اثر تنش شوری بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو گونه مریم گلی (*Salvia*)

کیوان آقائی*[۱]، نجمه طایی[۱]، محمدرضا کنعانی[۳] و مهناز یزدانی[۱]

[۱]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، [۳]دانشگاه شهید بهشتی تهران، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی

(تاریخ دریافت:۱۳۹۲/۱۰/۱۸ ، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۰۳/۱۷)

چکیده:

شوری یکی از عوامل اصلی کاهش‌دهنده رشد و عملکرد بسیاری از محصولات کشاورزی در سراسر دنیا می‌باشد. شوری رشد گیاهان دارویی و ترکیب متابولیت های ثانویه در آنها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. *Salvia viridis* و *Salvia spinosa* دو گونه گیاهی معطر متعلق به جنس مریم‌گلی از تیره نعناعیان (*Lamiaceae*) می‌باشند. از آنجایی که مکانیسم تحمل شوری و اثر شوری بر رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه در این دو گونه از مریم گلی تاکنون بررسی نشده است، برخی از شاخص‌های رشد و صفات بیوشیمیایی و ترکیب اسانس در این گیاهان تحت تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت. دانه رست‌های حاصل از دو گونه فوق دو هفته پس از جوانه زنی و رشد، جهت اعمال تیمار شوری در محیط کشت هوگلند در شرایط کشت هیدروپونیک در غلظت‌های صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی مولار نمک (NaCl) قرار گرفتند. چهار هفته پس از کشت، شاخص‌های رشدی مانند وزن خشک ریشه و بخش هوایی و همچنین میزان عناصر سدیم و پتاسیم، میزان پرولین و قندهای محلول در آنها بررسی شد. ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در گونه *S. viridis* در تیمار شوری و شاهد نیز مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش سطح شوری، وزن خشک ریشه و ساقه در هر دو گونه کاهش یافت. با افزایش شوری میزان قندهای محلول و پرولین در هر دو گونه افزایش یافت که این افزایش در گونه *S. spinosa* بیشتر از گونه دیگر بود. همچنین میزان پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در ریشه و ساقه هردو گونه کاهش یافت که در گونه *S. spinosa* کاهش کمتری مشاهده شد. شوری موجب افزایش برخی از ترکیبات تشکیل دهنده اسانس مانند: Pinene، Carene و Linalool درگونه *S. viridis* در مقایسه با گیاهان شاهد گردید. بطور کلی حساسیت کمتر گونه *S. spinosa* به تنش شوری در این آزمایش را می‌توان به تجمع بیشتر پرولین و قندهای محلول و جلوگیری از کاهش میزان پتاسیم در شرایط تنش در این گونه نسبت داد.

کلمات کلیدی: اسانس، پرولین، تنش شوری، قندهای محلول، *S.viridis* ، *S. spinosa*

مقدمه:

تنش شوری همانند بسیاری از تنش‌های غیر زیستی دیگر رشد گیاهان را محدود می‌کند. کاهش رشد یک نوع سازگاری برای زنده ماندن گیاه در شرایط تنش است (Zhu, 2001). اثر زیان‌بار شوری بالا بر روی گیاهان را می‌توان در سطح کل گیاه، مثل مرگ گیاه و یا کاهش محصول مشاهده نمود (Kumar and Bandhu, 2005).تنش شوری از طریق افزایش پتانسیل اسمزی محلول خاک، برهم خوردن تعادل عناصر غذایی و همچنین ایجاد سمیت ناشی از تجمع سدیم و کلر در گیاه باعث اختلال در رشد گیاه می‌شود و پاسخ گیاه به شوری به غلظت نمک و نسبت یون‌ها بستگی دارد (میرمحمدی میبدی و قریاضی، ۱۳۸۲). در خاک‌های شور یا سدیمی،

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: keyvanaghaei@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.9.8.5]

غلظت بالای سدیم نه تنها باعث اختلال در جذب پتاسیم در ریشه‌ها می‌شود، بلکه ممکن است غشای سلول‌های ریشه را نیز تخریب کرده و توان آن‌ها را در ورود انتخابی سایر یونها تغییر دهد (خوش گفتار منش، ۱۳۸۷). تنش شوری علاوه بر کاهش شاخص‌های رشد، تولید متابولیت های ثانویه و اسانس ها را هم در گیاهان دارویی تحت تأثیر قرار می‌دهد. تولید ترکیبات ثانویه در گیاهان همیشه به یک میزان صورت نمی-گیرد و عوامل متعددی وجود دارند که می توانند تولید این ترکیبات را تحت تاثیر قرار دهند. نوع گونه یا جنس گیاهی، مرحله رشدی و نموی، شرایط فصلی خاص، میزان دسترسی به مواد غذایی معدنی و شرایط تنشی از جمله این عوامل هستند (Verpoorte *et al.,* 2002). در پاسخ به تنش شوری یا خشکی تولید ترکیبات ثانویه ممکن است افزایش یا کاهش نشان دهد اما تحقیقات زیادی در این زمینه صورت نگرفته است (Selmar, 2008). در برخی از گیاهان دارویی تحت تنش شوری همانند تنش خشکی مقادیر زیادی از ترکیبات ثانویه تجمع می‌یابند. Selmar در سال ۲۰۰۸ افزایش تولید الکالوئید های تروپان را در گیاه *Datura inoxia* تحت تنش شوری نشان داد. کاهش میزان تولید اسانس در تنش شوری در رازیانه (Ashraf, *et al*, 2004)، زنیان (Ashraf and Orooj, 2006) و ریحان (حسنی، ۱۳۸۲) نیز قبلاً گزارش شده است.

