تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک/ جلد ششم، شماره اول، بهار ۱۴۰۳، ص ۵۰-۳۳

مقاله پژوهشی

# بررسی اثر تنش کم‌آبیاری بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی برازمبل (*S. abrotanoides*)

**مهوش افشاری[1*]، مهدی رحیم ملک[2]، محمدرضا سبزعلیان[1]**

۱- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
* مسئول مکاتبه: m.afshari1992@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۲ **DOI: 10.22034/CSRAR.2024.338848.1228**

**چکیده**

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که رشد، نمو و فرایندهای بیوشیمیایی گیاه مانند تولید متابولیت‌های ثانویه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. گیاه برازمبل (زیرجنس *Perovskia* از جنس *Salvia*) متعلق به تیره نعناعیان می‌باشد و مصارف دارویی فراوانی دارد. به منظور بررسی اثر تنش کم‌آبیاری بر محتوای پلی‌فنول‌ها، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس دو جمعیت برازمبل از گونه *S. abrotanoides*، آزمایشی در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان در دو سال متوالی ۱۳۹۹-۱۴۰۰ اجرا شد. سطوح رطوبتی اعمال شده شامل: در حد ظرفیت زراعی مزرعه (شاهد)، ۷۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش ملایم) و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید) بود. نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش رطوبتی میزان فنول و فلاونوئید کل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، غلظت پرولین و درصد اسانس نسبت به شاهد افزایش یافت. هم‌چنین، در مقایسه بین دو جمعیت، بیشترین مقدار فنول و فلاونوئید کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در جمعیت ابیانه نسبت به جمعیت دیگر و در سال دوم زراعی مشاهده گردید. هم‌چنین در سطوح تنش ملایم و شدید، درصد همه ترکیبات غالب اسانس (دلتا ۳ کارن، کمفور، ۱و۸ سینئول، برنئول، میرسن و آلفاپینن) افزایش یافت و در نتیجه موجب بهبود کیفیت اسانس این گیاه گردید. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که تنش خشکی ملایم و شدید به طور قابل توجهی باعث افزایش متابولیت‌های ثانویه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد ترکیبات اصلی اسانس شد و این موضوع بینشی برای بهبود کمی و کیفی اجزای زیست فعال گیاه برازمبل با ایجاد تنش رطوبتی مدیریت شده فراهم می‌کند.

**واژه‌های کلیدی:** تنش رطوبتی، خانواده نعناعیان، فلاونوئید، فنول کل، مونوترپن‌ها

## مقدمه

امروزه گیاهان دارویی، از اهمیت چشمگیری در بین محصولات کشاورزی برخوردار می‌باشند و پیشرفت در زمینه تولید و افزایش کیفیت گیاهان دارویی یکی از اهداف مهم فعالان بخش کشاورزی به شمار می‌آید. گیاهان دارویی در ایران جزء ذخایر ژنتیکی ارزشمند محسوب می‌شوند. امروزه بسیاری از تحقیقات علوم گیاهی به جنبه‌های مختلف کاربردی این گیاهان معطوف شده است؛ از این‌رو پژوهشگران کشورهای مختلف، تحقیقات ارزشمندی را در زمینه گیاهان دارویی به انجام رسانده‌اند (Sabagh *et al*., 2017). گیاه دارویی برازمبل (زیرجنس *Perovskia* از جنس *Salvia*) متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) و گیاهی درختچه‌ای و چندساله می‌باشد. هم‌چنین از نظر فیلوژنی، شباهت این گیاه دارویی با ارزش و کمتر شناخته‌شده به زیر گروه شماره یک جنس سالویا بسیار بیشتر از سایر گونه‌های سالویا است و در این طبقه بندی‌ها، گروه خواهری برازمبل با رزماری نیز حائز اهمیت می‌باشد (Drew and Sytsma, 2012). از نظر جغرافیایی، این گیاه بومی جنوب غرب آسیا و آسیای مرکزی می‌باشد و از پراکنش وسیعی در استان‌های گلستان، اصفهان، خراسان رضوی و جنوبی، مازندران و سیستان‌وبلوچستان برخوردار است. در منابع برای زیر جنس *Perovskia* نُه گونه ذکر شده است؛ که سه گونه *S. abrotanoides*، *S. atriplicifolia* و *S. artemisioides* متداول‌ترین در ایران هستند. برای این گیاه خواص دارویی مختلف نظیر درمان تیفوئید، سالک، مالاریا، تب بر، مسکن دردهای روماتیسمی، کنترل عفونت و تأثیرات ضد التهابی ذکر شده است (Ghaffari *et al*., 2019).

