

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

کیوان آقائی<sup>\*</sup>، نجمه طایی<sup>۱</sup>، محمد رضا کنعانی<sup>۳</sup> و مهناز یزدانی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، <sup>۲</sup>دانشگاه شهید بهشتی تهران، <sup>۳</sup>پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی

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

چکیده:

شوری یکی از عوامل اصلی کاهش دهنده رشد و عملکرد بسیاری از محصولات کشاورزی در سراسر دنیا می‌باشد. شوری رشد گیاهان دارویی و ترکیب متابولیت‌های ثانویه در آنها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. *Salvia spinosa* و *Salvia viridis* 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 مریم‌گلی تاکنون بررسی نشده است، برخی از شاخص‌های رشد و صفات بیوشیمیایی و ترکیب انسانس 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 هوگلندر در شرایط کشت هیدرопونیک در غلظت‌های صفر، 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 انسانس 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 هر دو گونه کاهش یافت که در گونه *S. spinosa* کمتری مشاهده شد. شوری موجب افزایش برخی از ترکیبات تشکیل دهنده انسانس مانند: *S. viridis* در گونه *Pinene* و *Carene* 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: انسانس، پرولین، تنش شوری، قندهای محلول، *S. spinosa*، *S. viridis*

مقدمه: (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 میدی و قریاضی، ۱۳۸۲). در خاک‌های شور یا سدیمی،

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

*verticillata* در ایران مورد بررسی قرار گرفته است و خاصیت ضدبacterیایی اسانس مریم گلی به وجود ترکیب ۱ او ۸ سینتول در آن نسبت داده شده است (Yousefzadi, et al., 2007). ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گونه های مختلف این جنس در ایران نیز که تماماً از زیستگاه های طبیعی جمع آوری شده اند توسط محققین مختلفی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است (Sajjadi, and Ghannadi, 2005; Semnani, et al. 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, Bagci, and Kocak, 2008) spathulenol, caryophyllene (Medin, et al., 2006, بر رشد و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در دو گونه *S. viridis* و *S. spinosa* د 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 می باشد 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 روش ها:

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

غلاظت بالای سدیم نه تنها باعث اختلال در جذب پتانسیم در ریشه ها می شود، بلکه ممکن است غشای سلول های ریشه را نیز تخریب کرده و توان آن ها را در ورود انتخابی سایر یونها تغییر دهد (خوش گفتار منش، ۱۳۸۷). تنش شوری علاوه بر کاهش شاخص های رشد، تولید متابولیت های ثانویه و اسانس ها را هم در گیاهان دارویی تحت تأثیر قرار می دهد. 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 تأثیر 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 مقداری زیادی از ترکیبات ثانویه تجمع می یابند. 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 and Orooj, 2006)، زنیان (Ashraf and Orooj, et al., 2004) و ریحان (حسنی، ۱۳۸۲) نیز قبلاً گزارش شده است.

مریم گلی از خانواده نعناعیان با ۹۰۰ تا ۵۸۰ گونه، در سراسر جهان رویشی وسیع دارد. این جنس در ایران دارای ۱۷ گونه گیاه علفی یک ساله و چندساله است که در سراسر کشور پراکنده هستند و گونه آن انحصاری ایران می باشند (جمزاد، ۱۳۹۲). گونه های مختلف جنس سالویا دارای خواص ضد باکتری، ضد قارچی، ضد تووموری، 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، ناراحتی های گوارشی و سل مورد استفاده قرار می گیرند (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

طول موج ۵۲۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر (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 و سپس 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 اسپکتروفوتومتر (Beckman, Fullerton, CA) اندازه گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز میزان قندهای محلول محاسبه گردید.

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

**بررسی آماری:** آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار برای هر تیمار انجام شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SAS نتایج گردید و مقایسه میانگین ها هم با آزمون LSD انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم شدند. بارهای عمودی در هر ستون در نمودارها معرف SE ± می باشد.