مریم گلی از خانواده نعناعیان با ۷۰۰ تا ۹۰۰ گونه، در سراسر جهان رویشی وسیع دارد. این جنس در ایران دارای ۵۸ گونه گیاه علفی یک ساله و چندساله است که در سراسر کشور پراکنده هستند و ۱۷ گونه آن انحصاری ایران می‌باشند (جمزاد، ۱۳۹۲). گونه‌های مختلف جنس سالویا دارای خواص ضد باکتری، ضد قارچی، ضد توموری، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی بوده و علاوه بر آن در صنایع عطرسازی و آرایشی کاربرد فراوانی دارند. به همین علت در طب سنتی برای مقاصد مختلفی از جمله درمان سرماخوردگی، برونشیت، ناراحتی‌های گوارشی و سل مورد استفاده قرار می‌گیرند (Kelen and Tepe, 2008). تاکنون مطالعات زیادی از جنبه های مختلف بر روی گونه های جنس مریم گلی صورت گرفته است. اثرات ضد میکروبی عصاره گونه های *S. sclarea* ، *S. multicaulis* و *S. verticillata* در ایران مورد بررسی قرار گرفته است و خاصیت ضدباکتریایی اسانس مریم گلی به وجود ترکیب ۱و۸ سینئول در آن نسبت داده شده است (Yousefzadi, *et al*., 2007). ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گونه های مختلف این جنس در ایران نیز که تماما از زیستگاه های طبیعی جمع آوری شده اند توسط محققین مختلفی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است (Semnani, *et al*. 2005، Sajjadi, and Ghannadi, 2005، Mirza, M. and Ahmadi, 2000) . در سطح بین المللی نیز شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس برخی از گونه های جنس مریم گلی مورد مطالعه قرار گرفته است که تاکنون ترکیبات متعددی در اسانس گونه های مختلف این جنس شناسایی شده اند که برخی از مهمترین ترکیبات آنها عبارتند از: thujene, pinene, limonene, 1,8-cineol, sabinene, spathulenol, caryophyllene (Medin, *et al.,* 2006، Bagci, and Kocak, 2008). اما تا کنون تحقیقی در مورد اثر شوری بر رشد و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در دو گونه *S. viridis* و *S. spinosa* صورت نگرفته است. بنابر این با توجه به اهمیت گونه های مریم گلی از نظر دارویی لازم است تولید اسانس و رشد این گیاهان از جنبه های مختلف مورد بررسی و تحقیق قرار گیرد. یکی از این جنبه های مهم، مطالعه اثر تنش های محیطی از جمله شوری بر رشد و تولید اسانس و ترکیبات ثانویه در این گیاهان می‌باشد تا از این مسیر بتوان با شناخت عوامل مؤثر در تولید ترکیبات ثانویه، مسیر های متابولیکی سنتز این ترکیبات مهم را شناسایی کرده و زمینه های لازم برای تحقیقات هدفمند جهت افزایش تولید این ترکیبات در گیاهان مریم گلی و در یک نگاه کلی تر در دیگر گیاهان دارویی را ایجاد نمود.

مواد و روش‌ها:

پس از جوانه زنی بذرهای دو گونه *S. viridis* و *S. spinosa*، گیاهک‌های حاصل از جوانه زنی بذر ها یک هفته پس از رشد در گلدان حاوی خاک به منظور آماده شدن برای اعمال تیمار شوری در محیط کشت مایع هوگلند (Hogland, 1949) بصورت هیدروپونیک درگلدان های پلاستیکی تیره بدون

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.9.8.5]

اعمال تیمارشوری کشت داده شده و به اتاق کشت با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با دمای۱±۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شدند. یک هفته پس از رشد دانه رست ها در این محیط، گیاهان در همان شرایط هیدروپونیک و در محیط کشت مایع هوگلند در غلظت‌های مختلف نمک شامل: صفر (شاهد)، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی مولار NaCl کشت داده شدند. هر تیمار شامل ۵ تکرار (گلدان) بود و در هر گلدان ۴ تا ۵ گیاه کشت گردید. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. pH محیط کشت در گلدان‌ها هر سه روز یک بار اندازه‌گیری شد (pH=۵/۸) وهر شش روز یک بار محیط کشت گلدان‌ها تعویض گردید. چهار هفته پس از کشت، گیاهان برای اندازه گیری شاخص های رشد از قبیل وزن خشک ریشه و بخش هوایی(ساقه و برگ) و اندازه گیری میزان عناصر سدیم، پتاسیم، قند های محلول، پرولین و استخراج اسانس مورد استفاده قرار گرفتند.

اندازه گیری میزان سدیم و پتاسیم: نمونه های ریشه و ساقه در آون در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و پس از ساییده شدن در هاون در سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ حل گردیده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. عصاره حاصله با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف شده و سپس با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر(M410; Corning, Palo Alto, CA, USA) میزان سدیم و پتاسیم عصاره اندازه گیری شد.

اندازه گیری میزان پرولین: میزان پرولین با روش واکنش نین هیدرین (Bates *et al*, 1973) تعیین گردید. ۳۰۰ میلی گرم از ساقه-برگ با ۱۰ میلی لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ هموژنیزه شد و سپس با کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف گردید. ۲ میلی لیتر از محلول صاف شده برداشته شد و به آن ۲ میلی لیتر محلول نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال افزوده شد و محلول حاصل در بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت قرار داده شد و سپس واکنش بر روی یخ متوقف شد. سپس ۴ میلی لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شد و پس از چند دقیقه همزدن شدید، محلول صورتی رنگ فوقانی برای قرائت جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (Beckman, Fullerton, CA) استفاده شد. میزان پرولین در عصاره با استفاده از منحنی استاندارد پرولین خالص محاسبه شد.

اندازه گیری میزان قند های محلول: اندازه گیری میزان قند های محلول در یک عصاره الکلی حاصل از نمونه های ساقه – برگ و بر اساس روش اصلاح شده ای از Irigoyen و همکاران (1992) انجام شد. نمونه های گیاهی در ۵ میلی لیتر اتانول ۹۵٪ عصاره گیری شدند وسپس با سرعت g ۳۵۰۰ برای مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. از محلول رویی برای تعیین میزان قند های محلول استفاده شد. ۰/۱ میلی لیتر از عصاره با ۳ میلی لیتر از محلول تازه تهیه شده آنترون مخلوط گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و واکنش در آب یخ خاتمه یافت و سپس جذب محلول در طول موج ۶۲۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (Beckman, Fullerton, CA) اندازه گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز میزان قندهای محلول محاسبه گردید.

استخراج و آنالیز اسانس: استخراج اسانس از بخش هوایی گیاه شامل ساقه و برگ و با روش تقطیر در آب با استفاده از دستگاه اسانس گیری کلونجرانجام شد و شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس با دستگاه کروماتوگرافی گازی(GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) (Manchester, UK) در پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی انجام شد.

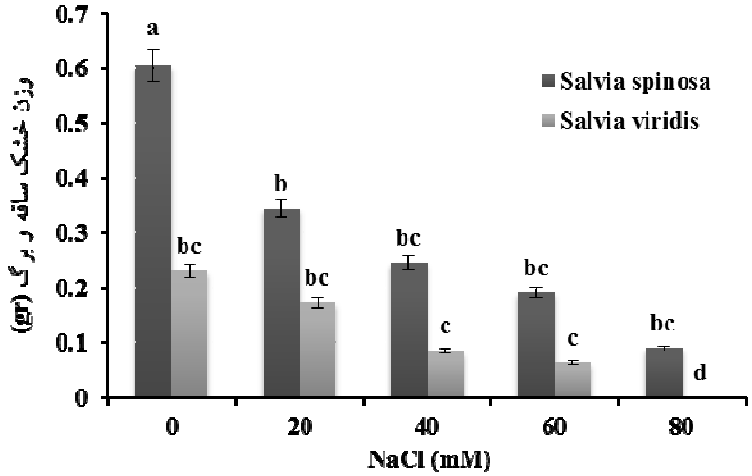
بررسی آماری: آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار برای هرتیمار انجام شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام گردید و مقایسه میانگین ها هم با آزمون LSD انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم افزارExcel رسم شدند. بار های عمودی در هر ستون در نمودار ها معرف SE± می‌باشد.

