تنش خشکی میزان تیمول، کافئیک اسید، فرولیک اسید، پاراکوماریک اسید، کلروژنیک اسید، سالیسیلیک اسید و وانیلیک اسید افزایش داشته است. اما در مورد رزمارینیک اسید و روتین تنش خشکی نه تنها افزایش نشان نداد بلکه در این شرایط کاهش نیز داشته است. بیشترین افزایش به دست آمده در شرایط تحت تنش خشکی نسبت به شاهد مربوط به وانیلیک اسید و به میزان 188/8 درصد بود. در توافق با نتایج این آزمایش، سایر تحقیقات نیز نشان داده‌اندکه تنش آبی سبب افزایشاسانس در پونه کوهی (Dunford and Vazquez, 2005)، مرزه (Ghorbanali, *et al*., 2001)، بادرنجبویه (Aliabadi-Farhani *et al*., 2009)، بابونه کبیر (Saharkhiz *et al*., 2007)، آویشن دنایی (Bahreininejad *et al*., 2013) و آویشن باغی (Eman *et al*., 2008) شده است.آزا و همکاران نیز ضمن بررسی اثر چهار سطح خشکی (فواصل آبیاری 3، 5، 7 و 10 روز) بر گیاه آویشن مشاهده کردند که بالاترین درصد نسبی تیمول در تیمار فاصله‌ی آبیاری 10 روز بدست آمد (Azza *et al*., 2009). همچنین در بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی (100، 85، 70 و 55 درصد ظرفیت زراعی) بر گیاه بابونه آلمانی، بالاترین درصد اسانس مربوط به تیمار 85 درصد ظرفیت زراعی بود (Pirzad *et al*., 2006). تنش خشکی در گیاه *Salvia miltorhiza* سبب افزایش میزان رزمارینیک اسید شد (Shi *et al*., 2007). طبق تحقیقات قربانعلی و همکاران (Ghorbanali, *et al*., 2005) نیز اثر تنش شدید خشکی بر گیاه سویا سبب افزایش معنی‌دار ترکیبات فنلی در برگ‌های سویا رقم گرگان 3 شد.نتایج فوق با نتایج حاصل از تحقیق حاضر بر روی گیاه دارویی آویشن برای ترکیبات تیمول، کافئیک اسید، فرولیک اسید، پاراکوماریک اسید، کلروژنیک اسید، سالیسیلیک اسید و وانیلیک اسید منطبق بود. نتایج حاصل از این تحقیق در مورد میزان روتین و رزمارینیک اسید با نتایج فوق مغایرت دارد در حالی‌که با گزارش Solinas و همکاران بر روی میزان اسانس و ترکیب‌های فنلی در رزماری (Olinas *et al*., 1996) و سیاهدانه (Norozpoor and Rezvani-Moghaddam, 2006) که نسبت به شاهد کاهش گزارش کرده‌اند مطابقت دارد.همچنینگزارشاتی مبنی بر افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه در اثر القای تنش خشکی در گیاهان وجود دارد. گزارش شده است که بیوسنتز این متابولیت‌ها تنها تحت تأثیر ژنتیک گیاه نیست بلکه با توجه به الگوهای محیطی نیز تغییر می‌کند (Aliabadi-Farhani *et al*., 2009). گزارش گردیده که بدلیل کاهش رشد در اثر القای تنش خشکی، تثبیت کربن در طی فتوسنتز صرف تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Turtola *et al*., 2003) و بیشتر متابولیت‌ها درگیاهان تحت تنش در جهت جلوگیری از اکسیداسیون سلولی است (Aliabadi-Farhani *et al*., 2009).

با توجه به اینکه تنش خشکی نتایجی از قبیل بسته شدن روزنه‌ها، کاهش در سرعت انتقال مواد غذایی در گیاهان، کاهش پتانسیل آب در بافت‌های گیاهی، کاهش فتوسنتز، بازدارندگی از رشد، افزایش در تجمع اسید آبسیزیک، پرولین، تشکیل رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو را به همراه دارد، لذا زمانی که گیاهان در شرایط تنش محیطی قرار می‌گیرند از طریق تولید متابولیت‌های ثانویه مختلف خودشان را از این شرایط حفظ می‌کنند.