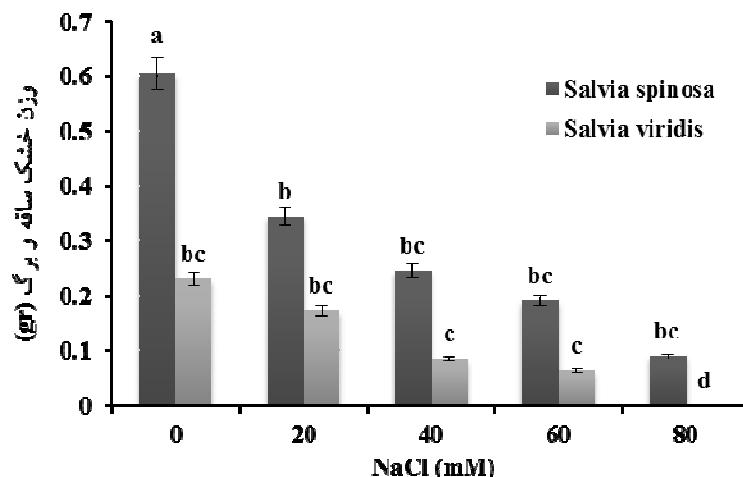
#### نتایج:

**اثر تنش شوری بر شاخص های رشد:** شکل ۱ نشان می دهد که با افزایش سطح شوری وزن خشک اندام هوایی کاهش یافته

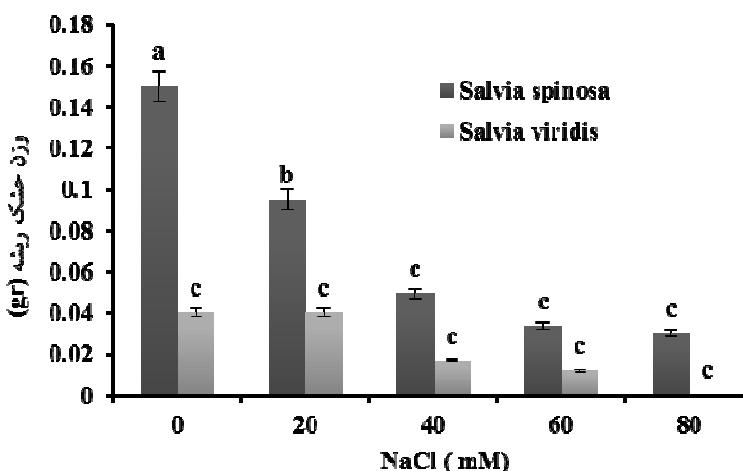
اعمال تیمارشوری کشت داده شده و به اتاق کشت با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با دمای  $25\pm 1$  درجه سانتیگراد متقل شدند. یک هفته پس از رشد دانه رست ها در این محیط، گیاهان در همان شرایط هیدروپونیک و در محیط کشت مایع هوگلند در غلظت های مختلف نمک شامل: صفر (شاهد)، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی مولار 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 کاملاً تصادفی انجام شد. pH محیط کشت در گلدان ها هر سه روز یک بار اندازه گیری شد (pH=۵/۸) و هر شش روز یک بار محیط کشت گلدان ها 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 عنصر سدیم، پتاسیم، قند های محلول، پرولین و استخراج انسانس 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 گردید 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 فوتومتر (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



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف نمک بر وزن خشک ساقه و برگ در دو گونه مریم گلی. حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد.



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف نمک بر وزن خشک ریشه در دو گونه مریم گلی. حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد.

طوری که در گونه *S. spinosa* از میزان ۶۲/۷۹۲ میلی گرم بر گرم وزن خشک در تیمار شاهد به میزان ۲۰/۶۹۷ میلی گرم در تیمار ۸۰ میلی مولار و در گونه *S. viridis* از میزان ۳۳/۸۵۲ میلی گرم در تیمار شاهد به میزان ۹/۷۳۵ میلی گرم در تیمار ۶۰ میلی مولار  $\text{NaCl}$  کاهش یافته است (شکل ۳).