نتایج:

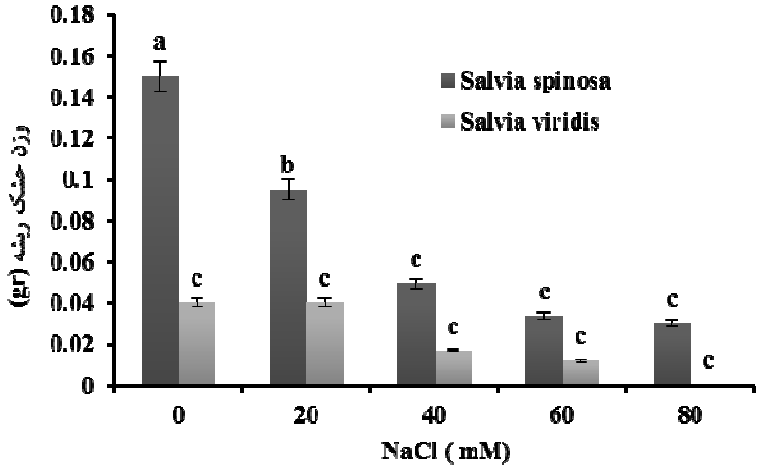
اثر تنش شوری برشاخص‌های رشد: شکل ۱ نشان می‌دهد که با افزایش سطح شوری وزن خشک اندام هوایی کاهش یافته

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.9.8.5]



شکل۱- اثر غلظت‌های مختلف نمک بر وزن خشک ساقه و برگ در دو گونه مریم گلی. حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد.



شکل ۲-اثر غلظت‌های مختلف نمک بر وزن خشک ریشه در دو گونه مریم گلی. حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

است و کمترین مقدار وزن خشک در گونه *S. spinosa* در تیمار ۸۰ میلی مولار و درگونه *S.viridis* در تیمار۶۰ میلی مولار مشاهده گردید.

با افزایش میزان شوری وزن خشک ریشه نیز به عنوان یکی دیگر از شاخص های رشد در هر دو گونه کاهش نشان داد. در گونه *S. spinosa* وزن خشک ریشه در تیمار ۸۰ میلی مولار حدود ۸۳٪ کاهش را نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. در گونه *S. viridis* وزن خشک ریشه در تیمار ۶۰ میلی مولار در مقایسه با گیاهان شاهد حدود ۷۶٪ کاهش نشان داد (شکل۲).

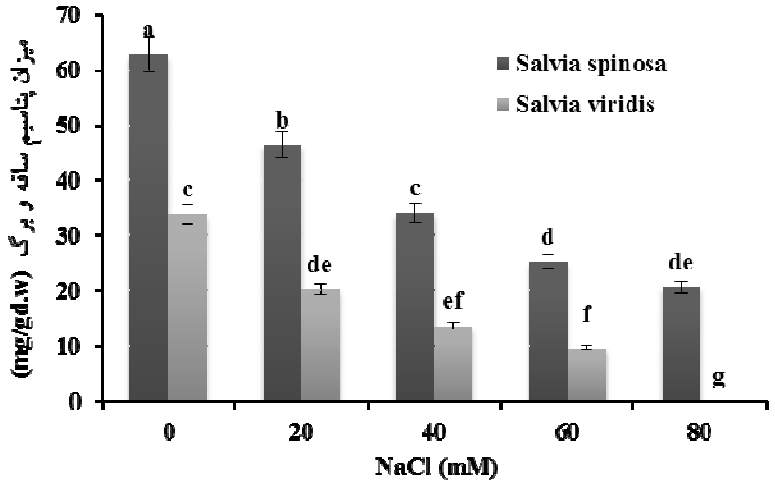
اثر تنش شوری بر میزان عناصر سدیم و پتاسیم: باافزایش غلظت نمک ، میزان پتاسیم ساقه و برگ کاهش یافته است، به طوری که در گونه *S. spinosa* از میزان۶۲/۷۹۲ میلی گرم بر گرم وزن خشک در تیمار شاهد به میزان۲۰/۶۹۷ میلی گرم در تیمار ۸۰ میلی مولار و در گونه *S.viridis* از میزان۳۳/۸۵۲ میلی گرم در تیمار شاهد به میزان۹/۷۳۵ میلی گرم در تیمار ۶۰ میلی مولار NaCl کاهش یافته است (شکل۳).

شکل ۴ نشان می دهد که با افزایش غلظت نمک میزان پتاسیم ریشه در هر دو گونه کاهش می‌یابد به طوری که کمترین میزان آن در تیمار ۸۰ میلی مولار نمک مشاهده می شود. بین دو گونه مورد نظر از نظر میزان کاهش پتاسیم ریشه تفاوت معنی داری مشاهده نمی‌شود.

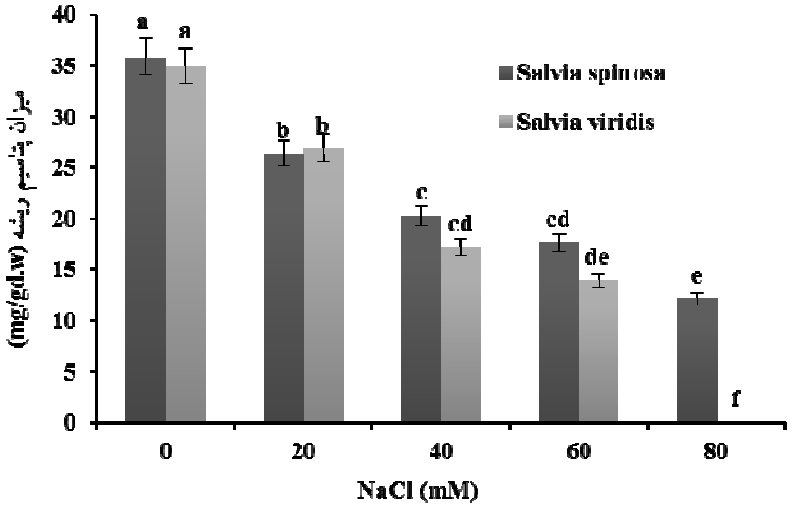
با توجه به شکل ۵ می‌توان گفت که با افزایش شوری

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-30]

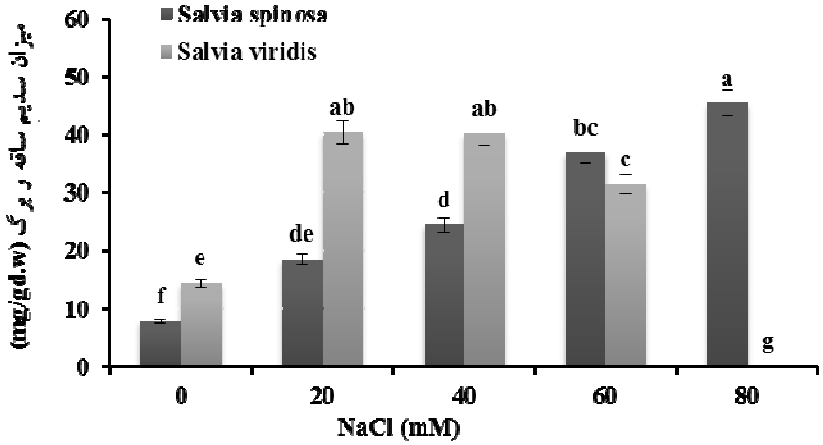
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.9.8.5]



