

## تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیک و نمایه متابولیتی مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*) در پاسخ به تنش خشکی

آناهیتا شریعت<sup>۱</sup>، قاسم کریم‌زاده<sup>۲\*</sup>، محمد حسن عصاره<sup>۳</sup> و جواد هادیان<sup>۴</sup>

۱- دانش آموخته دکتری گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲\* - نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

پست الکترونیک: karimzadeh\_g@modares.ac.ir

۳- استاد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

۴- دانشیار، گروه مهندسی کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۱/۲۷

### چکیده

مرزه خوزستانی یکی از نه گونه انحصاری جنس مرزه در ایران محسوب می‌شود که به دلیل داشتن ترکیب فنلی کارواکرول در اسانس و اسیدهای فنلی رزمارینیک و کافئیک در عصاره، دارای اثرات ضد میکروبی قوی می‌باشد که در درمان تعدادی از بیماری‌ها مؤثر است. در این تحقیق، تنش خشکی از طریق روش قطع آبیاری در مرحله گلدهی بر یک کلن از مرزه خوزستانی اعمال شد. نمونه برداری در فواصل سه روز و در پنج مرحله انجام شد و تعدادی از شاخص‌های فیزیولوژیک اندازه‌گیری شد. به منظور استخراج اسانس و تعیین بازده آن از دستگاه کلونجر، برای تعیین درصد ترکیبات موجود در اسانس از دستگاه‌های GC/MS و GC برای تعیین مقدار ترکیبات موجود در عصاره الکلی از دستگاه HPTLC استفاده شد. نمایه متابولیتی تهیه شده بر حسب الگوی زمان بیانگر روند افزایشی- کاهش‌ی برای ترکیبات فنلی و ترین‌هایی مانند تیمول، گاماتریپین، پاراسیمن، کافئیک اسید و رزمارینیک اسید بود. همچنین، تنش خشکی منجر به افزایش معنی‌دار بازده اسانس، قندهای محلول و پرولین و نیز کاهش معنی‌دار شاخص‌های توان آبی برگ، محتوای نسبی آب برگ و رنگیزه‌های گیاهی شد. نمایه متابولیتی مرزه خوزستانی بیانگر راهبردهای بکار گرفته شده این گیاه در ایجاد فنوتیپ‌های بیوشیمیایی مختلف می‌باشد. همچنین از نتایج کاربردی این تحقیق می‌توان به کاربرد اثربخش تنش خشکی قبل از برداشت محصول اشاره کرد که منجر به افزایش کیفی محصول می‌شود. این تحقیق بیانگر اثر تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیک و متابولیسم ثانویه می‌باشد تا در آینده با استفاده از مهندسی متابولیک این گونه با ارزش بتوان تولید ترکیبات مهمی مانند کارواکرول، رزمارینیک اسید و کافئیک اسید را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: مرزه، تنش خشکی، متابولیت‌های ثانویه، بازده اسانس

## مقدمه

مهمترین منابع ژرمپلاسم دنیا دارای ۱۶ گونه از جنس *Satureja* است (Jamzad, 2010). مرزه خوزستانی گیاه انحصاری ایران بوده و مهمترین رویشگاه آن خوزستان و لرستان می‌باشد (Jamzad, 2010) که در کوهپایه‌ها و روی سنگ‌های آهکی شکاف‌دار پراکنش دارد. گونه‌های مختلف مرزه به دلیل داشتن خواص ضد درد، ضد عفونی‌کننده، آنتی‌اکسیدانی، ضد ویروسی، ضد میکربی، ضد قارچی، ضد التهاب و ضد سرطان در درمان بسیاری از ناراحتی‌ها به کار می‌روند (Shariat et al., 2013). گیاه مرزه، گیاهی دگرگشن می‌باشد و در گونه‌های مختلف میزان دگرگرده‌افشانی متفاوت بوده و تا بیش از ۸۰٪ نیز گزارش شده است (Hadian et al., 2010)، بنابراین، می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری کرد که پایه‌های مختلف از نظر ژنتیکی با یکدیگر متفاوت بوده، در نتیجه از نظر تحمل به تنش و تولید متابولیت‌های ثانویه نیز با یکدیگر متفاوت می‌باشند (Weckwerth, 2007). بنابراین اگر هدف از تحقیق بررسی نمایه متابولیتی باشد لازم است از یکسان بودن پایه‌ها اطمینان حاصل کرد که معمولاً بهترین روش تولید کلن می‌باشد.

هدف از انجام این تحقیق، مطالعه اثرات تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیک از جمله روابط آبی، رنگیزه‌های گیاهی، مقدار قندهای محلول، پرولین، ترکیبات موجود در اسانس و عصاره الکلی و نیز بازده اسانس در گیاه مرزه و بررسی اثرات تنش خشکی بر الگوی تغییرات متابولیتی در گیاه تحت تنش در مقایسه با شاهد می‌باشد و نیز تعیین بهترین و مؤثرترین زمان برداشت گیاهان پس از قطع آبیاری است که میزان تولید اسانس به حداکثر خود رسیده باشد.

## مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی و ریزازدیادی به منظور تولید کلن بذره‌های مرزه گونه *Satureja khusetanica* از خرم‌آباد لرستان جمع‌آوری شد. بذرها در گلدان در فضای گلخانه کشت شدند. از آنجایی که در مطالعات متابولومیکس داشتن افراد مشابه یکی از ضروریات می‌باشد در قدم اول از طریق

به‌هر تغییری در شرایط رشدی که باعث تغییر در تعادل متابولیکی شود، تنش اطلاق می‌شود (Mittler, 2006). متابولوم<sup>۱</sup> محتوای متابولیت‌های یک موجود است و مطالعه آن را متابولومیکس<sup>۲</sup> می‌گویند (Weckwerth and Kahl, 2013). متابولومیکس می‌تواند از طریق بررسی ترکیبات مختلفی مانند محصولات ثانویه متابولیسم تنش، مولکول‌های انتقال‌دهنده تنش یا مولکول‌های حاصل از پاسخ به سازش باشد (Shulaev et al., 2008). دستاوردهای اصلی این تکنولوژی، که در حال حاضر در گیاهان کاربرد دارد شامل انگشت نگاری متابولیکی، نمایه متابولیتی و تجزیه هدف می‌باشد. با توجه به سؤال مطرح شده در تحقیق، روش‌های متابولومیکس خاصی استفاده می‌شود (Shulaev, 2006). نمایه متابولیتی از اندازه‌گیری همزمان همه یا یکسری از متابولیت‌ها در نمونه به دست می‌آید و استفاده وسیع در شناسایی الگوهای منشعب حکایت از پاسخ به تنش‌های خاص دارد. چندین تکنیک شامل GC/MS، NMR، کروماتوگرافی مایع- طیف‌سنج جرمی (LC/MS)، الکتروفورز مویی- طیف‌سنج جرمی (CE/MS) و طیف‌سنج FT/IR برای تجزیه نمایه متابولیتی استفاده می‌شود (Sumner et al., 2003; Shulaev, 2006). تاکنون GC-MS بهترین نمایه متابولیتی گیاهان را ارائه داده است و از نظر تکنیکی، اولین تکنیکی است که برای نمایه متابولیتی در گیاهان استفاده شده است (Roessner et al., 2000). تهیه نمایه متابولیتی به دفعات توسط سایر محققان در شرایط تنش خشکی گزارش شده است، از جمله در گیاه *Populus euphratica* (Brosché et al., 2005)، *Lolium perenne* (Foito, 2010) و تعدادی از گونه‌های جنس *Thymus* spp.) (Moradi, 2014) گزارش شده است.

مرزه یکی از مهمترین گیاهان دارویی ایران است که متعلق به خانواده Laminaceae بوده و در حدود ۲۸۴ گونه آن در جهان شناسایی شده است. ایران به‌عنوان یکی از

1 Metabolome  
2 Metabolomics

خشک (Dry weight) و آماس برگ (Turgid mass) (Boyer, 1968). برای اندازه‌گیری میزان کل قندهای محلول از روش آنترن استفاده شد (Irigoyen et al., 1992). محتوی یرولین نیز بر اساس وزن تر با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. رنگدانه‌های گیاهی نیز با استفاده از روش استن استخراج شدند (Jason, 1978). برای استخراج اسانس از روش تقطیر با آب (Clevenger) به مدت سه ساعت استفاده شد. بازده اسانس نیز از درصد اسانس به دست آمده از مقدار ۱۰۰ گرم ماده خشک محاسبه شد.

#### شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس

دستگاه کروماتوگراف گازی (GC): برای تجزیه کروماتوگرافی گازی اسانس، از گاز کروماتوگراف گازی (Varian CP 3800, Varian, USA) مجهز به ستون از نوع DB1 به طول ۲۵ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون به مدت ۱ دقیقه در ۶۰ درجه سلسیوس نگه داشته شد و بعد تا ۲۵۰ درجه سلسیوس با سرعت ۴ درجه بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما نگه داشته شد. دمای قسمت تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۵۰ و ۲۸۰ درجه سلسیوس بود و از گاز نیتروژن با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد.

دستگاه گاز کروماتوگراف- طیف‌سنج جرمی (GC/MS): برای تجزیه اسانس از دستگاه گاز کروماتوگراف کویل شده با طیف‌سنج جرمی (TRACE/DSQ, Thermo Finnigan, USA) مجهز به ستون DB1 به طول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون از ۶۰ تا ۲۵۰ درجه سلسیوس با سرعت ۴ درجه سلسیوس بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰ درجه سلسیوس نگه داشته شد. از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده گردید. پس از آماده‌سازی اسانس و تزریق آن به دستگاه GC

ریزازدیادی اقدام به تولید کلن شد. به منظور ریزازدیادی گونه‌های مرزه، از نهال‌های کشت شده در گلخانه، ریزنمونه تهیه و به آزمایشگاه کشت بافت انتقال داده شد. ریزنمونه‌ها قبل از فصل گلدهی از قسمت‌های مختلف گیاهان که اغلب جوان و عاری از آلودگی و بیماری بودند، تهیه شد. به منظور نوساقه‌زایی از ترکیب هورمونی IBA (۰/۱)، BAP (۰/۳) و Kin (۰/۲) (بر حسب میلی‌گرم بر لیتر) و به منظور ریشه‌زایی از ترکیب هورمونی IBA (۰/۵) و NAA (۰/۵) استفاده شد.

#### القای تنش خشکی در گلخانه

کلن تولید شده بعد از سازگاری و استقرار در گلخانه مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور (گروه تحقیقات زیست فناوری منابع طبیعی) به گلدان‌های ۳۰ کیلوگرمی انتقال داده شده و به مدت سه ماه به طور معمول آبیاری شد. به منظور اعمال تنش خشکی از روش قطع آبیاری در زمان گلدهی استفاده شد و هر سه روز یکبار نمونه‌گیری انجام شد و ویژگی‌های مختلفی اندازه‌گیری شدند. لازم به ذکر است تنش تا روز ۱۵ ادامه داشت ولی با توجه اینکه برگ گیاهان در روز ۱۵ به شدت زرد شده و علائم تنش شدید مشهود شد، تنش قطع شده و نمونه‌برداری ادامه داده نشد. همچنین با توجه به اینکه برای اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیک و متابولومیک لازم است از برگ‌های انتهایی سالمی استفاده شود که متابولیت‌های آن تخریب و تجزیه نشده‌اند، به همین دلیل نمونه‌های روز ۱۵ از آزمایش حذف شده و برای اندازه‌گیری شاخص‌ها از نمونه‌برداری‌های قبلی استفاده شد. رطوبت حجمی خاک با استفاده از دستگاه (TDR Time Domain Reflectometer) هر سه روز یکبار اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری پتانسیل آبی برگ با استفاده از روش غوطه‌وری در مایع (Michel, 1972) انجام گردید. تعیین میزان درصد رطوبت نسبی برگ (Relative Water Content; RWC) نیز با استفاده از فرمول:  $RWC (\%) = \frac{FM - DM}{TM - DM} \times 100$  محاسبه شد که FM، DM و TM به ترتیب عبارتند از: وزن تر (Fresh weight)،

اسید استفاده شد.

تهیه محلول استاندارد: برای استانداردهای هریک از سه اسید مذکور، ابتدا محلولی با غلظت ۱۰۰۰ ppm (۱ میلی گرم بر میلی لیتر متانول) تهیه شد. به منظور رسم منحنی کالیبراسیون، از رقیق کردن محلول‌های فوق با متانول، برای رسیدن به دامنه غلظتی مورد نظر استفاده شد.

#### جداسازی و شناسایی با HPTLC

جداسازی و شناسایی فنولیک اسیدها و ترپنوئید با استفاده از سیستم کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا شامل پیمایشگر به همراه لکه‌گذار لینومات ۵ و نرم‌افزار WinCATs 1.2.2 بوسیله شرکت کاماگ (CAMAG, Muttenz, Switzerland) انجام شد (Reich and Schibli, 2006). صفحات TLC مورد استفاده، سیلیکا ژل ۶۰ اف ۲۵۴ با ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی متر محصول شرکت مرک بود و از اتافک عمودی برای توسعه لکه‌ها استفاده شد.

پس از بهینه‌کردن نسبت حلال‌ها (استن، تولوئن و فرمیک اسید به نسبت‌های ۱:۵:۴) برای فاز متحرک، برای جلوگیری از پهن شدگی در فاز متحرک از لکه‌گذاری باندی استفاده شد. طیف UV مربوط به آنالیت‌های مورد نظر به‌طور جداگانه ثبت شد. برای تجزیه‌های مربوط به رزمارینیک اسید، کافئیک اسید و کارنوزیک اسید طول موج ۳۲۷ نانومتر (Hadian *et al.*, 2010) و برای اورسولیک اسید ۵۱۰ نانومتر در نظر گرفته شد.

تجزیه و تحلیل آماری نتایج صفات فیزیولوژیک، اسانس،

#### HPTLC و GC

نتایج حاصل از اندازه‌گیری خصوصیات فیزیولوژیک، بازده اسانس، مقدار متابولیت‌های کارواکرول، تیمول، پاراسیمن و گاماترینین و نیز اسیدهای رزمارینیک، کافئیک، کارنوزیک و اورسولیک بعد از آزمون نرمال بودن، در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار تجزیه شدند. لازم به ذکر است که برای تجزیه داده‌ها از نرم‌افزارهای Minitab 17 و IBM SPSS Statistics 24 و Excel 2007 استفاده شد.

شرایط مناسب برای بهترین جداسازی به دست آمد. سپس با استفاده از روش کوپل شده کروماتوگرافی گازی با طیف‌سنج جرمی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس شناسایی کمی و کیفی شدند. شناسایی ترکیبات با استفاده از شاخص‌های مختلف از قبیل زمان و شاخص بازداری، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه این طیف‌ها با ترکیب‌های استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه دستگاه GC/MS انجام شد (Adams, 2007). درصد نسبی هریک از ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس با توجه به سطح زیر منحنی آن در کروماتوگرام GC به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ به دست آمد.

#### کمی کردن برخی از ترکیبات حاصل از GC

بعد از شناسایی ترکیبات حاصل از دستگاه GC، مشخص شد که بیشترین درصد ترکیبات اسانس مربوط به چهار متابولیت کارواکرول، تیمول، پاراسیمن و گاماترینین است. در نتیجه به منظور کمی کردن نتایج حاصل از GC، استاندارد متابولیت‌های ذکر شده تهیه و به دستگاه GC در پنج غلظت تریق شد و معادله خط میان مقدار متابولیت‌ها و سطح زیر پیک آنها تعیین شد. بنابراین داده‌های مربوط به چهار ترکیب نامبرده کمی شده و به جای درصد بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در نمایه متابولیتی و نیز تجزیه واریانس به همراه سایر نتایج فیزیولوژیک استفاده شدند.