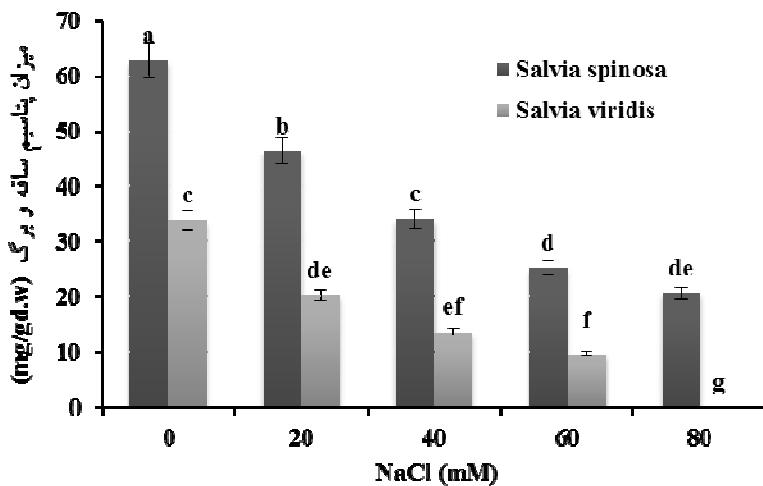
شکل ۴ نشان می دهد که با افزایش غلظت نمک میزان پتابیم ریشه در هر دو گونه کاهش می یابد به طوری که کمترین میزان آن در تیمار ۸۰ میلی مولار نمک مشاهده می شود. بین دو گونه مورد نظر از نظر میزان کاهش پتابیم ریشه تفاوت معنی داری مشاهده نمی شود.

با توجه به شکل ۵ می توان گفت که با افزایش شوری

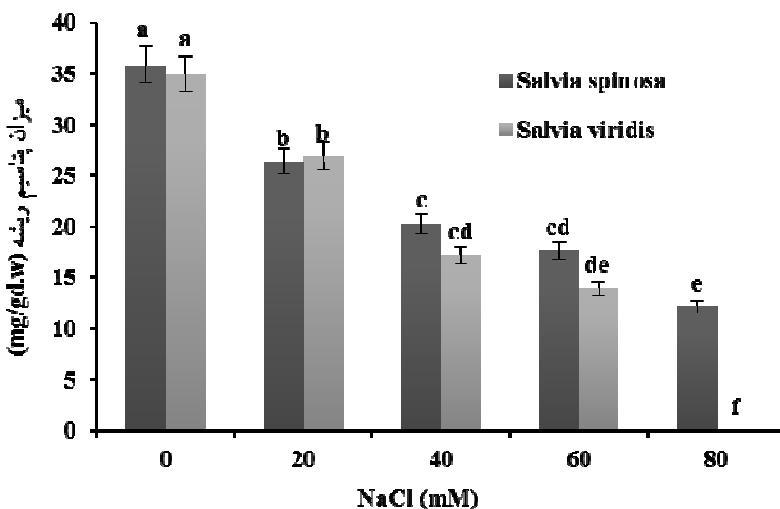
است و کمترین مقدار وزن خشک در گونه *S. spinosa* در تیمار ۸۰ میلی مولار و در گونه *S. viridis* در تیمار ۶۰ میلی مولار مشاهده گردید.

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 (شکل ۲).

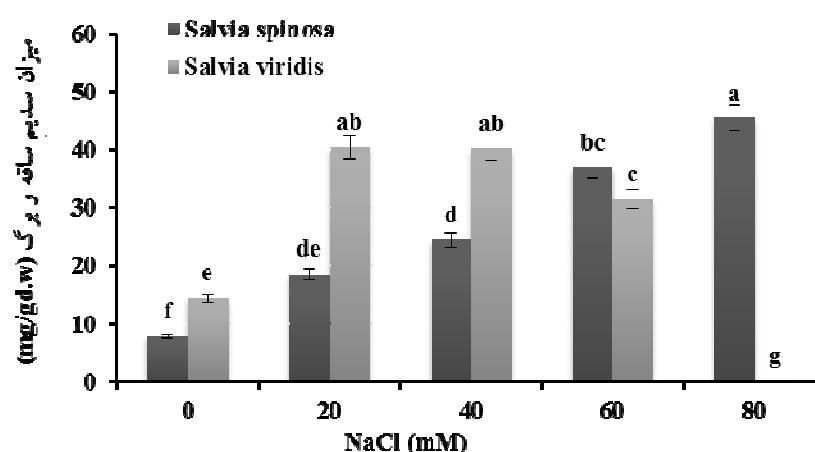
اثر تنش شوری بر میزان عناصر سدیم و پتابیم: با افزایش غلظت نمک ، میزان پتابیم ساقه و برگ کاهش یافته است، به