شکل ۳-اثر غلظت‌های مختلف نمک بر پتاسیم ساقه و برگ در دو گونه مریم گلی. حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



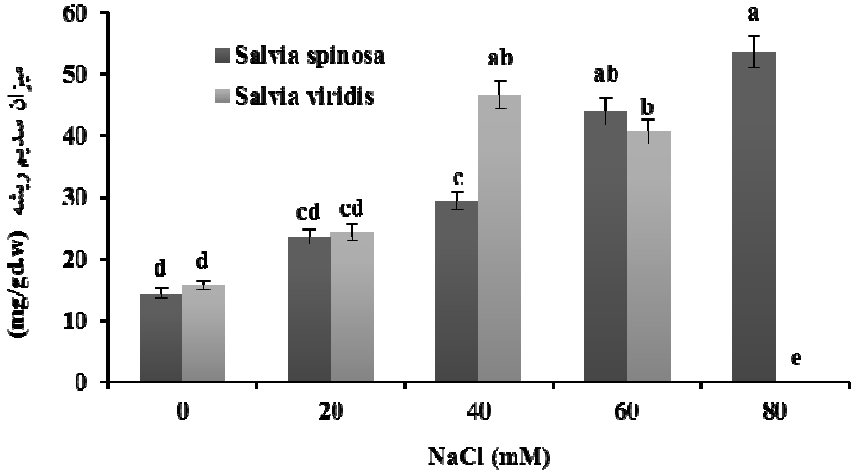
شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف نمک بر پتاسیم ریشه در دو گونه مریم گلی. حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



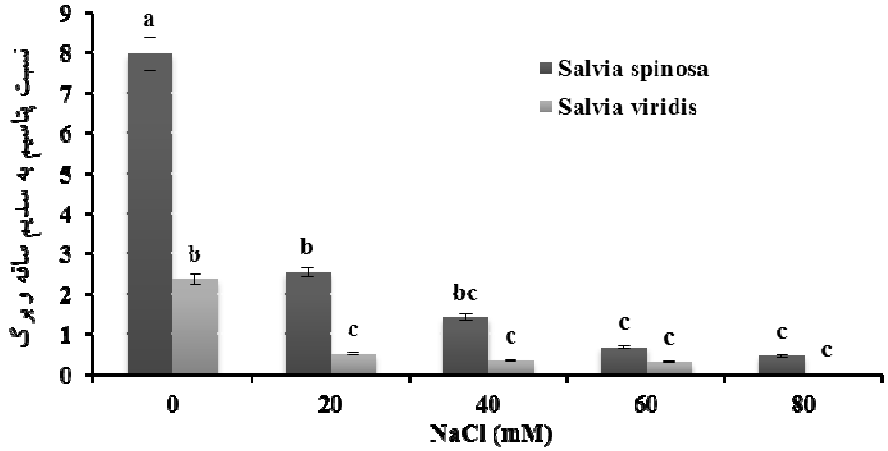
شکل ۵-اثر غلظت‌های مختلف نمک بر میزان سدیم اندام هوایی در دو گونه مریم گلی. حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.9.8.5]



شکل ۶-اثر غلظت‌های مختلف نمک بر سدیم ریشه در دو گونه مریم گلی. حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف نمک بر نسبت پتاسیم به سدیم ساقه و برگ در دو گونه مریم گلی. حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

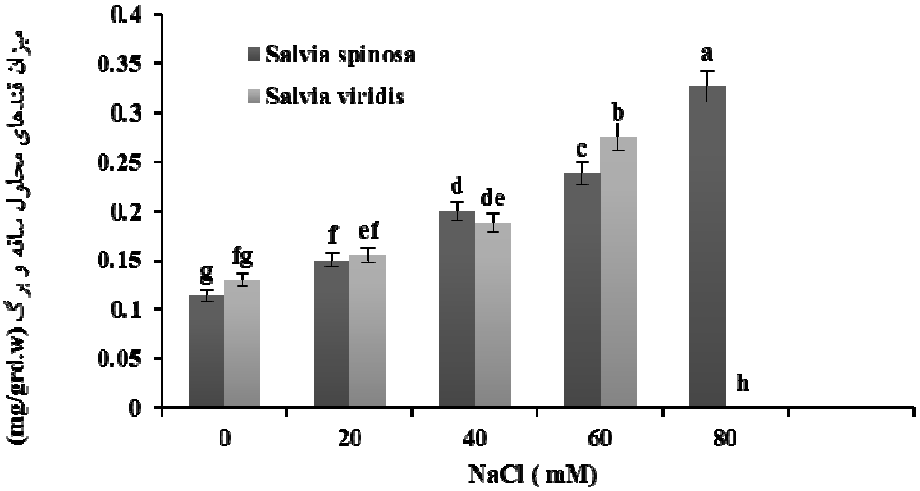
میزان سدیم در بخش هوایی هر دو گونه نسبت به شاهد افزایش یافته است. این میزان در گونه *S. spinosa* در تیمار ۸۰ میلی مولار نمک حدود ۴ برابر و در گونه *S.viridis* در تیمار ۶۰ میلی مولار نمک بیش از دو برابر نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان می‌دهد.

میزان سدیم موجود در ریشه: میزان سدیم در ریشه هر دوگونه با افزایش میزان شوری افزایش یافته است. بیشترین میزان افزایش در تیمار ۸۰ میلی مولار نمک در گونه *S. spinosa* و در تیمار ۶۰ میلی مولار در گونه *S. viridis* مشاهده شد. در تیمارهای ۲۰ و ۶۰ میلی مولار نمک بین دو گونه اختلاف معنیداری دیده نمی‌شود. (شکل ۶).

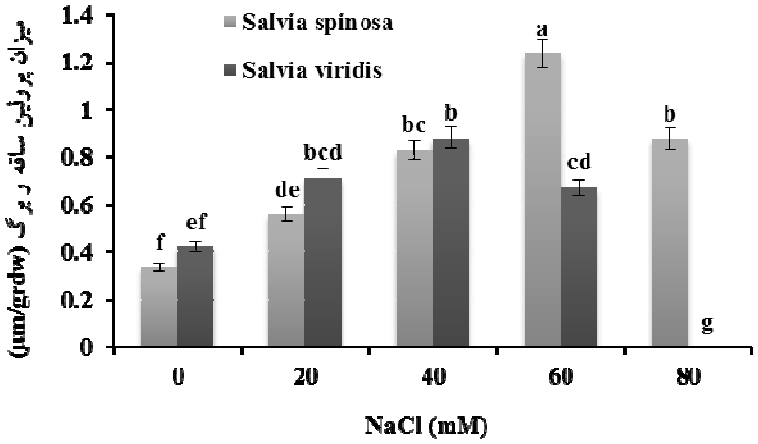
شکل ۷ نشان می‌دهد که افزایش میزان شوری نسبت پتاسیم به سدیم را در اندام هوایی هر دو گونه به شدت کاهش داده است. کمترین نسبت در گونه *S. spinosa* در تیمار ۸۰ میلی مولار نمک (۰/۴۵) مشاهده گردید. همچنین در گونه *S.viridis*کمترین نسبت این دو عنصر به مقدار۰/۳۰۹ در تیمار ۶۰ میلی مولار به دست آمد (شکل۷).