متابولیت‌های ثانویه از بیوسنتز متابولیت‌های اولیه به دست می‌آیند و به عنوان ترکیبات فرعی و انتهایی متابولیسم اولیه در

نظر گرفته می‌شوند. هم‌چنین این ترکیبات در فرآیندهای متابولیسمی وارد نمی‌شوند اما ابزار مهمی در گیاهان برای مقابله با علف‌خواران و میکروب‌ها به شمار می‌آیند. از جمله مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه؛ آلکالوئیدها، فنولیک‌ها، روغن‌های ضروری، تانن‌ها و فلاونوئیدها هستند. این ترکیبات عمدتاً در سلول‌های تخصصی و در مرحله خاصی از چرخه زندگی گیاه تولید می‌شوند و همین امر، استخراج و تخلیص آن‌ها را در مقایسه با متابولیت‌های اولیه که در تمام سلول‌ها تولید می‌شوند، دشوار می‌نماید (El-Sayed *et al*., 2019).

به‌طورکلی، ۷۰-۸۰ درصد اسانس برازمبل را مونوترپن‌های اکسیژن‌دار نظیر کامفور، برنیل استات و ۱و۸ سینئول (به‌عنوان بارزترین مونوترپن در اسانس آن‌ها) و سسکویی‌ترپن‌های هیدروکربن‌دار غالب شامل آلفا-هیومولن، آلفا و بتا-کاریوفیلن، گاما و دلتا-کادینن، شامل می‌شوند (Hafez Ghoran *et al*., 2016). در پژوهشی مشاهده نمودند که اسانس اندام هوایی حاوی گل *S. abrotanoides*، دارای ترکیباتی با خاصیت سیتوتوکسینی است و نقش مهمی در حفظ محصولات انباری به عنوان دفع‌کننده آفات دارد، که این خاصیت را به ترکیب ۱و۸ سینئول نسبت دادند (Arabi *et al*., 2008).

از اهداف اصلی به‌نژادی گیاهان دارویی، افزایش کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه می‌باشد. استفاده از محرک‌های زنده و غیر زنده‌ای که بتوانند مسیرهای متابولیکی سنتز متابولیت‌های ثانویه را تحت تأثیر و میزان تولید آن‌ها را افزایش دهند، از جمله این راهکارهاست. خشکی از جمله تنش‌های فیزیکی است که به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و تولید گیاهان در اکثر نقاط جهان و خصوصاً ایران شناخته می‌شود. پژوهش‌های بسیاری اظهار داشته‌اند که خشکی یک تنش چند بعدی است که تمام جنبه‌های رشدی گیاه از جمله آناتومی، مورفولوژی، فیزیولوژی، بیوشیمیایی و بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. هم‌چنین، صدمات اکسیداتیو نیز از عوامل مهم محدودکننده تولیدات گیاهی هستند که در اثر تنش خشکی ایجاد می‌شوند (Gharibi *et al*., 2019).