ارزیابی مقدار فنولیک اسیدها (رزمارینیک اسید و کافئیک اسید) و ترپنوئیدها (اورسولیک اسید و کارنوزیک اسید) با دستگاه HPTLC<sup>۱</sup>

با توجه به نوع متابولیت‌های مورد نظر از دو روش عصاره‌گیری استفاده شد. روش اول بر اساس روش ارائه شده Liang و همکاران (۲۰۰۹) برای اندازه‌گیری اورسولیک اسید استفاده شد. روش دوم نیز بر اساس روش ارائه شده توسط Baskan و همکاران (۲۰۰۷) برای اندازه‌گیری رزمارینیک اسید، کارنوزیک اسید و کافئیک

1 High Performance Thin Layer Chromatography; HPTLC

## نتایج

اثر تنش خشکی بر شاخص‌های فیزیولوژیک میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر شاخص‌های مختلف فیزیولوژیک در جدول ۱ نشان داده شده است. مقایسه روند تغییرات شاخص‌های مختلف در روزهای پس از قطع آبیاری بیانگر تغییرات معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) در تمام شاخص‌های فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده به‌غیر از مقدار کاروتن بود. لازم به‌ذکر است که تنش خشکی اثر معنی‌داری نیز بر مقدار کمی ترکیبات اصلی اسانس (کارواکرول، تیمول، گاماترینین و پاراسیمین) و نیز مقدار کمی ترکیبات موجود در عصاره (رزمارینیک اسید، کافئیک اسید، اورسولیک اسید و کارنوزیک اسید) داشت (جدول ۱). همچنین مقایسه میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری شده فیزیولوژیک به‌روشن دانکن در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری نیز در جدول ۲ نشان داده شده است. دوازده روز بعد از قطع آبیاری، مقدار پتانسیل آبی برگ، رطوبت حجمی خاک و محتوای نسبی آب برگ به حداقل میزان خود رسید. مقدار پتانسیل آبی برگ نیز تا روز دوازدهم تا ۴/۲ برابر مقدار شاهد کاهش یافت، به این ترتیب که از ۰/۷۳- به ۳/۱- مگاپاسکال رسید. رطوبت حجمی خاک نیز از ۲۷/۲ درصد (ظرفیت زراعی خاک) به ۷ درصد در روز آخر کاهش یافت (مشخصات خاک استفاده شده در ضمیمه ۱ ارائه شده است). محتوای نسبی آب برگ نیز تا روز آخر تنش حدود ۱۴ درصد کاهش یافت. مقدار رنگیزه‌های گیاهی در برگ‌های انتهایی (کلروفیل کل، a و b) نیز کاهش معنی‌داری یافتند. اگرچه در مقدار کاروتنوئید تغییر معنی‌داری مشاهده نشد اما بیشترین مقدار بازده اسانس نیز در روز دوازدهم، ۳۶ درصد افزایش یافت. روند تغییرات مقدار ترکیبات موجود در اسانس و عصاره در مبحث نمابه متابولیتی ارائه شده است.

### اثر تنش خشکی بر درصد ترکیبات اسانس

مقایسه میانگین درصد ترکیبات اسانس مرزه

خوزستانی به‌روشن دانکن طی پنج مرحله زمانی بعد از قطع آبیاری در جدول ۳ ارائه شده است. در این جدول نتایج تجزیه واریانس ترکیبات مختلف اسانس، به‌صورت معنی‌داری تفاوت‌ها را برای هر ترکیب نمایش داده است. همانطور که ملاحظه می‌شود از میان ۲۱ ترکیب شناسایی شده، تنها نه ترکیب در پاسخ به قطع آبیاری تفاوت معنی‌داری نشان دادند ( $P < 0.05$ ) و ۱۲ ترکیب تغییر معنی‌داری نشان ندادند ( $P > 0.05$ ) که شامل: - Phellandrene، -Terpineol، -Bisabolene، -Camphene، -Eudesmole، -Carvacrole، -Caryophyllene oxide، -Z، -Z، -Thymol، -Sabinene hydrate، -Linalool، -Terpinolene بودند. همچنین مقدار شش ترکیب - Carvacrol، -Terpineol، -Caryophyllene، -Pinene، -Terpinen، methyl ether و Thymol قبل از اعمال تنش کم بوده ولی در اثر تنش خشکی مقدار آنها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). ترکیب Myrcene در روز ششم به حداکثر مقدار خود رسید و بعد از آن روند کاهشی داشت (جدول ۳). ترکیبات -Pinene، Limonene و p-Cymene در اثر تنش کاهش معنی‌داری داشتند ( $P < 0.05$ ). لازم به‌ذکر است که تجزیه و تحلیل واریانس ترکیبات کارواکرول و تیمول بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک معنی‌دار بود (جدول ۱)، در حالیکه در جدول ۳ که نتایج به‌صورت درصد بیان شده‌اند، معنی‌دار نمی‌باشد. توجیه منطقی این موضوع آن است که دستگاه GC درصد ترکیبات محلول تریق شده را اندازه‌گیری می‌کند. با توجه به اینکه اعمال تیمار خشکی منجر به افزایش بازده اسانس در مقدار مشخص از وزن خشک برگ می‌شود، دستگاه GC قادر نیست این افزایش را نشان دهد و لازم است استاندارد ترکیبات مورد نظر تهیه و بعد از محاسبه معادله خط، کلیه داده‌ها کمی شده و تجزیه و تحلیل واریانس شود.

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*)

منابع تغییر	درجه آزادی	توان آبی برگ (MPa)	رطوبت حجمی خاک (%)	محتوای نسبی آب برگ (%)	کلروفیل کل (mg g <sup>-1</sup> FW)	کلروفیل a (mg g <sup>-1</sup> FW)	کلروفیل b (mg g <sup>-1</sup> FW)	کاروتن (mg g <sup>-1</sup> FW)	قندهای محلول (µg g <sup>-1</sup> FW)	پرویلین (µg g <sup>-1</sup> DW)
مرحله نمونه برداری	۴	۲/۵۸*	۲۰/۹۰**	۱۶۹/۰۹**	۰/۱۷**	۰/۰۹**	۰/۰۳**	۱/۰۹ <sup>ns</sup>	۸۲۸,۹۸۲**	۱۶۴/۱۹**
خطا	۵۰	۰/۶۷	۳/۵۵	۱/۴۳	۰/۰۱	۰/۰۱	۰	۲/۲۷	۴,۴۳۱/۳۵	۰/۰۱۸
ضریب تغییرات (%)		۳۸/۱۹	۱۴/۵۴	۱/۳۷	۴/۷۷	۸/۵۱	۶/۶۷	۱۴/۰۱	۵/۰۹	۱۱/۲۳

<sup>ns</sup>: تفاوت غیر معنی دار (P > 0.05)، \*، \*\*: به ترتیب تفاوت معنی دار (P < 0.05، P < 0.01)

ادامه جدول ۱-

منابع تغییر	درجه آزادی	بازده اسانس (%)	Carvacrole (mg g <sup>-1</sup> DW)	Thymol (mg g <sup>-1</sup> DW)	P-Cymene (mg g <sup>-1</sup> DW)	-Terpinen (mg g <sup>-1</sup> DW)	Rosmarinic acid (mg g <sup>-1</sup> DW)	Caffeic acid (mg g <sup>-1</sup> DW)	Ursolic acid (mg g <sup>-1</sup> DW)	Carnosic acid (mg g <sup>-1</sup> DW)
مرحله نمونه برداری	۴	۱۸/۲۷**	۴۸/۸۴**	۰/۰۰۴**	۰/۰۳**	۰/۲۰**	۱۶۵/۶۹**	۲/۰۷**	۱۶/۶۴**	۰/۶۳*
خطا	۵۰	۰/۰۳۹	۶/۱۶	/۰۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۱	۱/۲۹	۰/۰۳	۰/۲۴	۰/۱۲
ضریب تغییرات (%)		۴/۸۹	۶/۶۸	۱۰/۹۳	۱۹/۸۵	۱۹/۲۱	۹/۴۰	۵/۶۲	۵/۹۰	۴/۲۲

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری شده فیزیولوژیک در زمان‌های مختلف نمونه برداری در طی تنش خشکی به روش دانکن (ارزش‌ها بر اساس میانگین ± خطای استاندارد)

مرحله نمونه برداری	توان آبی برگ (MPa)	رطوبت حجمی خاک (%)	محتوای نسبی آب برگ (%)	کلروفیل کل (mg g <sup>-1</sup> FW)	کلروفیل a (mg g <sup>-1</sup> FW)	کلروفیل b (mg g <sup>-1</sup> FW)	کاروتن (mg g <sup>-1</sup> FW)	بازده اسانس (%)
شاهد	۰/۱۲ <sup>d</sup>	۱۰/۵۳ <sup>d</sup>	۲۷/۲۰±	۰/۶۵ <sup>a</sup>	۹۳/۳۹±	۰/۰۵ <sup>a</sup>	۲/۰۲±	۰/۰۶ <sup>a</sup>
روز ۳	۰/۳۰ <sup>ab</sup>	۰/۹۶ <sup>b</sup>	۱۳/۵۷±	۰/۷۵ <sup>a</sup>	۹۲/۵۱±	۰/۰۵ <sup>b</sup>	۱/۸۶±	۰/۰۳ <sup>ab</sup>
روز ۶	۰/۶۰ <sup>b</sup>	۰/۸۵ <sup>c</sup>	۸/۷۰±	۰/۴۴ <sup>a</sup>	۹۲/۱۵±	۰/۰۶ <sup>bc</sup>	۱/۷۴±	۰/۰۳ <sup>b</sup>
روز ۹	۰/۵۳ <sup>b</sup>	۱/۳۵ <sup>c</sup>	۸/۳۰±	۰/۰۴ <sup>c</sup>	۷۹/۰۰±	۰/۰۷ <sup>a</sup>	۱/۶۴±	۰/۰۳ <sup>b</sup>
روز ۱۲	۰/۵۰ <sup>b</sup>	۰/۳۳ <sup>c</sup>	۷/۰۰±	۰/۰۶ <sup>d</sup>	۷۹/۰۰±	۰/۰۷ <sup>b</sup>	۱/۳۹±	۰/۰۷ <sup>c</sup>

حروف لاتین مشترک در هر ستون، در سطح احتمالی که در جدول قید شده است، از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی دار ندارند. تذکر: مقایسه میانگین سایر صفات فیزیولوژیک در نمایه متابولیتی مرزه خوزستانی (جدول ۴) نمایش داده شده است.