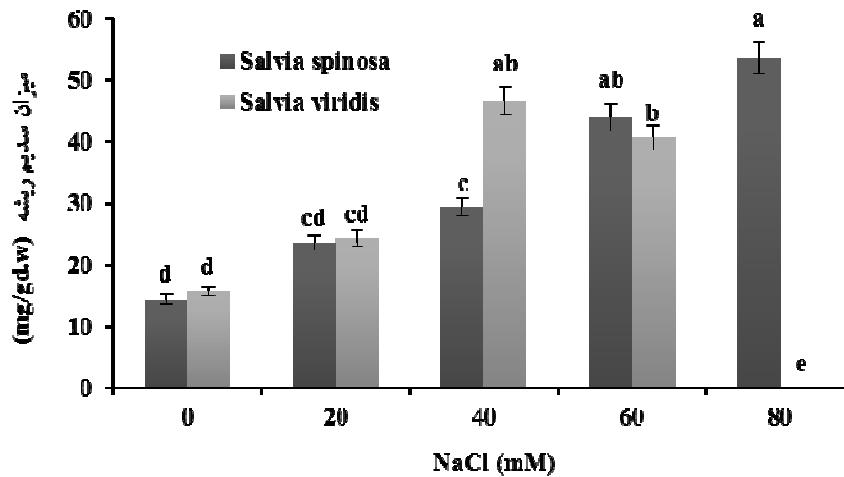
شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف نمک بر پتانسیم ساقه و برگ در دو گونه مریم گلی. حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



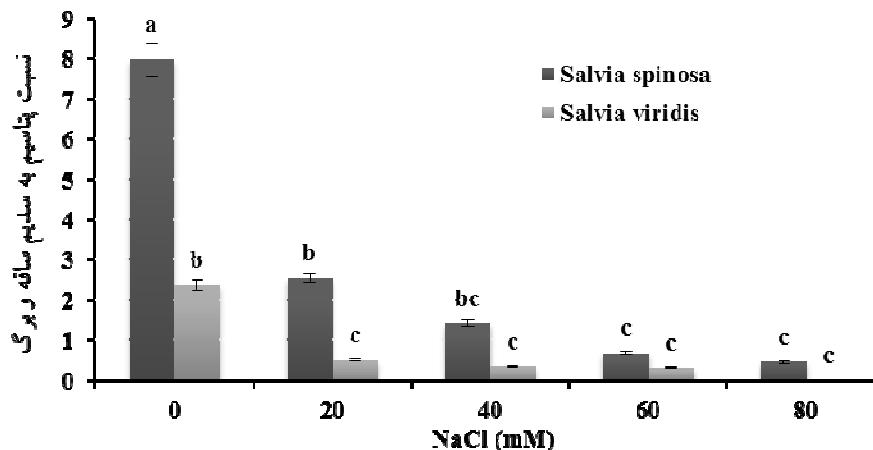
شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف نمک بر پتانسیم ریشه در دو گونه مریم گلی. حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



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



شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف نمک بر سدیم ریشه در دو گونه مریم گلی. حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد.



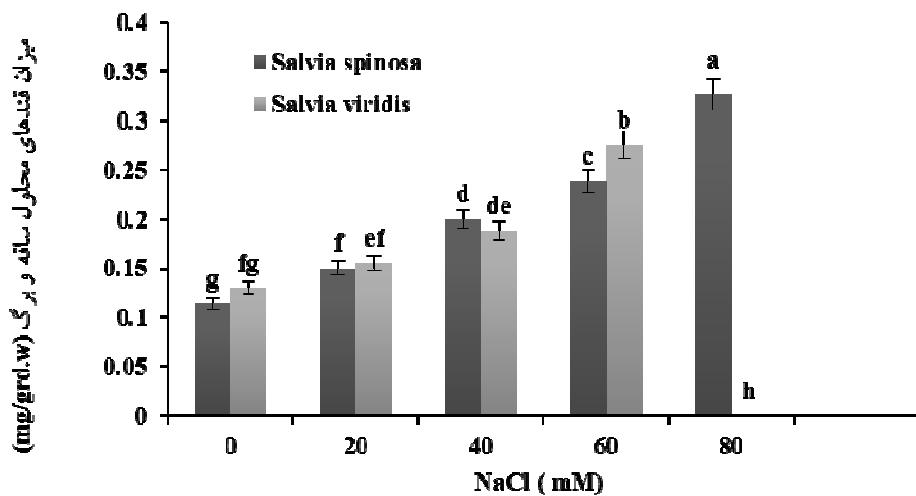
شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف نمک بر نسبت پاتاسیم به سدیم ساقه و برگ در دو گونه مریم گلی. حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد.