مطالعات متعددی در زمینه تأثیر تنش رطوبتی و خشکی بر میزان متابولیت‌های ثانویه و اسانس در گیاهان دارویی مختلف نظیر خرفه (*Portulaca oleracea*) (Hosseinzadeh *et al*., 2019)، آویشن (*Thymus vulgaris*) (Arpanahi and Feizian, 2019)، ماریتیغال (*Silybum marianum*) (El-Sayed *et al*., 2019)، بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) (Ghanbarzadeh *et al*., 2019)، بومادران (*Achillea pachycephala*) (Gharibi *et al*., 2019)، کنگر فرنگی (*Cynara cardunculus*) (Nouraei *et al*., 2018)، مریم گلی (*Salvia officinalis*) (Vosoughi *et al*., 2018)، مرزنجوش (*Origanum vulgare*) (Morshedloo *et al*., 2017)، رازیانه (*Foeniculum vulgare*) (Zardak *et al*., 2017) بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) (Farahani *et al*., 2009)، و مورد (*Myrtus communis*) (Caravaca *et al*., 2005) انجام شده است.

رادیکال‌های آزاد به دلیل داشتن الکترون آزاد، گونه‌هایی فعال و در نتیجه ناپایدار هستند. گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شامل آنیون‌سوپراکسید، رادیکال‌هیدروکسیل و پراکسیدهیدروژن، به علت تمایل زیاد برای واکنش با سایر مولکول‌ها می‌توانند به سلول‌ها و بافت‌ها آسیب برسانند. این مولکول‌ها در غلظت‌های بالا موجب ایجاد وضعیتی به نام استرس اکسیداتیو می‌شوند که در اثر برهم خوردن تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد از یک سو و تضعیف سیستم آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر ایجاد می‌شود. گیاهان دارویی قادرند تحت استرس‌های محیطی با سنتز مواد مؤثر ثانویه و فعال از جمله ترپنوییدها، پلی‌فنول‌ها و آلکالوییدها، در پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد و کلاته‌کنندگی فلزات مؤثر واقع شوند (Morshedloo *et al*., 2017).

تاکنون پژوهش‌های بسیار محدودی بر گیاه برازمبل معطوف گردیده است. پژوهشگرانی تأثیر نور LED بر روند انباشت ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها در دو گونه برازمبل شامل *S. abrotanoides* و *S. atriplicifolia* را بررسی نمودند (Ghaffari *et al*., 2019). در تحقیقی خاصیت آنتی‌اکسیدانی گونه *S. abrotanoides* مورد بررسی قرار گرفته است (Ashraf *et al*., 2014). در مطالعه‌ای روی عصاره اتانولی گونه *S. abrotanoides* جمع‌آوری شده از استان سمنان، مشاهده گردید که بین قدرت عصاره گیاهی در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد و میزان ترکیبات فنولیک در این گیاه ارتباط معنی‌داری وجود داشت (Ghafourian and Mazandarani,

2017). در پژوهش دیگری تأثیر مراحل مختلف فنولوژیک بر میزان تجمع فنول و فلاونوئید کل در *S. abrotanoides* مورد بررسی قرار گرفته است (Sabagh *et al*., 2017). در گزارش دیگری، کمیت ترکیبات اسانس گونه *S. artemisioides* با استفاده از روش GC-MS[1] بدست آمد (Hafez Ghoran *et al*., 2016). در مطالعه‌ای دیگر، ترکیبات فنولیک و خاصیت آنتی‌اکسیدانی را در گونه *S. abrotanoides* ارزیابی شده است (Ghaderi *et al*., 2019).

با توجه به اهمیت و کاربرد اسانس‌ها در صنایع مختلف دارویی، غذایی و آرایشی و بهداشتی، استخراج و مطالعه اجزای تشکیل دهنده آن‌ها از مواد گیاهی مختلف بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است. هم‌چنین با توجه به قرارگیری بخش زیادی از ایران در مناطق خشک و نیمه خشک و نقش مهم تنش رطوبتی بر سنتز ثانویه متابولیت‌های ثانویه و خواص دارویی متعدد گیاه مورد مطالعه، مطالعات اندکی در زمینه ارزیابی تنش‌های غیرزیستی نظیر خشکی و روند تغییرات خواص آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌های ثانویه برازمبل در شرایط مذکور، به ویژه در ایران، در دسترس می‌باشد. بنابراین در همین راستا، هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر سطوح مختلف رطوبتی بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دو جمعیت برازمبل از گونه *S. abrotanoides* بود.