در این تحقیق مشاهده گردید که اعمال تنش شوری در آویشن سبب افزایش ترکیباتی نظیر تیمول، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، فرولیک اسید و

www.SID.ir

Archive of SID

رزمارینیک اسید شده است که با نتایج حاصل ازسایر گزارشات مطابقت دارد (Udagawa *et al*., 1995; Azza *et al*., 2009). بیشترین مقدار ماده به‌دست آمده نسبت به شاهد در شرایط تنش شوری در رزمارینیک اسید و به میزان 36/3 درصد بود. Udagawa و همکاران گزارش کردند که با افزایش شوری، غلظت و عملکرد اسانس در آویشن افزایش می‌یابد (Udagawa *et al*., 1995). همچنین آزا و همکاران در بررسی گیاه دارویی آویشن مشاهده نمودند که تنش شوری باعث افزایش تیمول در این گیاه شده است (Azza *et al*., 2009).

در آزمایشی بر روی گیاه نعناع که با یک محلول شور آبیاری شده بود مشاهده شد که آب شور باعث کاهش رشدو توقف تشکیل اسانس در گیاه شده است (El-Keltawi and Croteau, 1986). در تحقیق مشابه، El-Keltawi و Croteau اثر شوری آب آبیاری را بر مرزنجوش و گونه‌ای نعناع بررسی کرده و دریافتند که شوری باعث کاهش 20 درصدی عملکرد اسانس می‌شود (El-Keltawi and Croteau, 1987). در تحقیقی بر روی گیاه شوید مشاهده شد که افزایش شوری، غلظت کل اسانس را کاهش داد (Udagawa *et al*., 1995). Ozturk و همکاران بیان کردند که افزایش میزان شوری با کاهش در میزان اسانس بادرنجبویه همراه است (Ozturk *et al*., 2004). در سایر تحقیقاتی که در تنش شوری صورت گرفته است اثرات نامناسب تنش شوری در کاهش عملکرد اسانس در شوید (Riaze *et al*., 2007)، ماده مؤثره کامازولندر گیاه دارویی بابونه (Hornok, 1996) میزان اسانس گیاه رازیانه (Ashraf and Akhtar, 2004) و زنیان (Ashraf and Orooj, 2006)، بر روی تیمول آویشن (Udagawa *et al*., 1995; Babaee *et al*., 2010) گزارش گردیده است.

نتیجه‌گیری نهایی

مطالعات فوق با یافته‌های تحقیق حاضر در مورد پاراکوماریک اسید، روتین، وانیلیک اسید و سالیسیلیک اسید مشابه بود در صورتی که با سایر ترکیبات مغایرت داشت. Prasad و همکاران (1996) نیز اعلام داشتند که شوری محتوای اسانس گونه‌های مختلف نعناع را تحت تأثیر قرار می‌دهد. بنابر گزارش Dow و همکاران (1981) شوری عملکرد اسانس را در گیاهان خانواده‌ی نعناع کاهش می‌دهد و این احتمالاً به دلیل محدود شدن عرضه‌ی سیتوکینین از ریشه‌ها به شاخه‌ها و در نتیجه تغییر نسبت بین سیتوکینین و اسیدآبسیسیک برگ باشد. همچنین کاهش عملکرد اسانس در نتیجه‌ی شوری ممکن است ناشی از اثر زیان آور تنش بر رشد و عملکرد پیکر رویشی گیاه باشد، به عبارت دیگر با کاهش عملکرد پیکر رویشی گیاه آویشن در شرایط شوری، عملکرد اسانس نیز کاهش می‌یابد.به عنوان نتیجه‌گیری نهایی از این آزمایش می‌توان گفت که با ایجاد تنش‌های محیطی امکان افزایش کمی متابولیت‌های ثانویه فراهم می‌شود. همچنین تنش شوری در افزایش ترکیبات موجود در گیاه نقش داشت اما تأثیر آن در مقایسه با تنش خشکی کمرنگ بود.