جدول ۳- مقایسه میانگین درصد ترکیبات اسانس مرزه خوزستانی به روش دانکن طی پنج مرحله زمانی بعد از قطع آبیاری

P value	Sig.	روز ۱۲	روز ۹	روز ۶	روز ۳	شاهد	مرحله نمونه برداری
۰/۲۹۹۴	ns	۰/۰۶ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۵ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۱۹ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۰/۲۱ ± ۰/۱۶ <sup>a</sup>	۰/۰۲ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	-Phellandrene
۰/۰۰۰۲	**	۰/۱۶ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۱۲ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۰۶ ± ۰ <sup>c</sup>	۰/۰۸ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۰/۰۴ ± ۰/۰۲ <sup>c</sup>	-Pinene
۰/۰۱۶۸	*	۰/۶۵ ± ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۰/۳۲ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>	۰/۲۵ ± ۰/۱۳ <sup>b</sup>	۰/۱۵ ± ۰ <sup>b</sup>	۰/۱۵ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	-Terpineol
۰/۵۵۷۵	ns	۰/۰۸ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۰۵ ± ۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۰۸ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۰۶ ± ۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۰۴ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	-Bisabolene
۰/۰۰۰۹	**	۰/۳۳ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۰/۲۴ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۲۳ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۱۴ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۰/۱۰ ± ۰/۰۴ <sup>c</sup>	-Caryophyllene
۰/۹۴۹۲	ns	۰/۱۵ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۰/۱۳ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۱۴ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۰/۱۱ ± ۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۱۵ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	-Eudesmole
۰/۰۰۲۴	**	۰/۰۷ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۱ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۱۲ ± ۰ <sup>b</sup>	۰/۱۵ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۰/۲۹ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	-Pinene
۰/۲۸۷۲	ns	۰/۱۳ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۰/۱۱ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۲۰ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۱۰ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۱۲ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	Camphene
۰/۲۸۳۱	ns	۹۰/۴۳ ± ۱/۳۸ <sup>a</sup>	۹۱/۵۵ ± ۱/۰۹ <sup>a</sup>	۹۲/۲۹ ± ۰/۴۳ <sup>a</sup>	۹۲/۶۰ ± ۰/۷۵ <sup>a</sup>	۹۳/۲۰ ± ۰/۱۵ <sup>a</sup>	Carvacrol
۰/۰۴۳۸	*	۰/۲۵ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۰/۲۴ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۱۱ ± ۰/۰۵ <sup>ab</sup>	۰/۰۷ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۱۲ ± ۰/۰۲ <sup>ab</sup>	Carvacrol methyl ether
۰/۶۲۳۹	ns	۰/۱۳ ± ۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۱۱ ± ۰/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۱۶ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۰/۱۴ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۱۲ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	Caryophyllene oxide
۰/۸۷۹۴	ns	۰/۷۳ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۰/۶۹ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۷۴ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۰/۷۱ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۰/۶۹ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	(Z)- Bisabolene
۰/۲۸۴۴	ns	۰/۷۷ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۵۳ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۰/۲۹ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۴۳ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۰/۵۱ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	(Z)-Sabinene hydrate
۰/۳۹۳۵	ns	۰/۳۳ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۰/۴۴ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۳۹ ± ۰/۱۴ <sup>a</sup>	۰/۵۹ ± ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۰/۳۹ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	(E,E)- Farnesene
۰/۰۴۸۷	*	۱/۹۶ ± ۰/۳۴ <sup>a</sup>	۱/۱۸ ± ۰/۰۸ <sup>ab</sup>	۱/۵۵ ± ۰/۳۶ <sup>ab</sup>	۰/۹۸ ± ۰/۱۴ <sup>b</sup>	۰/۷۷ ± ۰/۲۱ <sup>b</sup>	-Terpinene
۰/۰۱۲۲	*	۰/۴۲ ± ۰/۱۱ <sup>bc</sup>	۰/۴۹ ± ۰/۰۵ <sup>bc</sup>	۰/۳۶ ± ۰/۰۴ <sup>c</sup>	۰/۸۱ ± ۰/۲۳ <sup>ab</sup>	۱/۰۴ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	Limonene
۰/۹۷۰۶	ns	۰/۲۸ ± ۰/۱۳ <sup>a</sup>	۰/۳۷ ± ۰/۱۹ <sup>a</sup>	۰/۳۵ ± ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۳۱ ± ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۰/۳۸ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	Linalool
۰/۰۰۴۲	**	۰/۴۹ ± ۰/۰۴ <sup>ab</sup>	۰/۵۰ ± ۰/۰۵ <sup>ab</sup>	۰/۶۲ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۰/۴۲ ± ۰/۰۲ <sup>bc</sup>	۰/۳۱ ± ۰/۰۲ <sup>c</sup>	Myrcene
۰/۰۰۰۷	**	۰/۲ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۰/۲۳ ± ۰/۰۴ <sup>b</sup>	۰/۳۵ ± ۰/۱۵ <sup>b</sup>	۰/۷۲ ± ۰/۱۲ <sup>a</sup>	۰/۹۲ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	p-Cymene
۰/۰۹۱۶	ns	۰/۲۷ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۲۳ ± ۰/۰۴ <sup>b</sup>	۰/۲۱ ± ۰/۰۷ <sup>ab</sup>	۰/۱۴ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۰/۱۱ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>	Thymol
۰/۶۰۳۸	ns	۰/۷۷ ± ۰/۲۵ <sup>a</sup>	۰/۵۳ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۰/۷۲ ± ۰/۲۵ <sup>a</sup>	۰/۴۶ ± ۰/۱۰	۰/۴۸ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	-Terpinolene

حروف لاتین مشترک در هر ستون، در سطح احتمالی که در ستون p-value قید شده است، از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی دار ندارند.

ns: تفاوت غیر معنی دار (P > 0.05), \*: به ترتیب تفاوت معنی دار (P < 0.05), \*\*: تفاوت معنی دار (P < 0.01).

جدول ۴- نمایه متابولیتی مرزه گونه *Satureja khuzistanica* در پاسخ به تنش خشکی (پنج مرحله نمونه برداری پس از قطع آبیاری) مقدار تغییرات نسبت به روز صفر (قبل از شروع تنش) به صورت نسبت بیان شده است.