## مواد و روش‌ها

قلمه دو جمعیت برازمبل از گونه *S. abrotanoides* جمع‌آوری شده از دو منطقه ایران (جدول ۱) در سه محیط رطوبتی عدم تنش (شاهد)، تنش خشکی متوسط و تنش خشکی شدید در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در ۴۰ کیلومتری جنوب غربی اصفهان در منطقه لورک نجف آباد (عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۳۲ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۲ دقیقه شرقی، ۱۶۳۰ متر ارتفاع از سطح دریاهای آزاد، میانگین دمای سالانه ۱۴/۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۴۰ میلی‌متر بارندگی سالانه) کشت شدند. آزمایش در سه قطعه زمین مجزا با فاصله دو متر از یکدیگر برای اعمال شرایط عدم تنش و تنش رطوبتی ملایم و شدید در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. هر واحد آزمایشی شامل ۱۰ بوته با فاصله بین ردیف ۱۰۰ سانتی‌متر و فاصله بوته در ردیف ۷۰ سانتی‌متر بود. در سال اول زراعی پس از کاشت، در زمان شروع اعمال تیمارهای تنش رطوبتی در مرحله ۵۰ درصد گل‌دهی، رطوبت خاک در عمق توسعه ریشه اندازه‌گیری گردید و مقدار آب آبیاری برای تأمین کمبود رطوبت خاک تا حد ظرفیت زراعی مزرعه تعیین و سپس در هر سه تیمار آبیاری اعمال شد. برای تعیین زمان آبیاری در هر تیمار رطوبتی، به منظور کاهش تعداد نمونه‌گیری رطوبت خاک، از روش پیش‌بینی با استفاده از اندازه‌گیری تبخیر و تعرق تجمعی استفاده شد. به‌طوری‌که پس از هر آبیاری مقدار تجمعی تبخیر و تعرق (ETc) با استفاده از رابطه فائو- پنمن- مانتیث با اعمال ضریب گیاهی برابر ۰/۵ طی دوره رشد محاسبه و زمانی که مقدار تبخیر و تعرق تجمعی به عمق مجاز تخلیه رطوبت از عمق توسعه ریشه ($I_d$) در تیمار رطوبتی مورد نظر رسید، آبیاری انجام شد. عمق مجاز تخلیه رطوبت از عمق توسعه ریشه از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$I_d = (FC-PWP)\times D\times B\times MAD$$

$I_d$: عمق آب مجاز برای تخلیه در تیمار مورد نظر (میلی‌متر)، FC: رطوبت وزنی خاک در حد ظرفیت زراعی (درصد)،PWP : رطوبت وزنی خاک در حد پژمردگی دائم (درصد)، D: عمق فعال توسعه ریشه (میلی‌متر)، B: چگالی ظاهری خاک در ناحیه توسعه ریشه (۱/۴ گرم بر سانتی‌متر مکعب) و MAD ضریب مدیریت مزرعه برای حالت بدون تنش برابر با ۵۰ درصد، محیط تنش ملایم برابر با ۷۰ درصد و محیط تنش شدید برابر با ۹۰ درصد در نظر گرفته شد. در طول آزمایش مواظبت‌های زراعی بویژه مبارزه با علف‌های هرز بر اساس توصیه‌های علمی انجام و روند تغییرات صفات فیزیولوژیک، فیتوشیمیایی و اسانس اندام هوایی جمعیت‌های موجود در سطوح مختلف رطوبتی و پس از حدود دو ماه از زمان اعمال تیمارهای تنش رطوبتی، بررسی گردید. هم‌چنین در دو جمعیت گیاهی مورد مطالعه در سطوح مختلف رطوبتی، نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری صفات محتوای پلی‌فنول‌ها، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و درصد اسانس در