تأثیر تنش شوری بر پارامترهای بیوشیمیایی: با افزایش میزان شوری میزان قندهای محلول در هر دوگونه افزایش یافته است (شکل ۸) به طوری که بیش‌ترین مقدار در گونه *S. spinosa* و به میزان ۰/۳۲۶ میلی گرم بر گرم وزن خشک در تیمار۸۰ میلی مولار مشاهده می‌شود و همچنین در گونه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-30]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.9.8.5]



شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف نمک بر قندهای محلول ساقه و برگ در دو گونه مریم گلی. حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



شکل ۹-اثرغلظت‌های مختلف نمک بر پرولین ساقه و برگ در دو گونه مریم گلی. حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

S.viridis بیشترین میزان قندهای محلول مربوط به تیمار ۶۰ میلی مولار نمک است.

با توجه به شکل ۹ بیش‌ترین میزان پرولین در اندام هوایی گونه *S. spinosa* در تیمار ۶۰ میلی مولار نمک مشاهده گردید. همچنین بیش‌ترین میزان در گونه *S.viridis* در تیمار ۴۰ میلی مولار نمک به دست آمد. میزان پرولین در گونه *S. spinosa* در تیمار ۶۰ میلی مولار حدود دو برابر بیشتر از گونه *S.viridis* می‌باشد.

با توجه به تولید بسیار اندک اسانس در گونه *S. spinosa* در تیمار ۴۰ میلی مولار و عدم امکان آنالیز اسانس در این گونه، تنها ترکیبات اسانس گونه *S.viridis* در دو تیمار شاهد و غلظت ۴۰ میلی مولار نمک مورد مقایسه قرار گرفت (جدول ۱). غلظت ۴۰ میلی مولار در این گونه سطحی از شوری بود که در آن ضمن اینکه اثر شوری در شاخص های مختلف رشد قابل اندازه گیری و مشاهده بود و بنابر این اثرآن بر میزان متابولیت های ثانویه هم قابل انتظار بود اما سطح شوری آنقدر بالا نبود که گیاه به دلیل مواجهه با شوری بالا در معرض از بین رفتن و آسیب شدید قرار گیرد و نتواند پاسخ مناسبی در سطح مولکولی و تولید متابولیت های ثانویه از خود بروز دهد. در اسانس به دست آمده ازتیمار شاهد ۳۸ ترکیب شناسایی گردید که در مجموع ۹۸/۶ درصد از کل اجزاء اسانس را تشکیل می دادند. ترکیبات عمده شناسایی‌شده در اسانس تیمار شاهد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-30]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.9.8.5]

جدول۱- ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس حاصل از گونه *S. viridis*

ردیف	نام ترکیب	زمان بازداری	درصد ترکیبات در تیمار شاهد	درصد ترکیبات در تیمار ۴۰ میلی مولار
۱	α-Thujene	۹۳۱	۰/۲	۰/۱
۲	α-Pinene	۹۳۸	۳/۲	۳/۷
۳	Camphene	۹۵۱	۰/۱	۰/۱
۴	β-Pinene	۹۷۸	۲۱/۱	۲۱/۹
۵	Myrcene	۹۹۰	۵/۲	۵/۱
۶	β-Phellandrene	۱۰۲۹	۱/۱	۰/۸
۷	δ-3-Carene	۱۰۳۱	۲/۶	۳/۳
۸	(*Z*)-β-Ocimene	۱۰۳۸	۰/۲	۰/۳
۹	(E)-β-Ocimene	۱۰۴۹	۲/۷	۲/۳
۱۰	Terpinolene	۱۰۹۱	۰/۷	۰/۲
۱۱	Linalool	۱۰۹۵	۰/۲	۰/۴
۱۲	Pinocarvone	۱۱۶۱	-	۰/۱
۱۳	Terpinen-4-ol	۱۱۶۹	۰/۱	۰/۱
۱۴	α-Cubebene	۱۳۵۷	۰/۵	۰/۶
۱۵	α-Copaene	۱۳۷۲	۰/۹	۰/۴
۱۶	β-Cubebene	۱۳۸۶	۰/۲	۰/۵
۱۷	β-Bourbonene	۱۳۸۷	۳/۱	۲/۶
۱۸	β-Elemene	۱۳۸۹	۰/۸	۰/۴
۱۹	(*Z*)-Caryophyllene	۱۴۰۵	۰/۲	۰/۷
۲۰	(*E*)-Caryophyllene	۱۴۱۴	۰/۳	۰/۸
۲۱	β-Copaene	۱۴۲۸	۱۱/۱	۱۰/۷
۲۲	γ-Elemene	۱۴۳۵	۰/۳	۰/۱
۲۳	α-Humulene	۱۴۶۶	۵/۹	۶/۱
۲۴	γ-Muurolene	۱۴۷۸	۰/۲	۰/۲
۲۵	Germacrene-D	۱۴۸۰	۱۳/۶	۱۲/۹
۲۶	(*E*)-Muurola-4,5-diene	۱۴۸۹	۸/۵	۸/۱
۲۷	γ-Amorphene	۱۴۹۳	۰/۲	۰/۱
۲۸	Bicyclogermacrene	۱۵۰۵	۰/۴	۰/۵
۲۹	α-Muurolene	۱۵۰۴	۰/۲	۰/۲
۳۰	γ-Cadinene	۱۵۱۱	۰/۴	۰/۶
۳۱	δ-Cadinene	۱۵۱۹	۴/۳	۳/۷
۳۲	α-Cadinene	۱۵۳۴	۰/۱	۰/۱
۳۳	α-Calacorene	۱۵۴۱	۰/۱	۰/۲
۳۴	Germacrene-B	۱۵۶۴	۲/۳	۲/۱
۳۵	Caryophyllene oxide	۱۵۷۶	۶/۴	۶/۷
۳۶	Hmnulene epoxide	۱۶۰۷	۰/۳	۰/۱
۳۷	α-Cadinol	۱۶۵۱	۰/۷	۰/۸
۳۸	(*E*)-Calamenen-10-ol	۱۶۶۸	۰/۱	-
۳۹	δ-Cadinene-14-hydroxy	۱۷۹۸	۰/۱	۰/۱
۴۰	Hexahydro farnesylacetone	۱۸۴۰	-	۰/۱
۴۱	Monoterpene hydrocarbons		۳۷.۱	۳۷/۸
۴۲	Oxygenated monoterpenes		۰/۳	۰/۶
۴۳	Sesquiterpene hydroalrbons		۵۳/۶	۵۱/۶
۴۴	Oxygenated Sesquiterpene		۷/۶	۷/۸
	Total Compounds		**۹۸/۶**	**۹۷/۸**