شکل ۷ نشان می‌دهد که افزایش میزان شوری نسبت پاتاسیم 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 مقدار ۰/۳۰ در تیمار ۶۰ میلی مولار به دست آمد (شکل ۷).

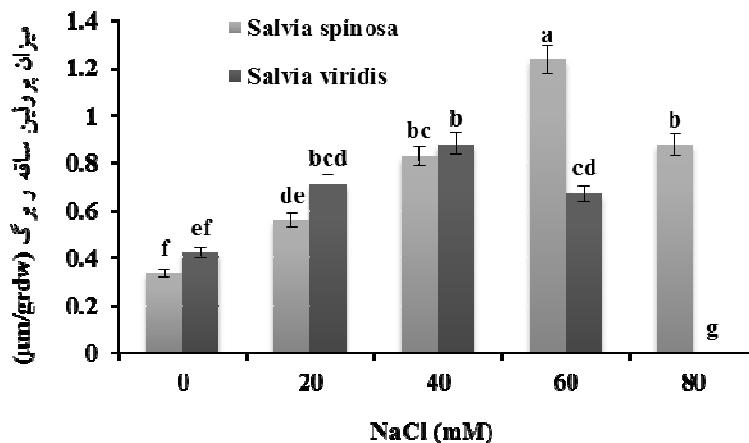
تأثیر تنفس شوری بر پارامترهای بیوشیمیایی: با افزایش میزان شوری میزان قندهای محلول در هر دو گونه افزایش یافته است (شکل ۸) به طوری که بیشترین مقدار در گونه *S. spinosa* و به میزان ۰/۳۲۶ میلی گرم بر گرم وزن خشک در تیمار ۸۰ میلی مولار مشاهده می‌شود و همچنین در گونه

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



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



شکل ۹- اثر غلظت‌های مختلف نمک بر پرولین ساقه و برگ در دو گونه مریم گلی. حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

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 شاخص‌های مختلف رشد قابل اندازه گیری و مشاهده بود و بنابر این اثر آن بر میزان متabolیت‌های 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 متabolیت‌های ثانویه از خود بروز دهد. در انسان به دست آمده از تیمار شاهد ۲۸ ترکیب شناسایی گردید که در مجموع ۹۸/۶ درصد از کل اجزاء انسانس را تشکیل می‌دادند. ترکیبات عمده شناسایی شده در انسانس تیمار شاهد

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 میلار حدود دو برابر بیشتر از گونه *S. viridis* می‌باشد.

با توجه به تولید بسیار اندک انسانس در گونه *S. spinosa* در تیمار ۴۰ میلی مولار و عدم امکان آنالیز انسانس در این گونه، تنها ترکیبات انسانس گونه *S. viridis* در دو تیمار شاهد و

جدول ۱- ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس حاصل از گونه *S. viridis*