1- Gas Chromatography–Mass Spectrometry

جدول ۱- مشخصات جمعیت‌های مورد مطالعه با ویژگی های جغرافیایی آن‌ها

Table 1- The origins of studied populations with their geographical characteristics

| شماره هرباریوم Herbarium No. | منطقه Origin | ارتفاع از دریا Altitude (m) | طول جغرافیایی Longitude | عرض جغرافیایی Latitude |
|---|---|---|---|---|
| 13352 | مزده- اصفهان Mezdeh-Isfahan | 1977 | 33° 27' E | 51° 84' N |
| 13356 | ابیانه- اصفهان Abyaneh- Isfahan | 2222 | 33° 59' E | 51° 59' N |

دو سال متوالی ۱۳۹۹-۱۴۰۰ انجام گردید.

**الف) اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک و فلاونوئید کل**

مقدار کل ترکیبات فنولیک موجود در عصاره این گیاه توسط رنگ‌سنجی به روش فولین- سیوکالتو مورد بررسی قرار گرفت. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۷۶۵ نانومتر خولنده شد. در نهایت غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد تانیک‌اسید به دست آمد. هم‌چنین، میزان فلاونوئید با روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید، اندازه‌گیری شد و شدت جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین به دست آمد (Gharibi *et al*., 2019).

**ب) فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی**

فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) بر اساس روش نورائی و همکاران (Nouraei *et al*., 2018) اندازه‌گیری شد. برای سنجش فعالیت سینیتیکی آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)، تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر خولنده شد. فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول تتراگایاکول تولید شده در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (Nouraei *et al*., 2018).

**پ) اندازه‌گیری محتوای پرولین**

سنجش پرولین برگ گیاه به کمک روش غریبی و همکاران (Gharibi *et al*., 2016) صورت گرفت. در این روش، مقدار جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد آن به دست آمد و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر نمونه گزارش شد.

**ج) اندازه‌گیری درصد اسانس اندام هوایی**

بدین منظور اسانس سرشاخه دو جمعیت در سه سطح رطوبتی و در سه تکرار استخراج شد. نمونه‌ها از اندام هوایی جمع‌آوری و در شرایط سایه و هوای آزاد خشک شد. به منظور تعیین درصد اسانس ۵۰-۳۰ گرم از نمونه توسط آسیاب پودر شده و به همراه ۴۵۰-۲۷۰ میلی‌لیتر آب مقطر به بالن دستگاه تقطیر کلونجر منتقل شد. پس از ۴ ساعت اسانس‌گیری، درصد اسانس نسبت به وزن خشک برای هر نمونه طبق فرمول زیر تعیین گردید (Farahani *et al*., 2009):

$$\text{میزان کل اسانس} = \frac{W(f)-W(e)}{W(DM)}(\%)$$

در این فرمول Wf: وزن ظرف پر، We: وزن ظرف خالی، WDM: وزن خشک نمونه می‌باشد.

**د) کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی (GC-MS)**

دستگاه کروماتوگرافی گازی از نوع Agilent مدل ۷۸۹۰، ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، دمای ستون از ۶۰ تا ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۳ درجه در دقیقه، دمای تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۲۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل: نیتروژن با سرعت ۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه بود. شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از اندیس بازداری و بررسی طیف‌های جرمی پیشنهادی توسط کتابخانه دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی و با ترکیبات استاندارد صورت گرفت (Ghanbarzadeh *et al*., 2019).