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.9.8.5]

شامل مواد زیر بودند: α-Humulene (٪۵/۹)، β-Pinene (٪۲۱/۱)، β-Copaene (٪۱۱/۱)، Germacrene-D (٪۱۳/۶)، Caryophyllene oxide (٪ ۶/۴)، (E)-Muurola-4,5-diene (٪ ۸/۵)، Myrcene (٪ ۵/۲)، α-Pinene (٪ ۳/۲)، β-Bourbonene (٪ ۳/۱) و δ-Cdinene (٪ ۴/۳). همچنین در اسانس حاصل از تیمار ۴۰ میلی مولار نمک، ۳۹ ترکیب شناسایی گردید که در مجموع ۹۷/۸ درصد از کل اجزاء اسانس را تشکیل می‌دادند (جدول۱). ترکیبات عمده شناسایی شده در این تیمار عبارتند از: α-Humulene (٪۶/۱)، β-Pinene (٪۲۱/۹)، β- Copaene (٪۱۰/۷)، Germacrene-D (٪۱۲/۹)، Caryophyllene oxide (٪۶/۷)، (E)- Muurola-4,5-diene (٪۸/۱)، Myrcene (٪۵/۱)، α-Pinene (٪ ۳/۷)، β-Bourbonene (٪ ۲/۶)، δ-Cdinene (٪ ۳/۷).

بحث:

اثر تنش شوری بر شاخص های رشد رویشی و میزان سدیم و پتاسیم: کاهش وزن خشک بخش های هوایی و ریشه در گیاهان مریم گلی تحت تنش شوری در این آزمایش کاملا مشهود بود و بخصوص از غلظت ۴۰ میلی مولار نمک این کاهش در هردو گونه مشاهده شد. با توجه به اینکه وزن خشک معیار مناسبی از عملکرد فتوسنتزی و رشد در گیاهان می‌باشد، کاهش این صفت نشان دهنده کاهش میزان فتوسنتز و رشد در گیاهان مریم گلی تحت تنش شوری می‌باشد. Jamil و همکاران (2006) بیان داشتند که کاهش رشد ساقه و ریشه می‌تواند ناشی از اثرهای سمی سدیم و کلر و متعاقب آن کاهش جذب پتاسیم و عدم تعادل در جذب سایر عناصر غذایی به وسیلهٔ گیاه باشد (Jamil *et al.*, 2006). محققین چندین پاسخ فیزیولوژیکی از جمله تغییر دروضعیت آب، بازده فتوسنتزی، تخصیص کربن و کاهش تولید انرژی را در مواجهه با تنش شوری در گیاهان عنوان کرده اند (Abdul *et al.*, 2007). بنابر این کاهش رشد مشاهده شده در گیاهان مریم گلی در این تحقیق نیز می‌تواند بدلیل مسمویت یونی ناشی از تجمع یونهای سدیم و کلر، کاهش جذب پتاسیم و عوارض ناشی از کمبود پتاسیم و کاهش جذب آب به دلیل افزایش پتانسیل اسمزی محیط کشت و عدم توانایی گیاهان در جذب آب در این شرایط باشد. مقایسهٔ میزان پتاسیم ریشه و اندام هوایی در هر دو گونه، نشان دهندهٔ این مطلب بود که پتاسیم اندام هوایی بیشتر از ریشه بود. در یک آزمایش گلخانه‌ای، روی گیاه زنیان و اثر تنش شوری بر رشد و میزان انباشت یون‌ها، نشان داده شد که افزایش سطح شوری باعث کاهش معنی داری در میزان پتاسیم و افزایش میزان سدیم در ریشه شد (Girija *et al.*, 2002; Ashraf, *et al.*, 2004). بر اثر شوری جذب Na^+ در رقابت با جذب K^+ به میزان بیشتری صورت گرفته و منجر به کاهش نسبت K^+/Na^+ و سمیت سدیمی می شود. کاهش میزان K^+ تحت تنش شوری در گیاهان دیگر نیزگزارش شده است، از جمله گندم، ذرت خوشه‌ای، جو و برنج (Zaho, et al, 2007). شوری باعث افزایش یون سدیم در بخش‌های هوایی گیاهان و بخصوص در ریشه می‌شود، وقتی تنش شوری ایجاد می شود، کاهش پتانسیل اسمزی و همچنین سمیت ناشی از افزایش سدیم گیاه را با مشکل مواجه می کند وتجمع یون Na^+ در تنش ناشی از شوری، منجر به کاهش پتانسیل آب، تغییردرجذب یون‌های ضروری و عدم تعادل یونی و نهایتا کاهش سرعت فتوسنتزورشد محدود برگ‌ها می‌گرد (Sairam *et al.*, 2002). Hasni و همکاران (۲۰۰۹) نیزگزارش کردند که میزان پتاسیم در اندامهای هوایی گیاه *Trigonella foenum graecum* L در تنش شوری کاهش یافته و در نتیجه، نسبت پتاسیم به سدیم نیز کاهش پیدا کرد.

اثر تنش شوری بر قندهای محلول و پرولین: اگرچه میزان قند های محلول و پرولین ساقه و برگ در هردو گونه مورد نظر با افزایش شوری افزایش نشان داد با اینحال افزایش میزان پرولین در گونه *S. spinosa* در تیمارهای بالای شوری در مقایسه با گونه دیگر بیشتر بود که شاید مقاومت بیشتر گونه *S. spinosa* را نسبت به *S. viridis* تا حدودی توجیه کند. شاید علت کاهش میزان پرولین در گونه *S. viridis* در غلظت های بالا کاهش شدید توان سنتزی ناشی از کاهش شدید فتوسنتزدر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.9.8.5]

این گیاه در غلظت ۶۰ میلی مولار نمک باشد که برای این گونه تنش شدید محسوب می‌شود که از بین رفتن این گیاهان در غلظت های بالاتر شوری نیز مؤید این مطلب است. در حالیکه در گونه *S. spinosa* این حالت با کمی تاخیر مشاهده می‌شود و در غلظت ۸۰ میلی مولار میزان پرولین روند افزایشی را ادامه نمی‌دهد. به نظر می‌رسد تجمع زیاد پرولین، گیاه را قادر می سازد که تنش اسموتیک ناشی از شوری را تا حدی برطرف نماید. همچنین وقتی که گیاه در پتانسیل آبی پایین قرار گیرد که می‌تواند ناشی از غلظت بالای نمک در محیط رشد آن باشد، پرولین به عنوان یک ذخیره انرژی و نیتروژن به کار می-رود (Sudhakar *et al*., 1993). در گیاهان دیگر نیز پاسخ های مشابهی به تنش شوری مشاهده شده است. تجمع پرولین و قند های محلول را در بخش‌های هوایی گیاهان سیب زمینی و محور زیر لپه در گیاه سویا تحت تنش شوری گزارش شده و تجمع این ترکیبات را به عنوان یکی از مکانیسم‌های تحمل شوری در ارقام کمتر حساس سیب زمینی (Aghaei *et al*., 2009) و سویا (Aghaei *et al*., 2008) بیان نمودند. Bandehhagh و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که گیاه رزماری تحت تنش شوری از تجمع پرولین و قندهای محلول برای حفظ فشار اسمزی و کاهش زیان در برابر تنش شوری استفاده می‌کند (Bandehhagh *et al*., 2008). تجمع قندهای محلول در اندام هوایی گیاهان زراعی تحت تنش شوری با وجود کاهش در جذب CO_2 نیز گزارش گردیده است (Chaves *et al*., 2003). به طور کلی گیاهان در مواجهه با تنش شوری از روش‌های مختلفی که شامل تنظیم اسمزی، سم زدایی به وسیله از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن، حفاظت از یکپارچگی غشاء و تثبیت آنزیم/پروتئین است استفاده می‌کنند (Ahmad and El-Gawad, 2008).