زمان‌های نمونه برداری (روز)												متابولیت‌ها
۱۲			۹			۶			۳			
x fold change	SE	Average	x fold change	SE	Average	x fold change	SE	Average	x fold change	SE	Average	
۲/۸	۹۸/۰	۱۶۷۰/۹ <sup>b</sup>	۳/۱	۷۳/۹	۱۸۴۸/۷ <sup>a</sup>	۲/۵	۸۰/۶	۱۴۹۴/۴ <sup>c</sup>	۱/۶	۱۹/۷	۹۳۳/۸ <sup>d</sup>	Soluble sugar ( $\mu\text{g g}^{-1}$ DW)
۱۲/۱۳	۰/۱۶	۱/۵۸ <sup>b</sup>	۲۰/۷۰	۰/۲۴	۲/۷۰ <sup>a</sup>	۷/۴۳	۰/۰۶	۰/۹۷ <sup>c</sup>	۴/۶۰	۰/۰۶	۰/۶۰ <sup>d</sup>	Proline ( $\mu\text{g g}^{-1}$ FW)
۲/۰۲	۰/۵۵	۱۸/۷۹ <sup>c</sup>	۳/۰۴	۰/۸۸	۲۸/۳۵ <sup>a</sup>	۲/۶۲	۱/۷۰	۲۴/۳۸ <sup>b</sup>	۱/۶۸	۱/۰۴	۱۵/۶۴ <sup>d</sup>	Rosmarinic acid ( $\text{mg g}^{-1}$ DW)
۰/۷۶	۰/۱۶	۲/۰۶ <sup>d</sup>	۱/۳۰	۰/۱۹	۳/۵۴ <sup>b</sup>	۱/۴۸	۰/۱۵	۴/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۸۵	۰/۱۷	۲/۳۱ <sup>c</sup>	Caffeic acid ( $\text{mg g}^{-1}$ DW)
۱/۲۶	۰/۵۸	۱۱/۳۲ <sup>e</sup>	۱/۶۴	۰/۵۷	۱۴/۶۷ <sup>a</sup>	۱/۴۴	۰/۳۵	۱۲/۹۲ <sup>b</sup>	۱/۰۷	۰/۵۸	۹/۶۰ <sup>d</sup>	Ursolic acid ( $\text{mg g}^{-1}$ DW)
۱/۲۳	۰/۴۴	۴/۰۵ <sup>a</sup>	۱/۲۵	۰/۳۴	۴/۱۰ <sup>a</sup>	۱/۲۲	۰/۳۸	۴/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۹۶	۰/۳۰	۳/۱۷ <sup>b</sup>	Carnosic acid ( $\text{mg g}^{-1}$ DW)
۱/۳۲	۲/۶۶	۴۳/۲۶ <sup>a</sup>	۱/۱۷	۳/۴۶	۳۸/۳۰ <sup>b</sup>	۱/۱۳	۱/۷۷	۳۶/۸۹ <sup>b</sup>	۱/۰۵	۲/۲۸	۳۴/۴۵ <sup>c</sup>	Carvacrole ( $\text{mg g}^{-1}$ DW)
۳/۳۸	۰/۰۲	۰/۱۳ <sup>a</sup>	۲/۵۴	۰/۰۱	۰/۱۰ <sup>b</sup>	۲/۲۲	۰/۰۱	۰/۰۹ <sup>b</sup>	۱/۴۴	۰/۰۱	۰/۰۶ <sup>c</sup>	Thymol ( $\text{mg g}^{-1}$ DW)
۳/۴۶	۰/۱۶	۰/۹۴ <sup>a</sup>	۱/۸۲	۰/۰۴	۰/۴۹ <sup>bc</sup>	۲/۳۰	۰/۱۴	۰/۶۲ <sup>b</sup>	۱/۳۵	۰/۰۵	۰/۳۶ <sup>cd</sup>	- Terpinene ( $\text{mg g}^{-1}$ DW)
۲/۹۸	۰/۰۳	۰/۱۳ <sup>b</sup>	۱/۹۲	۰/۰۴	۰/۰۸ <sup>b</sup>	۲/۶۰	۰/۰۴	۰/۱۱ <sup>b</sup>	۱/۹۰	۰/۰۴	۰/۰۸ <sup>a</sup>	p- Cymene ( $\text{mg g}^{-1}$ DW)

ضمیمه ۱- تعیین برخی از خصوصیات خاک مورد استفاده

Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	K ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Na ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	آهک (%)	EC عصاره اشباع ( $\text{dS m}^{-1}$ )	pH گل اشباع	وزن مخصوص ظاهری خاک ( $\text{g cm}^{-1}$ )
۶۵	۱۴	۲۱	۲۰۲۵	۹۵۶/۸	۸	۸/۸	۷/۷	۳۶/۱



که افزایش پرولین ناشی از تنش خشکی منجر به کاهش اختلالات پروتئینی می‌شود (Radwan, 2014). پرولین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی، رابنده گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive oxygen species) و حفاظت‌کننده ساختار پروتئین‌ها بوده و منجر به محافظت سلول‌های گیاه از آسیب‌های ناشی از تنش می‌شود (Krasensky and Jonak, 2012). چهار دلیل برای افزایش تجمع پرولین در زمان تنش پیشنهاد شده است که عبارتند از: تحریک سنتز آن از گلوتامیک اسید، کاهش خروج آن از طریق آوند آبکش، جلوگیری از اکسیداسیون آن در طول تنش و جلوگیری از تخریب و اختلال در فرایند سنتز پروتئین (Lutts, 1996). همچنین، پرولین به‌عنوان یک منبع قابل دسترس نیتروژن عمل کرده و نیاز گیاه را در دوره‌ای که گیاه متحمل کمبود آب است، فراهم می‌کند (Dawalibi et al., 2015).

#### اثر تنش خشکی بر میزان قندهای محلول

این تحقیق بیانگر آن بود که افزایش تنش خشکی منجر به افزایش معنی‌دار قندهای محلول شد. البته بیشترین افزایش نه روز پس از قطع آبیاری مشاهده شد. روند تغییرات به این ترتیب بود که تا زمانی که گیاه تنش خشکی را تحمل کرده، بر مقدار قندهای محلول اضافه و بعد از آن کاهش یافت، به گونه‌ای که در روز ۱۲ کاهش معنی‌داری مشاهده شد. تنظیم اسمزی می‌تواند به‌وسیله تبدیل پلی‌ساکاریدها (نشاسته، فروکتان‌ها) به یکدیگر و الیگوساکاریدها (ساکارز، گلوکز) به یکدیگر کنترل شود، زیرا پتانسیل اسمزی بستگی به تعداد مولکول‌های ماده دارد (Hendry, 1993). عمل فیزیولوژیک این قندها ممانعت از اتصال بین غشاهای مجاور در طول دوره تنش می‌باشد و منجر به نگهداری لیپیدها و پایداری پروتئین‌ها از طریق ایجاد پیوندهای هیدروژنی با دنباله‌های خطی پروتئین‌ها می‌شود (Ho et al., 2001). عمده نتایج تحقیقات حکایت از افزایش قندهای محلول در اثر تنش خشکی در گیاهان مختلف از جمله بادرشبو ( *Dracocephalum moldavica* ) (L. Rezaei et al., 2013)، بادرنجبویه ( *Melissa*

#### بررسی نمایه متابولیتی مرزه خوزستانی

روند تغییرات اثر تنش خشکی بر مقدار کمی و نیز نسبت تغییرات ده ترکیب اندازه‌گیری شده، در جدول ۴ نشان داده شده است. روند تغییرات مقدار قندهای محلول در جدول ۴ بیانگر آن است که بیشترین مقدار تغییرات، نه روز بعد از قطع آبیاری مشاهده شد، به طوری که تا ۳/۱ برابر افزایش نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. ادامه روند تنش در مرحله بعد (روز ۱۲) منجر به کاهش در تولید قندهای محلول شد. مقدار پرولین نیز بیانگر افزایش ۲۰ برابری این اسید آمینه، نه روز بعد از قطع آبیاری بود که با ادامه تنش از مقدار ذکر شده کاسته و به ۱۲ برابر (نسبت به شاهد) تقلیل یافت. بررسی روند تغییرات ترکیبات موجود در عصاره الکلی نیز حکایت از افزایش معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ ( $P < 0.01$ ) برای رزمارینیک اسید، کافئیک اسید و اورسولیک اسید و همچنین در سطح احتمال ۵٪ ( $P < 0.05$ ) برای کارنوزیک اسید داشت. از میان اسیدهای اندازه‌گیری شده توسط دستگاه HPTLC، رزمارینیک اسید بیشترین افزایش را نشان داد، به گونه‌ای که نه روز بعد از قطع آبیاری تا بیش از سه برابر افزایش یافت، در حالیکه کافئیک اسید، اورسولیک اسید و کارنوزیک اسید به ترتیب افزایش ۱/۳، ۱/۶ و ۱/۲۵ برابری را نشان دادند. روند تغییرات مقدار کمی شده ترکیبات اندازه‌گیری شده با دستگاه GC بیانگر آن بود که حداکثر تغییرات ۱۲ روز پس از قطع آبیاری مشاهده شد، به گونه‌ای که مقدار کارواکرول تولید شده ۱/۳ برابر شد و مقدار سه ترکیب دیگر تیمول، گاماترینین و پاراسیمن حدود سه برابر افزایش نشان داد (جدول ۴).