**ه) تحلیل آماری**

برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار بین جمعیت‌های مورد بررسی از نظر صفات فیزیولوژیک و فیتوشیمیایی و بررسی تأثیر تنش رطوبتی، تجزیه واریانس مرکب انجام شد. قابل ذکر است که قبل از انجام تجزیه واریانس، مفروضات آن بررسی و مورد تأیید قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

### محتوای پلی فنول‌ها

برای صفت محتوای فنول و فلاونوئید کل اندازه‌گیری شده

با روش فولین سیوکالتو، نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر اصلی جمعیت، رژیم آبیاری، سال و اثر دوگانه جمعیت و رژیم آبیاری، جمعیت و سال، رژیم آبیاری و سال و اثر سه‌گانه جمعیت و رژیم آبیاری و سال معنی‌دار بود (جدول ۲). معنی‌دار بودن اثر سال بر تجمع فنول و فلاونوئید، احتمالاً به دلیل استقرار بیشتر نمونه‌های سال دوم در مزرعه و توسعه بهتر ریشه آن‌ها بوده و در نتیجه پاسخ بهتری به تنش خشکی داده‌اند. از سوی دیگر ساختار و میزان ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدها به میزان زیادی از محیط تأثیر می‌پذیرد و می‌تواند در اثر تنش‌های محیطی تغییر یابد (Gharibi *et al*., 2019). تنها تفاوت این دو گروه مهم ترکیبات دارویی در حساسیت میزان فلاونوئیدها به نور می‌باشد. سیگنال‌هایی با حساسیت بالا به نور در گیاهان وجود دارد که سنتز فلاونوئیدها را به شدت القا می‌کنند. در این پژوهش تفاوت میزان تابش نور خورشید در زمان نمونه‌برداری می‌تولند دلیلی برای مشاهده تفاوت غلظت فلاونوئیدها در دو سال متوالی باشد. بنابراین وجود عوامل تنش‌زای احتمالی در حین مطالعه به غیر از خشکی را می‌توان دلیلی بر معنی‌دار شدن اثر سال دانست.

در این مطالعه با افزایش شدت تنش رطوبتی میزان فنول و فلاونوئید کل افزایش یافتند، اما روند این افزایش در دو جمعیت برازمبل متفاوت بود که نشان می‌دهد پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه برازمبل نسبت به تنش رطوبتی می‌تواند جمعیت-اختصاصی باشند (جدول ۳). تغییرات فنولیک اسیدها در شرایط تنش خشکی می‌تواند به واسطه تغییرات مورفولوژیک و متابولیک برای جلوگیری از صدمات ناشی از تنش‌های اکسیداتیو باشد. از آنجا که جمعیت‌های مورد مطالعه دارای ساختار مورفولوژیک و متابولیک متفاوت می‌باشند پاسخ متفاوت آن‌ها در تجمع این ترکیبات دور از ذهن نیست.

دو مسیر بیوشیمیایی برای سنتز این مواد گزارش شده است که شامل مسیر شیکیمیک و مالونیک اسید می‌باشد. مسیر شیکیمیک اسید قادر به تبدیل پیش‌سازهای کربوهیدراتی ساخته شده در مسیر گلیکولیز و پنتوز فسفات به اسید آمینه‌های آروماتیک می‌باشد. هم‌چنین تعادل بین منبع[1] و مخزن[2] عاملی است که در افزایش ترکیبات فنولیک تأثیرگذار است. از آنجا که اولین واکنش گیاهان به تنش خشکی بستن روزنه‌هایشان می‌باشد، بسته شدن روزنه‌ها باعث کاهش میزان فتوسنتز و در نهایت افزایش تنفس می‌شود. بنابراین میزان پیش‌سازهای کربوهیدراتی در سلول گیاهی بیشتر می‌شود و گیاه با افزایش تجمع ترکیبات فنولی به افزایش این سوبسترا پاسخ می‌دهد (Nouraei *et al*., 2018). در مطالعه اخیر نیز در اثر اعمال تنش‌کم آبی، ترکیبات فنولی و فلاونوئید کل جمعیت‌های برازمبل در هر دو سال مورد مطالعه افزایش یافت ولی میزان افزایش آن‌ها در سال دوم بخصوص در سطح تنش رطوبتی شدید بیشتر بود (جداول ۴ و ۵).