ردیف	نام ترکیب	زمان بازداری	درصد ترکیبات در تیمار شاهد	درصد ترکیبات در تیمار مولار ۴۰ میلی مولار
۱	$\alpha$ -Thujene	۹۳۱	۰/۲	۰/۱
۲	$\alpha$ -Pinene	۹۳۸	۲/۲	۳/۷
۳	Camphene	۹۵۱	۰/۱	۰/۱
۴	$\beta$ -Pinene	۹۷۸	۲۱/۱	۲۱/۹
۵	Myrcene	۹۹۰	۰/۲	۵/۱
۶	$\beta$ -Phellandrene	۱۰۲۹	۱/۱	۰/۸
۷	$\delta$ -3-Carene	۱۰۳۱	۲/۶	۳/۳
۸	(Z)- $\beta$ -Ocimene	۱۰۳۸	۰/۲	۰/۳
۹	(E)- $\beta$ -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	$\alpha$ -Cubebene	۱۳۵۷	۰/۵	۰/۶
۱۵	$\alpha$ -Copaene	۱۳۷۲	۰/۹	۰/۴
۱۶	$\beta$ -Cubebene	۱۳۸۶	۰/۲	۰/۵
۱۷	$\beta$ -Bourbonene	۱۳۸۷	۳/۱	۲/۶
۱۸	$\beta$ -Elemene	۱۳۸۹	۰/۸	۰/۴
۱۹	(Z)-Caryophyllene	۱۴۰۵	۰/۲	۰/۷
۲۰	(E)-Caryophyllene	۱۴۱۴	۰/۳	۰/۸
۲۱	$\beta$ -Copaene	۱۴۲۸	۱۱/۱	۱۰/۷
۲۲	$\gamma$ -Elemene	۱۴۳۵	۰/۳	۰/۱
۲۳	$\alpha$ -Humulene	۱۴۶۶	۰/۹	۶/۱
۲۴	$\gamma$ -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	$\gamma$ -Amorphene	۱۴۹۳	۰/۲	۰/۱
۲۸	Bicyclogermacrene	۱۵۰۵	۰/۴	۰/۵
۲۹	$\alpha$ -Muurolene	۱۵۰۴	۰/۲	۰/۲
۳۰	$\gamma$ -Cadinene	۱۵۱۱	۰/۴	۰/۶
۳۱	$\delta$ -Cadinene	۱۵۱۹	۴/۳	۳/۷
۳۲	$\alpha$ -Cadinene	۱۵۳۴	۰/۱	۰/۱
۳۳	$\alpha$ -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	$\alpha$ -Cadinol	۱۶۰۱	۰/۷	۰/۸
۳۸	(E)-Calamenen-10-ol	۱۶۶۸	۰/۱	-
۳۹	$\delta$ -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	۹۸/۶	۹۷/۸

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. مقایسه میزان پتاسیم ریشه و اندام هوایی در هر دو گونه، نشان دهنده 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  $\text{Na}^+$  در رقابت با جذب  $\text{K}^+$  به میزان بیشتری صورت گرفته و منجر به کاهش نسبت  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  و سمیت سدیمی می‌شود. کاهش میزان  $\text{K}^+$  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 می‌شود، کاهش پتانسیل اسمزی و همچنین سمیت ناشی از افزایش سدیم گیاه را با مشکل مواجه می‌کند و تجمع یون  $\text{Na}^+$  در تنش ناشی از شوری، منجر به کاهش پتانسیل آب، تغییر در جذب یون‌های ضروری و عدم تعادل یونی و نهایتاً کاهش سرعت فتوستتروش محدود برگ‌ها می‌گرد (Sairam *et al.*, 2002). Hasni و همکاران (۲۰۰۹) نیزگزارش کردند که میزان پتاسیم در اندام‌های هوایی گیاه *L. foenum graecum* در *Trigonella foenum graecum* 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 غلظت‌های بالا کاهش شدید توان سنتز ناشی از کاهش شدید فتوستترودر

شامل مواد زیر بودند:  $\alpha$ -Humulene (٪/۵/۹)،  $\beta$ -Pinene (٪/۱۳/۶)، Germacrene-D (٪/۱۱/۱)،  $\beta$ -Copaene (٪/۲۱/۱)، (E)-Murola-4,5-diene (٪/۶/۴)، Caryophyllene oxide (٪/۳/۲)،  $\alpha$ -Pinene (٪/۵/۲)، Myrcene (٪/۸/۵)،  $\beta$ -Cadinene (٪/۴/۳)،  $\delta$ -Cadinene (٪/۳/۱)، Bourbonene انسان حاصل از تیمار ۴۰ میلی مولار نمک، ۳۹ ترکیب شناسایی گردید که در مجموع ۹۷/۸ درصد از کل اجزاء انسان را تشکیل می‌دادند (جدول ۱). ترکیبات عمده شناسایی شده در این تیمار عبارتند از:  $\beta$ -Pinene (٪/۶/۱)،  $\alpha$ -Humulene (٪/۱۲/۹)، Germacrene-D (٪/۱۰/۷)،  $\beta$ -Copaene (٪/۲۱/۹)، (E)-Murola-4,5-diene (٪/۶/۷)، Caryophyllene oxide (٪/۳/۷)،  $\alpha$ -Pinene (٪/۵/۱)، Myrcene (٪/۸/۱)،  $\beta$ -Cadinene (٪/۲/۶)، Bourbonene (٪/۳/۷).