#### بحث

##### اثر تنش خشکی بر پرولین

این مطالعه نشان داد که کاهش پتانسیل اسمزی تأثیر معنی‌داری در افزایش مقدار پرولین داشته است. این موضوع بیانگر آن است که گونه مورد مطالعه، پرولین را به‌عنوان محلول سازشی در تنظیم و حفظ نیروی اسمزی استفاده می‌کند. در تحقیقی که در گیاه مریم‌گلی انجام شد، نشان داد

صدمات ناشی از تنش بیشتر خواهد شد ( Glenn *et al.*, 1997). در مطالعه دیگر در گیاه توتون، هنگامی که میزان نسبی آب توتون بیش از ۳۰ درصد کاهش یابد، کاهش غیر قابل برگشتی در ظرفیت فتوسنتزی به وجود می آید که ناشی از صدمه وارده به غشای کلروپلاست بوده و در نهایت منجر به مرگ گیاه شد (Kaiser, 1987).

#### اثر تنش خشکی بر اسانس و ترکیبات آن

نتایج به روشنی نشان داد که با افزایش مقدار تنش، بازده اسانس افزایش معنی داری یافت. حال مسئله مورد بررسی آن است که اعمال تنش تا چه حدی می تواند منجر به افزایش کمیت و کیفیت در اسانس مرزه شود؟ آیا توجیه علمی برای این مسئله وجود دارد؟ برای توضیح این پدیده لازم است نگاهی به گیاهان رشد کرده در شرایط آب و هوایی مدیترانه و یا نیمه خشک داشت که دارای طعم و عطری بیشتری هستند. به طوری که همین کیفیت برای گیاهان دارویی نیز مشاهده می شود، به عبارتی دیگر گیاهان کشت شده در مناطق نیمه خشک نسبت به آب و هوای معتدل، از کیفیت بالاتری برخوردارند ( Wilhelm and Selmar, 2011). در این تحقیق، تنش خشکی علاوه بر افزایش مقدار بازده اسانس، بر مقدار ترکیبات اصلی موجود در اسانس از جمله کارواکرول و تیمول تأثیر معنی داری داشت، علاوه بر این بر مقدار ترکیبات اصلی موجود در عصاره گیاه (رزمارینیک اسید، کافئیک اسید، کارنوزیک اسید و اورسولیک اسید) نیز اثر معنی داری داشت. به عبارت دیگر، تنش هم بر کمیت و هم بر کیفیت گیاه مرزه مورد بررسی تأثیر داشت. لازم به ذکر است که تغییر کمی و کیفی الزاما همیشه مثبت نمی باشد. به طوری که در نتایج نشان داده شد بیشترین تغییر در حدود نه روز بعد از قطع آبیاری حاصل شد و منجر به افزایش بازده اسانس و ترکیبات موجود در عصاره شد.

در تحقیقی که اثر تنش خشکی بر روی علف چای (*Hypericum brasiliense*) بررسی شد، نشان داد که نه تنها غلظت، بلکه مقدار کل ترکیبات فنلی به شدت در گیاهان

*(officinalis L.)*، (Abbaszadeh *et al.*, 2008) و آویشن (*Thymus vulgaris*) (Sarajuoghi *et al.*, 2014) دارد.

#### اثر تنش خشکی بر رنگیزه های گیاهی

کاهش مقدار رنگیزه های گیاهی در برگ های انتهایی (کلروفیل کل، a و b) با نتایج سایر تحقیقات از جمله اثر تنش خشکی بر گیاه *Satureja rechingeri* (Shariat *et al.*, 2016) و *Olea europaea spp.* همسو است ( Brito *et al.*, 2003). کاهش مقدار کلروفیل به دلیل فعالیت کلروفیلاز و به دنبال آن تخریب و تجزیه کلروفیل و یا به دلیل کاهش سنتز کلروفیل و تغییر در ساختار تیلاکوئیدها می باشد. این کاهش منجر به کاهش کارایی فتوسنتز در گیاهان می شود. بنابراین گیاهانی که بتوانند کلروفیل خود را حفظ کنند فتوسنتز بیشتری خواهند داشت. کاروتنوئیدها آخرین رنگیزه هایی هستند که تجزیه و تخریب می شوند. گونه هایی که دارای مقدار کاروتنوئید بیشتری هستند، توان بیشتری را برای مقابله با تنش کم آبی دارند (Kim *et al.*, 2012). در این تحقیق عدم کاهش مقدار کاروتنوئیدها، می تواند یکی از سازوکارهای تحمل تنش این گونه محسوب شود. البته ممکن است با توجه به اینکه کاروتنوئیدها آخرین رنگیزه هایی هستند که از بین می روند، فرصت کافی برای تجزیه آنها وجود نداشته باشد.

#### اثر تنش خشکی بر مقدار روابط آبی

تنش خشکی منجر به کاهش محتوای نسبی آب، پتانسیل آب کل و کاهش رشد گیاهان می شود، اما وجود سازوکار تنظیم اسمزی در گیاهان متحمل، باعث حفظ و بالا نگه داشتن RWC در گیاه می شود ( Teulat *et al.*, 1997; Tavakoli-Nia *et al.*, 2016; Rad *et al.*, 2015). در مطالعه ای که در گیاه سالیکورنیا<sup>۴</sup> انجام شد، نشان داده شد که هر چه گیاه بتواند در شرایط تنش، آب بیشتری در بافت های خود حفظ کند، قدرت پروتوپلاسم در تحمل

فرایند سم‌زدایی از طریق بیان ژن‌هایی مانند سوپراکسید دسموتاز (SOD) و آسکوربات پراکسیداز (APX) به شدت افزایش می‌یابد (Mittler and Zilinskas, 1994; Acar et al., 2001; Gratao et al., 2005). سوپراکسید دسموتاز منجر به تجزیه رادیکال‌های سوپراکسید به  $H_2O_2$  و  $O_2$  شده و بعد از آن APX، آن را به آب تبدیل می‌کند (Smirnoff, 2001; Shalata et al., 1993). در نتیجه فرایندهای متابولیکی ذکر شده می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که نسبت  $NADPH + H^+$  به  $NADP^+$  در شرایط تنش به مقدار زیاد افزایش می‌یابد.

سنتز و تجمع ترکیبات طبیعی تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار می‌گیرد، از جمله شدت بالای تابش، افزایش دما، افزایش تابش UV، افزایش فشار علفخواران، عوامل بیماری‌زا و مانند اینها (Edreva et al., 2008; Wink, 2010). بنابراین، باید از پیچیدگی اثرات متقابل ناشی از عوامل بی‌شمار آگاهی داشته و برای شناخت آنها، از نشانگرهای مناسب و قابل اعتماد استفاده کرد. با توجه به تنش خشکی، مناسب‌ترین نشانگر می‌تواند نسبت  $NADPH + H^+$  به  $NADP^+$  و یا مقدار رادیکال‌های اکسیژن تولید شده باشد. متأسفانه، تعیین غلظت دو ترکیب فوق در شرایط آزمایشگاهی بدون تلاش و هزینه امکان‌پذیر نمی‌باشد. روش دیگر استفاده از برخی متابولیت‌های تنش می‌باشد که کم و بیش در اثر تنش سنتز و انباشته می‌شوند. در این زمینه، پرولین به‌عنوان یکی از حلال‌های سازگار در برابر تنش خشکی تجمع می‌یابد (Rhodes et al., 1999) که توضیح آن پیش از این داده شد. با این حال، تجمع پرولین در بسیاری از گونه‌های گیاهی رخ نمی‌دهد. به‌طوری‌که تنشی که منجر به افزایش میزان بیوسنتز محصولات طبیعی می‌شود، منجر به مصرف مقادیر زیادی از  $NADPH + H^+$  می‌شود. این مصرف سودمند بدون تغییر هر گونه فعالیت آنزیمی انجام می‌شود و فقط با غلظت بالای  $NADPH + H^+$  ایجاد می‌شود. با توجه به انتشار قوی ایزوپرن از تعداد زیادی از گیاهان، استفاده از انرژی مزاد برای بیوسنتز ایزوپرن‌ها و در نتیجه اتلاف قابل توجهی انرژی فنوسنتزی

تحت تنش افزایش یافت. اگرچه گیاهان تنش‌دیده بسیار کوچکتر بوده و دارای بیوماس کمتر بودند ولی بازده غلظت ترکیبات آن به مقدار ۱۰٪، حاوی ترکیبات فنلی بیشتر بود (De Abreu and Mazzafera, 2005). در تحقیق دیگری در *S. miltiorrhiza*، مقدار کل فروکینون تحت تنش خشکی اندکی کاهش یافت، اگرچه افزایش معنی‌داری در غلظت داشت (Liu et al., 2011). در مورد تربنوئیدها، برخی گزارش‌ها، افزایش غلظت تربنوئیدها را در نتیجه کاهش وزن خشک بیان داشته‌اند. در تحقیقی Nowak و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که افزایش زیاد مونوترپن‌ها در مریم‌گلی در اثر تنش خشکی بسیار بالاتر از کاهش بیوماس بود. بر این اساس، مقدار تمام مونوترپن‌ها در گیاهان تحت تنش ملایم خشکی در مقایسه با گروه کنترل، به‌طور قابل توجهی بالاتر بود. در مقابل، Manukyan (۲۰۱۱) نشان داد که تنش ملایم خشکی، با افزایش غلظت مونوترپن‌ها در سنبل‌بری و بادرنجبویه همراه بود ولی باعث کاهش مقدار کلی تربنوئیدها در *Nepeta cataria*، *Melissa officinalis* و *Salvia officinalis* شد.