در مقایسه بین دو جمعیت، بیشترین مقدار فنول در جمعیت ابیانه نسبت به جمعیت دیگر مشاهده گردید (جدول ۳). برای صفت محتوای فنول کل، دامنه تغییرات بین ۷۰/۵۱- ۱۷۳/۸۷ میلی‌گرم تانیک اسید بر گرم ماده خشک متغیر بود. بیشترین مقدار میانگین بدست آمده برای این صفت، برای جمعیت‌های مورد بررسی تحت تنش رطوبتی شدید در سال زراعی دوم مربوط به جمعیت ابیلنه با میزان ۱۷۳/۸۷ میلی‌گرم تانیک اسید بر گرم ماده خشک بود. کمترین مقدار میانگین برآورد شده در بین نمونه‌های شاهد برای این صفت مربوط به جمعیت مزده و درسال اول (۷۰/۵۱ میلی‌گرم تانیک اسید بر گرم ماده خشک) بود (جدول ۵). دامنه تغییرات محتوای فلاونوئید بین ۲/۵۹ تا ۹/۵۲ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک بود. بیشترین مقدار میانگین این صفت تحت تنش رطوبتی شدید در سال زراعی دوم برای جمعیت مزده (۹/۵۲ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) و کمترین مقدار آن برای جمعیت ابیانه تحت شرایط رژیم آبیاری شاهد در سال اول (۲/۵۹ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) بود (جدول ۵). تفاوت در محتوای فنول کل تحت شرایط مختلف تنش خشکی ممکن است به دلیل سنتز ترکیبات مختلف فلاونوئیدی و فنولیک اسیدی جهت ایجاد سازگاری گیاه به درجات مختلف رطوبت خاک در جمعیت‌های مختلف باشد (Hodaei *et al*., 2018).

محققان پیشین در مطالعه خود اثر نور LED را بر کل ترکیبات فنولیک و فلاونوئید گیاه برازمبل گزارش نمودند. نتایج

[1] -Sink

2- Source

مطالعه آن‌ها نشان داد که بیشترین محتوای فنولیک و فلاونوئید کل تحت تیمار رنگ آبی در این گیاه به دست آمد (Ghaffari *et al*., 2019). در مطالعه ایشان، محتوای پلی‌فنول‌ها در *S. abrotanoides*، بین ۶۹/۸۱ تا ۱۳۱/۹۱ میلی‌گرم تانیک اسید در گرم ماده خشک گزارش شده‌است. هم‌چنین محتوای فلاونوئید کل، بین ۱۲/۲۰ تا ۶۰/۹۹ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک گزارش گردید. پژوهشگران دیگری با به‌کارگیری دو روش عصاره‌گیری متفاوت، محتوای پلی‌فنول‌ها را در برگ سه گونه سالویا چنین گزارش کردند: ۲۴/۹۰ تا ۳۶/۷۲ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک در *S. officinalis*، ۱۹/۸۴ تا ۲۸/۹۰ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک در *S. lavanduifolia* و ۷/۶۸ تا ۱۱/۲۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک در *S. elegans* (Pop *et al*., 2015). تنوع کمی پلی‌فنول‌ها در مواد گیاهی، نه تنها به روش عصاره‌گیری و روش کمی‌سازی بستگی دارد بلکه فاکتورهای جغرافیایی و اقلیمی، فاز رویشی و جمعیت نیز در برآورد میزان پلی‌فنول‌ها در گیاهان مؤثر است (Vosoughi *et al*., 2018).