منابع

1.Aleksandra, C.M., Neda, M.M., Anamarija I. M, Marijana, B.S., Ivan, L.M., and Ivana, J. S.2011. Development of a rapid resolution HPLC methodfor the separation and determination of 17phenolic compounds in crude plant extracts. Central European Journal of Chemistry, 9(1): 133-142.

2.Aliabadi-Farahani, H., Valadabadi, S.A., Daneshian, J., and Khalvati, M.A. 2009. Evaluation changing of essential oil of balm (*Melissa officinalis* L.) under water deficit stress conditions. Journal of Medicinal Plant Research, 3: 329-333.

www.SID.ir

Archive of SID

3.Ashraf, M., and Orooj, A. 2006. Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant ajwain (*Trachyspermum ammi*). Journal of Arid Environments, 64: 209-220.

4.Ashraf, M., and Akhtar, N., 2004. Influence of salt stress on growth, ion accumulation and seed oil content in sweet fennel. Bologia Plantarum, 48(3): 461-464.

5.Azza, A., Ezz El-Din, Eman E., Aziz, S.F., Hendawy and Omer, E.A. 2009. Response of *Thymus vulgaris* L. to Salt Stress and Alar (B9) in Newly Reclaimed Soil. Journal of Applied Sciences Research, 5(12): 2165-2170.

6.Babaee, K., Amin iDehaghi, M., Modares Sanavi, S.A.M., and Jabbari, R. 2010.Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(2): 239-250.

7.Bahreininejad, B., Razmjoo, J., and Mirza, M. 2013. Influence of water stress on morpho-physiological and phytochemical traits in *Thymus daenensis*. International Journal of Plant Production, 7(1):155-166.

8.Baidez, A.G., Gomez, P., Del Rio, J.A., and Ortuno, A. 2007. Dys functionality of the xylem in *Oleaeuropaea L*. plants associated with the infection process by *Verticillium dahliae* Kleb. Role of phenolic compounds in plant defense mechanism. Journal of Agricultural and *Food* Chemistry, 55: 3373–3377.

9.Bartls, D. and Sourer, E. 2004.Molecular responses of higher plants to dehydration. In: Plant Responses to Abiotic Stress, Spring Verlag Berlin, Heildelberg, 9-38.

10.Dow, A.I., Cline, T.A., and Horning, E.V. 1981. Salt tolerance studies on irrigated pepermint. Agricultural Research Center, Washington State University, Bulletin 0906.

11.Dunford, N.T., and Vazquez, R.S. 2005. Effect of water stress on plant growth and thymol and carvacolconcentractions in Mexican oregano grown under controlled conditions. Journal of Applied Horticulture, 7: 20-22.

12.El-Keltawi, N.E., and Croteau, R. 1986. Influence of foliar applied cytokinins on growth and essential oil content of several members of Lamiaceae. Phytochemistry, 26: 891-895.

13.El-Keltawi, N.E., and Croteau, R. 1987. Salinity depression of growth and essential oil formation in spearmint and marjoram and its reversal by foliar applied cytokinin. Phytochemistry, 26:1333-1334.

14.Eman, E., Aziz, S.T., Hendawi, Ezz El Din, A., and Omer, E.A. 2008. Effect of soil type and irrigation intervals on plant growth, essential oil yild and constituents of *Thymus vulgaris*plant. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 4:443-450.

15.Ghorbanali, M., Baher, Z., Mirza, M., and Rezaei, M.B. 2001. Evaluation of some growth parameters and quantitative and qualitative changes in the composition *Saturejasahendica* under different irrigation regimes during the vegetative and reproductive growth stages. Iranian Journal of Pajouhesh & Sazandegi, 52: 40-45.

16.Ghorbanali, M., and Niakan, M. 2005. Evaluation of drought stress effect on soluble sugars content, protein, prolin and phenolic compounds and nitrate reeducates activity in soybean cultivar Gorgan 3, Iranian Journal of Science Education, 1(2): 537-550.

17.Hornok, L. 1996. Essential oil of *Matricaria chamomilla*is affected by irrigation regime and nitrogen in in two cultivars. Journal of American Society of Horticultural Science. 13:169-175.