با توجه به نتایج این تحقیق و نتایج ذکر شده سایر محققان، لازم است توجیهی منطقی و علمی برای افزایش مقدار ترکیبات ثانویه در گیاه در پاسخ به تنش خشکی وجود داشته باشد. در شرایط عادی هنگامی که تنش خشکی اعمال می‌شود، وضعیت متابولیکی بسیار پیچیده می‌شود. کمبود آب باعث بسته شدن جزئی روزنه‌ها می‌شود (Chaves, 1991). بر این اساس، با توجه به افزایش متناظر مقاومت نفوذ، به‌مقدار قابل توجهی از مقدار گاز کربنیک ( $CO_2$ ) کاسته می‌شود. به‌عنوان نتیجه، مقدار بسیار کمتر از  $NADPH + H^+$  و ATP در چرخه کالوین مصرف می‌شود. در نتیجه، غلظت  $NADP^+$  و در نتیجه از پتانسیل بالقوه گیرنده‌ها برای انتقال چرخه الکترونی کاسته می‌شود. اگرچه اتلاف انرژی از طریق غیر فتوشیمیایی و اکسیداسیون مجدد  $NADPH + H^+$  توسط سازوکار بازخورد افزایش یافته، ولی کاهش بیشتر منجر به تولید شدید رادیکال‌های اکسیژن می‌شود. به‌عنوان نتیجه، تحت شرایط تنش خشکی، کارایی

### منابع مورد استفاده

- Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, E., Lebaschi M.H., Naderi Haji Bagherkandi, M. and Moghadami, F., 2008. The effect of drought stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of balm (*Melissa officinalis* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 38(4): 504-513.
- Acar, O., Turkan, I. and Ozdemir, F., 2001. Superoxide dismutase and peroxidase activities in drought sensitive and resistant barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties. Acta Physiologia Plantarum, 23: 351-356.
- Adams, R.P., 2007. Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4<sup>th</sup> edn. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, USA.
- Baskan, S., Oztekin, N. and Erim, F., 2007. Determination of carnosic acid and rosmarinic acid in sage by capillary electrophoresis. Food Chemistry, 101: 1748-1752.
- Bates, I.S., Waldern, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.
- Brito, G., Costa, A., Fonseca, H.M. and Santos, C.V., 2003. Response of *Olea europaea* ssp. maderensis *in vitro* shoots exposed to osmotic stress. Scientia Horticulturae, 97: 411-417.
- Boyer, J.S., 1968. Measurement of the water status of plants. Annual Review of Plant Physiology, 9: 351-363.
- Brosché, M., Vinocur, B., Alatalo, E.R., Lamminmäki, A., Teichmann, T., Ottow, E. and Kangasjärvi, J., 2005. Gene expression and metabolite profiling of *Populus euphratica* growing in the Negev desert. Genome Biology, 6(12), R101. doi:10.1186/gb-2005-6-12-r101.
- Chaves, M.M., 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. Journal of Experimental Botany, 42: 1-6.
- Dawalibi, V., Monteverdi, M., Moscatello, S., Battistelli, A. and Valentini, R., 2015. Effect of salt and drought on growth, physiological and biochemical responses of two Tamarix species. iForest - Biogeosciences and Forestry, e1-e8. DOI:10.3832/ifer1233-007.
- De Abreu, I.N. and Mazzafera, P., 2005. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. Plant Physiology and Biochemistry, 43: 241-248.
- Edreva, A., Velikova, V., Tsonev, T., Dagnon, S., Gurel, A., Aktas, L. and Gesheva, E., 2008. Stress protective role of secondary metabolites: diversity of

به‌عنوان یک اصل پذیرفته شده است ( Fall, 1999; Sharkey and Yeh, 2001). در شرایط استاندارد مصرف، برای بیوسنتز ایزوپرن‌ها، کمتر از ۱٪ انرژی لازم است (Magel *et al.*, 2006). با این حال، در دماهای بالاتر، مقدار انرژی تلف شده بر اثر انتشار ایزوپرن به شدت افزایش می‌یابد و ممکن است بیش از ۲۵٪ از منبع انرژی خالص فتوسنتزی استفاده شود. این پیوستگی بیان می‌دارد که بیوسنتز محصولات طبیعی در واقع یک سیستم اتلاف انرژی مؤثر هستند. بنابراین، متابولیت‌های ثانویه جدا از اهمیت اکولوژیکی خود در اتلاف انرژی نقش دارند ( Grace and Logan, 2000; Wilhelm and Selmar, 2011).

### نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق، از گیاه مرزه به‌عنوان مدل، برای تجزیه و تحلیل اثر تنش خشکی و میزان افزایش مونوترین‌ها استفاده شد. نتایج تجزیه GC/MS و HPTLC نشان داد که حداکثر مقدار ترکیبات موجود در اسانس مربوط به مونوترین حلقوی کارواکرول است که تنش خشکی منجر به افزایش معنی‌دار مقدار کمی این ترکیب شد. رزمارینیک اسید و کافئیک اسید نیز از مهمترین ترکیبات موجود در عصاره می‌باشند که افزایش معنی‌داری را در پاسخ به تنش خشکی نشان دادند. از نتایج کاربردی این تحقیق می‌توان اشاره به زمان برداشت این گیاه دارویی کرد که توصیه می‌شود قبل از برداشت گیاهان را در معرض یک دوره تنش خشکی قرار داد، به این ترتیب که آبیاری را قطع کرده و بعد از حدود نه روز، اقدام به برداشت گیاهان کرد.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری و مساعدت صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری)، بابت حمایت مالی این تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

- Kim, S.H., Ahn, Y.O., Ahn, M.J., Lee, H.S. and Kwak, S.S., 2012. Down regulation of  $\beta$ -carotene hydroxylase increases  $\beta$ -carotene and total carotenoids enhancing salt stress tolerance in transgenic cultured cells of sweetpotato. *Phytochemistry*, 74: 69–78.
- Krasensky, J. and Jonak, C., 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany*, 63: 1593-1608.
- Liu, H., Wang, X., Wang, D., Zou, Z. and Lianga, Z., 2011. Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Industrial Crops and Products*, 33: 84-88.
- Liang, Z., Jiang, Z., Fong, D.W. and Zhao, Z., 2009. Determination of oleanolic acid and ursolic acid in *Oldenlandia diffusa* and its substitute using high performance liquid chromatography. *Journal of Food and Drug Analysis*, 17 (2): 69-77.
- Lutts, S.J., Kint, M. and Bouharmount, J., 1996. Effect of various salts and mannitol ion and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa*) callus cultures. *Journal of Plant Physiology*, 149: 186-195.
- Magel, E., Mayrhofer, S., Müller, A., Zimmer, I., Hampp, R. and Schnitzler, J.P., 2006. Photosynthesis and substrate supply for isoprene biosynthesis in poplar leaves. *Atmospheric Environment*, 40: 138-151.
- 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.
- Michel, B.E., 1972. Solute potentials of sucrose solutions. *Plant Physiology*, 50: 196-198.
- Mittler, R., 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science*, 11(1): 15-19. doi:10.1016/j.tplants.2005.11.002.
- Mittler, R. and Zilinskas, B.A., 1994. Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought. *Plant Journal*, 5: 397-405.
- Moradi, P., 2014. Use of metabolomics to study water deficit stress on the medicinal plant thyme. Ph.D. Thesis, University of Birmingham, Birmingham, UK.
- Nowak, M., Manderscheid, R., Weigel, H. J., Kleinwachter, M. and Selmar, D., 2010. Drought stress increases the accumulation of monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*), an effect that is functions and mechanisms. *General and Applied Plant Physiology*, 34: 67-78.
- Fall, R., 1999. Biogenic emissions of volatile organic compounds from higher plants. In: *Reactive hydrocarbons in the atmosphere*. Hewitt, C.N., Eds., Academic Press, London, UK, pp. 41-95.
- Foito, A., 2010. A Metabolomics-based approach to study abiotic stress in *Lolium perenne*. Ph.D. Thesis, University of Dundee, Dundee, Scotland, UK.
- Glenn, E., Miyamoto, M., Moore, D., Brown, J.J., Thompson, T.L. and Brown, P., 1997. Water requirements for cultivating *Salicornia bigelovii* Torr. with seawater on sand in a coastal desert environment. *Journal of Arid Environment*, 36: 711-730.
- Grace, S.C. and Logan, B.A., 2000. Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 355: 1499-1510.
- Gratao, P.L., Polle, A., Lea, P.J. and Azevedo, R.A., 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology*, 32: 481-494.
- Hadian, J., Ebrahimi, S.N. and Salehi, P., 2010. Variability of morphological and phytochemical characteristics among *Satureja hortensis* L. accessions of Iran. *Industrial Crops and Products*, 32(1): 62-69. DOI:10.1016/j.indcrop.2010.03.006.
- Hendry, G.A.F. and Wallace, R.K., 1993. The origin, distribution and evolutionary significance of fructans. In: Suzuki M, Chatterton JN (eds.) *Science and technology of fructans*. CRC Press, Boca Raton, pp. 119-139.
- Ho, S., Chao, Y., Tong, W. and Yu, S., 2001. Sugar coordinately and differentially regulates growth and stress-related gene expression via a complex signal transduction network and multiple control mechanisms. *Plant Physiology*, 46: 281-285.
- Irigoyen, J.J., Eimeric, D.W. and Sanchez-Diaz, M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84 (1): 58-60.
- Jamzad, Z., 2010. A new species of *Satureja* (Lamiaceae) from Iran. *Iranian Journal of Botany* 2: 213-217.
- Jason, A., 1978. *Chlorophyll and Carotenoid: Handbook of Physiological Method*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 59-65.
- Kaiser, W.M., 1987. Effect of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia Plantarum*, 71: 142-144.