### بحث:

اثر تنش شوری بر شاخص‌های رشد رویشی و میزان سدیم و پتاسیم: کاهش وزن خشک بخش‌های هوایی و ریشه در گیاهان مریم گلی تحت تنش شوری در این آزمایش کاملاً 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 فتوستزی و رشد در گیاهان می‌باشد، کاهش این صفت نشان دهنده کاهش میزان فتوستز و رشد در گیاهان مریم گلی تحت تنش شوری می‌باشد. Jamil و همکاران (۲۰۰۶) 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 وسیله گیاه باشد (Jamil *et al.*, 2006). محققین چندین پاسخ فیزیولوژیکی از جمله تغییر در وضعیت آب، بازده فتوستزی، 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 بدليل مسمومیت یونی ناشی از تجمع یونهای سدیم و کلر، کاهش جذب پتاسیم و عوارض

*S. viridis* Calamenen-10-ol در انسان حاصل از گونه *S. viridis* کاهش یافته است. همچنین ترکیباتی تحت تنفس شوری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته‌اند که عبارتند از:  $\alpha$ -Pinene،  $\alpha$ -Linalool،  $\delta$ -3-Carene،  $\alpha$ -Pinene (E)-، (Z)-Caryophyllene،  $\beta$ -Cubebene،  $\gamma$ -Bicyclogermacrene،  $\alpha$ -Humulene، Caryophyllene  $\alpha$ -، Caryophyllene oxide،  $\alpha$ -Calacorene، Cadinene 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 تنفس شوری تولید آن قطع گردید.

علت دقیق افزایش برخی از ترکیبات و کاهش برخی دیگر در گیاهان مورد آزمایش تحت تنفس شوری مشخص نیست و ممکن است در گیاهان تحت تنفس شوری برخی از آنزیم‌های مربوط به مسیرهای بیوستزی و یا تجزیه‌ای دخیل در متابولیسم متابولیت‌های ثانویه دستخوش تغییر شده باشند که ممکن است حتی در سطح بیان برخی از آنها نیز چنین تغییراتی صورت گیرد که می‌توان با بررسی تغییرات بیان آنها در گیاهان تحت تنفس به شناسایی چنین ژنهای مبادرت ورزید. تغییر نوع و میزان ترکیبات تشکیل دهنده انسان تحت تنفس شوری در سایر گونه‌های مریم گلی و گیاهان دارویی دیگر نیز مشاهده شده است. در آزمایشی که *Salvia officinalis* بر روی گونه‌ای از مریم گلی بنام Manool صورت گرفت در غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ میلی مولار نمک ترکیب او-۸-Cineole و در غلظت ۱۰۰ میلی مولار *Cineole* بیشترین درصد را دارا بودند. همچنین مونوترپن‌های اکسیزن دار و دی‌ترپن‌ها جزء ترکیبات عمدۀ این گیاه دارویی شناسایی شده است (Taarit, et al., 2009). همچنین مخصوص گردید که شوری محتوای انسان گونه‌های مختلف نعناع را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (Prasad et al, 1996). تنفس شوری میزان انسان را در گیاه خلاله شیطانی، رازیانه و زینیان کاهش می‌دهد (Ashraf and Orooj, 2006)، (Ashraf and Orooj, 2004). اثر تنفس شوری بر ترکیبات انسان

این گیاه در غلظت ۶۰ میلی مولار نمک باشد که برای این گونه تنفس شدید محسوب می‌شود که از بین رفتان این گیاهان در غلظت‌های 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 پروولین روند افزایشی را ادامه نمی‌دهد. به نظر می‌رسد تجمع زیاد پروولین، گیاه را قادر می‌سازد که تنفس 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، پروولین به عنوان یک ذخیره انرژی و نیتروژن به کار می‌رود (Sudhakar et al., 1993). در گیاهان دیگر نیز پاسخ‌های مشابهی به تنفس شوری مشاهده شده است. تجمع پروولین و قند‌های محلول را در بخش‌های هوایی گیاهان سیب زمینی و محور زیر لپه در گیاه سویا تحت تنفس شوری گزارش شده و تجمع این ترکیبات را به عنوان یکی از مکانیسم‌های تحمل شوری در ارقام کمتر حساس سیب زمینی (Aghaei et al., 2008) و سویا (Aghaei et al., 2009) نمودند. Bandehhagh و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که گیاه رزماری تحت تنفس شوری از تجمع پروولین و قند‌های محلول برای حفظ فشار اسمزی و کاهش زیان در برابر تنفس شوری استفاده می‌کند (Bandehhagh et al., 2008). تجمع قند‌های محلول در اندام هوایی گیاهان زراعی تحت تنفس شوری با وجود کاهش در جذب  $CO_2$  نیز گزارش گردیده است (Chaves et al., 2003). به طور کلی گیاهان در مواجهه با تنفس 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 تنفس شوری بر ترکیبات تشکیل دهنده انسان: در اثر تنفس شوری ترکیباتی نظیر:  $\alpha$ -Thujene،  $\alpha$ -Myrcene،  $\alpha$ -Copaene، Terpinolene، (E)- $\beta$ -Ocimene، Phellandrene،  $\gamma$ -Elemene،  $\beta$ -Copaene،  $\beta$ -Elemene،  $\beta$ -Bourbonene،  $\gamma$ -Amorphene، (E)-Muurola-4,5-diene، Germacrene-D (E)-Hmnulene epoxide، Germacrene-B،  $\delta$ -Cadinene