18.Huang, W.Y., Cai, Y.Z., and Zhang, Y. 2009. Natural phenolic compounds from medicinal Herbs and Dietary Plants: Potential use for cancer Prevention. Nutrition and cancer, 62:1-20.

19.Jaafar, H.Z.E. Ibrahim, M.H. and Fakri, N.F.M. 2012. Impact of soil field water capacity on secondary metabolites, phenylalanine ammonia-lyase (PAL), maliondialdehyde (MDA) and photosynthetic responses of malaysiankacipfatimah (*Labisiapumila*). Molecules. 17: 7305-7322.

20.Norozpoor, G., and Rezvani-Moghaddam, P. 2006. Effect of different irrigation intervals and plant density on oil yield and essences percentage of black cumin (*Nigella sativa*). Iranian Journal of Pajouhesh & Sazandegi, 19(4):133-138.

21. Omidbaigi, R. 2000. Production and processing of medicinal plants. Publications Astan Quds Razavi, Volume III, Second Edition.

22. Ozturk, A., Ipek, A., Unlukara, A., and Gurbuz, B. 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.

www.SID.ir

Archive of SID

of water and nutrionalconditiond on *Rosmarinus officinalis* phenolic fraction and essential oil yield. Rivista Italiana Emergency Preparedness Position on Timeliness, 19: 189-198.

30.Szczepanik, M., Zawitowska, B., and Szumny, A. 2012. Insecticidal activities of *Thymus vulgaris* L. essential oil and its components (thymol and carvacrol) against larva of lesser mealworm, alphitobiusdiaperinuspanzer (coleopteran: tenebrionidae). Allelopathy Journal, 30(1):129-142.

31.Turtola, S., Manninen, A., Rikala, R., and Kainulainen, P. 2003. Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in scots pine and Norway spruce seedling. Journal of Chemical Ecology, 29:1981-1995.

32.Udagawa, Y., Ito, T., Tognoni, F., Namiki, T., Nukaya, A., and Maruo, T. 1995. Some responses of dill (*Anethum graveolens*) and thyme (*Thymus vulgaris*) grown in hydroponics to the concentration of nutrient solution. Acta Horticulture, 396: 203-210.

33.Zargari, A. 1990. Medicinal Plants. Sixth Edition, university of Tehran publisher. 312p.

34.Zeghad, N., and Merghan, R. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of *Thymus vulgaris* L. Medicinal and Aromatic Plant Research Journal, 1(1):5-11.

23.Pirzad, A., Alyari, H., Shakiba, M.R., Zehtab-Salmasi, S., and Mohammadi, A. 2006. Essential oil content and composition of German chamomile (*Matriciria chamomilla* L.) at different irrigation regimes. Agronomy Journal. 5: 451-455.

24.Prasad, A., Anwar, M., Patra, D.D., and Singh, D.V. 1996. Tolerance of mint plants to soil salinity. Journal of Indian Society Soil Science, 44(1):184-186.

25. Ramakrishna, A., and Ravishankar, G.A. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signaling and Behavior, 6: 1720-1731.

26.Riaz, P., Surendra, S., and Harting, H. 2007. Effect of irrigation intervals and splitted nitrogen on carvone content of *Anethum graveolense* L. grown in semi-arid region. Journal of Horticulture Environment Biotechnology, 41(4): 25-30.

27.Saharkhiz, M.J., Omidbaigi, R., and Sefidkon, F. 2007. The effect of different levels of phosphorus and irrigation on secondary metabolites of medicinal plant *Matricaria chamomile*. Iranian of Medicinal Plant Third Conference, Shahed University, 2-3 October.

28.Shi, M., Kwok, K.W., and Wu, J.Y. 2007. Enhancement of tanshinone production in *Salvia miltiorrhiza* Bunge (red or Chinese sage) hairy-root culture by hyperosmotic stress and yeast elicitor. Biotechnology and Applied Biochemistry. 46: 191-196.

29.Olinas, V., Deiana, S., Gessa, C., Bazzoni, A., Loddo, M.A., and Satta, D. 1996. Effect

www.SID.ir