اثر تنش شوری بر ترکیبات تشکیل دهنده اسانس: در اثر تنش شوری ترکیباتی نظیر: α-Thujene، Myrcene، β-Phellandrene، (E)-β-Ocimene، Terpinolene، α-Copaene، β-Elemene، β-Copaene، γ-Elemene، β-Bourbonene، Germacrene-D، (E)-Muurola-4,5-diene، γ-Amorphene، (E)-Hmnulene epoxide، Germacrene-B، δ-Cadinene Calamenen-10-ol در اسانس حاصل از گونه *S. viridis* کاهش یافته است. همچنین ترکیباتی تحت تنش شوری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته‌اند که عبارتند از: α-Pinene، β-Pinene، δ-3-Carene، (Z)-β-Ocimene، Linalool، α-(Z)-Caryophyllene، β-Cubebene، Cubebene، (E)-Bicyclogermacrene، α-Humulene، Caryophyllene، γ-Caryophyllene oxide، α-Calacorene، Cadinene، α-Cadinol. ترکیباتی نیز در تیمار شاهد وجود نداشتند اما در تیمار ۴۰ میلی مولار نمک دیده شدند مانند: Pinocarvone و Hexahydro farnesylacetone. از طرف دیگر، ترکیب (E)-Calamenen-10-ol نیز تنها در تیمار شاهد تولید شد و تحت تنش شوری تولید آن قطع گردید.

علت دقیق افزایش برخی از ترکیبات و کاهش برخی دیگر در گیاهان مورد آزمایش تحت تنش شوری مشخص نیست و ممکن است در گیاهان تحت تنش شوری برخی از آنزیم های مربوط به مسیرهای بیوسنتزی و یا تجزیه‌ای دخیل در متابولیسم متابولیت‌های ثانویه دستخوش تغییر شده باشند که ممکن است حتی در سطح بیان برخی از ژنها نیز چنین تغییراتی صورت گیرد که می توان با بررسی تغییرات بیان ژنها در گیاهان تحت تنش به شناسایی چنین ژنهایی مبادرت ورزید. تغییر نوع و میزان ترکیبات تشکیل دهنده اسانس تحت تنش شوری در سایر گونه‌های مریم گلی و گیاهان دارویی دیگر نیز مشاهده شده است. در آزمایشی که بر روی گونه ای از مریم گلی بنام *Salvia officinalis* صورت گرفت در غلظت های ۵۰ و ۷۵ میلی مولار نمک ترکیب ۱و۸–Cineole و در غلظت ۱۰۰ میلی مولار Manool بیشترین درصد را دارا بودند. همچنین مونوترپن‌های اکسیژن دار و دی ترپن ها جزء ترکیبات عمده این گیاه دارویی شناسایی شده است (Taarit, *et al*., 2009). همچنین مشخص گردید که شوری محتوای اسانس گونه‌های مختلف نعناع را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (Prasad *et al*, 1996). تنش شوری میزان اسانس را در گیاه خلاله شیطانی، رازیانه و زینیان کاهش می دهد (Ashraf and Orooj, 2006)، (Ashraf *et al*., 2004). اثر تنش شوری بر ترکیبات اسانس

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.9.8.5]

در چندگیاه دارویی دیگر نیز از جمله نعناع (Timperio *et al.*, 2008) و سیب (Aziz, 2008) گزارش شده است. اگر چه ترکیبات اصلی در اسانس بابونه تحت تنش افزایش یافته است (Baghalian *et al*, 2008) اما با این وجود در مرزنجوش و رازیانه برخی از ترکیبات اصلی اسانس مانند: carvacrol، p-cymene و γ-terpinene تحت تأثیر تنش شوری کاهش یافته است (Timperio *et al*, 2008).

کاهش عملکرد اسانس در نتیجه تنش شوری ممکن است ناشی از اثر زیان آور تنش بر رشد و عملکرد رویشی گیاه مریم‌گلی در شرایط شوری باشد و در نتیجه عملکرد اسانس هم کاهش می‌یابد. اگرچه اهمیت اسانس ها و ترکیبات ثانویه گیاهی از دیر باز مورد توجه قرار گرفته است با این حال، درزمینه مکانیسم‌های مولکولی تولید این ترکیبات تحقیقات گسترده‌ای انجام نشده است. عوامل متعددی می‌تواند تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان را محدود کند که نوع گونه یا جنس گیاه دارویی، مرحله رشدی خاص، شرایط خاص فصلی، در دسترس بودن مواد مغذی و یاتنش‌های زیستی و غیر زیستی، از جمله این عوامل می‌باشند (Aghaei and Komatsu, 2013).

نتیجه گیری کلی:

با توجه به تقسیم بندی که Katerji و همکاران (2000) در طبقه بندی برخی از گیاهان زراعی انجام داده اند و دامنه تحمل شوری را در این گیاهان مشخص کرده اند، می‌توان گفت که گونه های مریم گلی مورد بررسی در این آزمایش جزء گونه های حساس به شوری تلقی می شوند هرچند که این حساسیت در گونه *S. spinosa* اندکی کمتر بوده و این گونه با افزایش تولید پرولین و نیز جلوگیری از کاهش نسبت پتاسیم به سدیم در شرایط تنش شوری تا حدودی از خود مقاومت نشان داد. با توجه به اینکه در این آزمایش برخی از ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس در گونه *S.viridis* تحت تنش شوری افزایش پیدا کردند و چند ترکیب هم تنها در گیاهان تنش دیده تولید شد می توان نتیجه گرفت که تنش ها و از جمله تنش شوری قادر هستند که تولید متابولیت های ثانویه در گیاهان دارویی را تحت تاثیر قرار دهند و می توان با مشخص کردن مسیر سنتز این ترکیبات و شناخت آنزیم های مؤثر در این مسیر ها و افزایش بیان ژن یا ژن های دخیل در سنتز این آنزیم ها از این پتانسیل برای مهندسی تولید ترکیبات ثانویه و افزایش کیفیت اسانس در این گیاهان و سایرگیاهان دارویی بهره گرفت.