### نتیجه گیری کلی:

با توجه به تقسیم بنده که Katerji و همکاران (2000) در طبقه بنده برخی از گیاهان زراعی انجام داده اند و دامنه تحمل شوری را در این گیاهان مشخص کرده اند، می‌توان گفت که گونه‌های مریم گلی مورد بررسی در این آزمایش جزء گونه‌های حساس به شوری تلقی می‌شوند هرچند که این حساسیت در گونه *S. spinosa* اندکی کمتر بوده و این گونه با افزایش تولید پروولین و نیز جلوگیری از کاهش نسبت پتابسیم به سدیم در شرایط تنفس شوری تا حدودی از خود مقاومت نشان داد. با توجه به اینکه در این آزمایش برخی از ترکیبات اصلی تشکیل دهنده انسانس در گونه *S. viridis* تحت تنفس شوری افزایش پیدا کردند و چند ترکیب هم تنها در گیاهان تنفس دیده تولید شد می‌توان نتیجه گرفت که تنفس ها و از جمله تنفس شوری قادر هستند که تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی را تحت تاثیر قرار دهند و می‌توان با مشخص کردن مسیر استراتژیک این ترکیبات و شناخت آنزیم‌های مؤثر در این مسیر ها و افزایش بیان ژن یا ژن‌های دخیل در ستر این آنزیم‌ها از این پتانسیل برای مهندسی تولید ترکیبات ثانویه و افزایش کیفیت انسانس در این گیاهان و سایر گیاهان دارویی بهره گرفت.

- 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.

در چندگیاه دارویی دیگر نیز از جمله نعناع (Timperio *et al.*, 2008) و سیب (Aziz, 2008) گزارش شده است. اگر چه ترکیبات اصلی در انسانس باپونه تحت تنفس افزایش یافته است

(Baghalian *et al.*, 2008) اما با این وجود در مرزنجوش و رازیانه برخی از ترکیبات اصلی انسانس مانند: carvacrol و p-cymene  $\gamma$ -terpinene تحت تأثیر تنفس شوری کاهش یافته است (Timperio *et al.*, 2008).

کاهش عملکرد انسانس در نتیجه تنفس شوری ممکن است ناشی از اثر زیان آور تنفس بر رشد و عملکرد رویشی گیاه مریم گلی در شرایط شوری باشد و در نتیجه عملکرد انسانس هم کاهش می‌یابد. اگرچه اهمیت انسانس‌ها و ترکیبات ثانویه گیاهی از دیر باز مورد توجه قرار گرفته است با این حال، در زمینه 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 می‌باشد (Aghaei and Komatsu, 2013).

### منابع:

- جمزاد، ز. (۱۳۹۲) فلور ایران. شماره ۷۶ موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع.
- حسنی، الف. (۱۳۸۳) بررسی تنفس شوری و خشکی ناشی از نمک (NaCl) بر برخی ویژگی‌های ریختی و فیزیولوژیکی گیاه *Ocimum basilicum* پایان نامه دکتری. علوم باگبانی، 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) جنبه‌های فیزیولوژیکی و اصلاحی تنفس شوری گیاهان زراعی. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.

- 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., Veerabhadra, 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 rhytidia* Benth. Acta Pharmaceutica 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., Msadaa, 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. Jurnal of Herbs Spices Medicinal Plants, 14:77-87.
- Baghalian, K., Haghirey, 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 Central European Agriculture, 27: 47-59.