- Endemic Savory (*Satureja rechingeri*): *In vivo* and *In vitro* Studies. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 2016, 6(1): 1–13.
- Shariat, A., Karimzadeh, G. and Assareh, M. H., 2013. Karyology of Iranian Endemic *Satureja* (Lamiaceae) Species. *Cytologia*, 78(3): 305–312.
  - Sharkey, T.D. and Yeh, S., 2001. Isoprene emission from plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52: 407-436.
  - Shulaev, V., 2006. Metabolomics technology and bioinformatics. *Brief Bioinform*, 7: 128-139.
  - Shulaev, V., Cortes, D., Miller, G. and Mittler, R., 2008. Metabolomics for plant stress response. *Physiologia Plantarum*, 132(2), 199-208. doi:10.1111/j.1399-3054.2007.01025.x
  - Smirnof, N., 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 125: 27-58.
  - Sumner, L.W., Mendes, P. and Dixon, R.A., 2003. Plant metabolomics: large-scale phytochemistry in the functional genomics era. *Phytochemistry*, 62: 817-836.
  - Teulat, B., Monneveux, P., Wery, J., Borries, C., Souyris, I., Charrier, A. and This, D., 1997. Relationships between relative water content and growth parameters under water stress in barley: barley: a QTL study. *New Phytologist*, 137: 99-107.
  - Tavakoli-Nia, A., Assareh, M.H., Shariat, A. and Bakhshi Khaniki, G.R., 2016. Effects of salinity stress on morphological and physiological parameters in three *Eucalyptus* species. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 24(1):42-53.
  - Weckwerth, W., 2007. *Metabolomics, methods and protocols*. Humana Press, New Jersey, USA.
  - Weckwerth, W. and Kahl, G., 2013. *The Handbook of Plant Metabolomics*. 1<sup>st</sup> edn. Oxford: Wiley-Blackwell, UK.
  - Wilhelm, C. and Selmar, D., 2011. Energy dissipation is an essential mechanism to sustain the viability of plants: The physiological limits of improved photosynthesis. *Journal of Plant Physiology*, 168: 79-87.
  - Wink, M., 2010. Introduction: biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites. In: *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*. Wink, M. (Ed.) pp. 1-19. Wiley Blackwell, Oxford, UK.
  - compensated by elevated carbon dioxide concentration. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 83: 133-136.
  - Rad, M.H., Assareh, M.H. and Soltani, M., 2015. Effects of different soil moisture regimes on some physiological characteristics of two eucalypts (*E. microtheca* and *E. sargentii*). *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 23(1):125-133.
  - Radwan, A., 2014. The impact of drought stress on monoterpene biosynthesis in sage (*Salvia officinalis*): Dehydrins and monoterpene synthases as molecular markers von Alzahraa Mohamed Ahmed Radwan. Thesis, Technische Universität Carolo-Wilhelmina Zu Braunschweig. Braunschweig, Germany.
  - Reich, E. and Schibli, A., 2006. *High-performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants*. Thieme Medical Pub, New York, USA, 197 pp.
  - Rezaei, H., Ghorbanli, M., Peivandi, M. and Pazoki, A., 2013. Effect of drought interactions with ascorbate on some biochemical parameters and antioxidant enzymes activities in *Dracocephalum moldavica* L. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 13(4): 522-531. doi:10.5829/idosi.wasj.2013.27.07.126
  - Rhodes, D., Verslues, P.E. and Sharp, R.E., 1999. Role of amino acids in abiotic stress resistance. In: *Plant Amino Acids: Biochemistry and Biotechnology*. Singh, B.K. pp. 319-356. Marcel Dekker Inc., New York. USA.
  - Roessner, U, Wagner, C., Kopka, J., Trethewey, R.N. and Willmitzer, L., 2000. Simultaneous analysis of metabolites in potato tuber by gas chromatography-mass spectrometry. *Plant Journal*, 23: 131-142.
  - Sarajuoghi, M., Abbaszadeh, B. and Ardakani, M.R., 2014. Investigation morphological and physiological response of *Thymus vulgaris* L. to drought stress. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 5(2): 486-492.
  - Shalata, A., Mittova, V., Volokita, M., Guy, M. and Tal, M., 2001. Response of the cultivated tomato and its wild salt tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt dependent oxidative stress: the root antioxidative system. *Physiologia Plantarum*, 112: 487-494.
  - Shariat, A., Karimzadeh, G., Assareh, M.H. and Zandi\_Esfahan, E., 2016. Drought Stress in Iranian

## Variations of physiological indices and metabolite profiling in *Satureja khuzistanica* in response to drought stress

A. Shariat<sup>1</sup>, G. Karimzadeh<sup>2\*</sup>, M.H. Assareh<sup>3</sup> and J. Hadian<sup>4</sup>

1 – Ph.D., Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. Iran.

2\*– Corresponding Author, Assoc. Prof., Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. Iran. Email: karimzadeh\_g@modares.ac.ir

3 – Prof., Research Institute of Forests and Rangelands of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran.

4 - Assoc. Prof., Department of Agricultural Engineering, Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, I.R. Iran.

Received: 26.01.2017 Accepted: 16.04.2017

### Abstract

Savory (*Satureja khuzistanica*) is one of the nine endemic species which have phenolic compounds such as carvacrole and thymol in its essential oil and rosmarinic and other phenolic acids in its extract, has strong antioxidant and antimicrobial properties and remarkable effects on several diseases. Drought stress was induced by stopping irrigation at flowering stage. Samples were taken five times with three interval days and several physiological traits were measured. For oil extraction, Clevenger apparatus was used. For determination of essential oil's components and methanolic extract compounds, GC, GC/MS and HPTLC were utilized. Profiling of volatiles using GC/MS, showed an increasing-decreasing trend at major phenolic and terpenes compounds such as thymol, - Terpinene, p- Cymene, Rosmarinic acid and Caffeic acid. Drought stress also led to a significant increase in oil yield, soluble sugars and proline as well as a significant reduction in leaf water potential, relative water content and pigments. Metabolite profiling of *Satureja khuzistanica* represents the strategies employed by savory in generating different biochemical phenotype. Applicable results of this study for increasing product quality is effective application of drought stress before harvesting. The results verified that drought stress affected physiological characteristics and secondary metabolism of savory which were useful for future work by using metabolic engineering focusing on important species to increase main compounds, such as carvacrol and rosmarinic acid and caffeic acid.

**Keywords:** Drought stress, oil yield, savory, secondary metabolites