منابع:

جمزاد، ز.(۱۳۹۲) فلور ایران. شماره ۷۶. *Lamiaceae*. موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع.

حسنی، الف.(۱۳۸۳) بررسی تنش شوری و خشکی ناشی از نمک (NaCl) بر برخی ویژگی های ریختی و فیزیولوژیکی گیاه *Ocimum basilicum* پایان نامه دکتری. علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس.

خوش گفتار منش، الف. ح.(۱۳۸۷) اصول تغذیه گیاهی. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.

میرمحمدی میبدی، س. الف. و قریاضی، م. ب.(۱۳۸۲) جنبه های فیزیولوژیکی و اصلاحی تنش شوری گیاهان زراعی. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.

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

Ashraf, M., Mukhtar, N., Rehman, S. and Rha, E.S. (2004) Salt-induced changes in photosynthetic activity and growth in a potential medicinal plant Bishop's weed (*Ammi majus* L.). Photosynthetica, 42: 543-550.

Abdul, J., Gopi Sankar, R. B., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Sridharan, R. and Panneerselvam, R. (2007) Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and proline metabolism in *Catharanthus roseus* seedling under salt stress. Journal of Botany 73:190-195.

Aghaei, K., Ehsanpour, A. A., Shah, A. H. and Komatsu, S. (2008) Proteome analysis of soybean hypocotyl and root under salt stress. Amino Acids 36: 91–98.

Aghaei, K., Ehsanpour, A. A. and Komatsu, S. (2009). Potato responds to salt stress by increased activity of antioxidant enzymes. Journal of Integrated Plant Biology 51: 1095–1103.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.9.8.5]

Katerji, N., Van Hoorn, J. W., Hamdy, A. and Mastrorilli, M. (2000) Salt tolerance classification of crops according to soil salinity and to water stress day index. Agricultural water management 43: 99-109.

Kelen, M. and Tepe, B. (2008) Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three Salvia species from Turkish flora. Bioresource Technology 99: 4096-4104.

Kumar, P.A. and Bandhu, D. A., (2005) tolerance Salt and salinity effects on plants: a review Ecotoxicology and Environmental Safety, 60: 324- 349.

Mirza, M. and Ahmadi, L. (2000) Composition of the essential oil of *Salvia tropatana* Bunge. J. Essential Oil Research, 12**:** 575–576.

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: 184-186.

Sairam, R. K., Veerrabhadra, K., Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, Antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163:1037-1046.

Sajjadi, S. E. and Ghannadi, A. (2005) Essential oil of the Persian sage, *Salvia rhytidea* Benth. Acta Pharmaceotica 55: 321–326.

Selmar, D. (2008) Potential of salt and drought stress to increase pharmaceutical significant secondary compounds in plants. Agriculture and Forest Research, 58: 139–144.

Semnani, M. K., Goodarzi, A and Azadbakht, M. (2005) The essential oil of *Salvia aethiopis* L. Journal of Essential Oil Research 17: 274- 275.

Sudhakar, P. R., Reddy, M. P. and Veeranjaneyulu, K (1993) Effect of salt stress on the enzymes of proline synthesis and oxidation in Green gram seedling. Journal Plant Physiology141: 621-623.

Taarit, M. B., Msaada, K., Hosni, K., Hammami, M., Elyes Kchouk, M and Marzuk, B. (2009) Plant growth, essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions. Industrial Crops and Products 30: 333-337.

Timperio, A. M., Egidi, M. G., and Zolla, L. (2008) Proteomics applied on plant abiotic stresses: role of heat shock proteins (HSP). Journal of Proteomics 71: 391–411.

Verpoorte, R., Contin, A and Memelink, J. (2002) Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. Phytochemistry 1: 13–25.

Yousefzadi, M., Sonboli, A., Karimi, F., Ebrahimi, S. N., Asghari, B. and Zeinali, A. (2007) Antimicrobial activity of some Salvia species essential oils from Iran. Z Naturforsch C. 62:514-8.

Zaho, G., Mab, B. L. and Ren, C. Z. (2007) Growth, gas exchanges, chlorophyll fluorescence and ion content of naked oat in response to salinity. Crop Science 47:123-131.

Zhu, J. K. (2001) Plant salt tolerance. Trends in Plant Science 6: 66–71.

Aghaei, K. and Komatsu S. (2013) Crop and medicinal plants proteomics in response to salt stress. Frontiers in Plant Science 4: 1-8.

Ahmad, A. K. and El-Gawad, A. (2008) Tolerance of seven Faba bean varieties to drought and salt stresses .Journal of Agriculture and Biological Sciences, 4: 175-186.

Aziz, E. E., Al-Amier, H. and Craker, L. E (2008) Influence of salt stress on growth and essential oil production in peppermint, pennyroyal, and applemint. Jornal of Herbs Spices Medicinal Plants, 14:77–87.

Baghalian, K., Haghiry, A., Naghavi, M. R. and Mohammadi, A. (2008). Effect of saline irrigation water on agronomical and phytochemical characters of chamomile (*Matricaria recutita* L.). Scientia Horticulture 116: 437–441.

Bandehhagh, A., Toorchi, M., Mohammadi, A., Chaparzadeh, N., Hosseini Salekdeh,G. and Kazemnia, H. (2008) Growth and osmotic adjustment of canola genotypes in response to salinity. Journal of Food Agriculture and Environment 6: 201-208.

Bagci, E. and Kocak, A. (2008) Essential oil composition of the aerial parts of two *Salvia* L. (*S. multicaulis* Vahl. Enum and *S. tricochlada* Bentham) species from east Anatolian region (Turkey). International Journal of Science & Technology 3: 13-18.

Bates, L. Waldren, R. P. and Tear, I. P. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205–207.

Chaves, M. M., Maroco, J. P. and Pereira, J. S. (2003) Understanding plant response to drought, from genes to the whole plant. Functional Plant Biology, 30: 239-264.

Girija, C. B., Smith, N. P. and Swamy, M. (2002) Interactive effects of sodium chloride and calcium chloride on the accumulation of proline and glycinebetaine in peanut (*Arachis hypogaea L.*). Environtal and Experimental Botany 47: 1-10.

Hasni, I., Ben Ahmed, H., Bizid, E., Raies, A., Samson, G. and Zid, E. (2009.). Physiological characteristics of salt tolerance in fenugreek (*Trigonella foenum graecum L.*). The Proceeding of International Plant Nutrition Colloquim XVI, UC Davis.

Hogland, D. R. (1949). Fertilizers, soil analysis and plant nutrition. Circular, California Agricultural Experiment Station, Berkeley, Calif.

Irigoyen, J. J. Emerich, 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: 5–60.

Jamil, M., Lee, D. B., Jung, K.Y., Ashraf, M. S. Lee, C. and Raha, E. S. (2006) Effect of salt stress on germination and early seedling growth of four vegetable species. Journal of Centeral Europian Agriculture, 27: 47-59.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-30]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.9.8.5]