تنش خشکی از جمله تنش‌های اکسیداتیو می‌باشد که باعث تجمع رادیکال‌های آزاد در سلول می‌شود. گیاهان با تجمع فنول‌ها، فلاونوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌ها به پاکسازی این رادیکال‌ها می‌پردازند. به علاوه، مولکول پراکسید هیدروژن ناشی از اکسایش فنول‌ها، شروع کننده چندین فرآیند فیزیولوژیک و مولکولی است و سیگنالی برای تولید ترکیبات و آنزیم‌های مختلف دفاعی می‌باشد. از جمله مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان تحت تنش خشکی، افزایش سطوح ترکیبات فنولی است، چرا که این گونه ترکیبات با اختلال در سیستم انتقال الکترون به عنوان پالاینده‌های گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) عمل کرده و در نتیجه سبب ثبات غشاهای سلولی و مانع از پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند. مطالعات قبلی نشان داده است که در طی تنش خشکی بیان ژن‌های مسیر سنتز فلاونوئیدها با فعالیت سیگنال‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد (Gharibi *et al*., 2019). افزایش ترکیبات فنولیک و فلاونوئید در شرایط تنش خشکی، مرتبط با تجمع کربوهیدرات‌های محلول و در نتیجه کاهش انتقال آن‌ها در شرایط کمبود آب می‌باشد. فلاونوئیدها به دلیل خصوصیات منحصر بفردشان مانند ساختار اختصاصی آن‌ها، وجود گروه هیدروکسیل، وجود باندهای دوگانه کربن و قابلیت تغییر در آن‌ها از قبیل گلیکوزیله شدن و متیله شدن نقش حفاظتی در مقابل رادیکال‌های آزاد تولید شده در اثر تنش‌های محیطی خصوصا تنش خشکی دارند. هم‌چنین، فلاونوئیدها به دلیل داشتن نقش آنتی‌اکسیدانی، به طور مستقیم با وارد شدن در واکنش‌های احیایی و یا به طور غیر مستقیم به وسیله کلات کردن آهن، مانع تنش اکسیداتیو می‌شوند (Nouraei *et al*., 2018)؛ بنابراین افزایش غلظت فلاونوئیدها در این شرایط دور از انتظار نیست. هم‌چنین افزایش در ترکیبات پلی‌فنول تحت تنش رطوبتی ممکن است ناشی از تجزیه ترکیبات فنولیک بزرگتر به ترکیبات کوچکتر باشد. در مطالعات مختلف به امکان تجمع ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی، به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی، به منظور بهبود کیفیت محصولات حاصل از گیاهان دارویی با به‌کارگیری تنش خشکی اشاره شده است. به عنوان مثال ارتباط بین بیوسنتز پلی‌فنول و میزان تنش رطوبتی در برخی از گیاهان دارویی مانند تاج خروس (*Amaranthus tricolor*) (Sarker and Oba, 2018)، گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium*) (Hodaei *et al*., 2018)، بومادران (*Achillea millefolium*) (Gharibi *et al*., 2016) و مریم گلی (*Salvia officinalis*) (Bettaieb *et al*., 2011)، مطالعه و محققین افزایش قابل توجهی را در کل ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی با شدت بخشیدن میزان تنش کم‌آبیاری مشاهده نمودند که با نتایج این پژوهش همسو بود.

## محتوای پرولین

پرولین یکی از اسمولیت‌های سیتوپلاسمی است که در پاسخ به تنش خشکی در واکوئل‌های گیاهان تجمع می‌یابد و به عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی عمل می‌کند؛ بدین نحو که از طریق حفظ پتانسیل اسمزی سلول‌ها به کاهش خسارت ناشی از تنش خشکی کمک می‌نماید (Chaeikar *et al*., 2020). نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر جمعیت، رژیم آبیاری، سال و اثر دوگانه جمعیت و رژیم آبیاری، جمعیت و سال، رژیم آبیاری و سال و اثر سه گانه جمعیت و رژیم آبیاری و سال از نظر آماری بر محتوای پرولین معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسات میانگین محتوای پرولین در سطوح مختلف تنش نیز حاکی از آن بود که در بین سه تیمار آبیاری اختلاف معنی‌داری

از لحاظ این صفت وجود دارد و کمترین غلظت آن در شرایط رژیم آبیاری شاهد و بیشترین میزان پرولین در تنش رطوبتی شدید مشاهده شد تا بتواند با منفی نگه داشتن پتانسیل آب گیاه جذب فعال آب را افزایش دهد (جدول ۳). میزان افزایش تجمع پرولین، در سال دوم اعمال تیمار به طور معنی‌داری بیشتر از سال اول بود (جدول ۴). غلظت پرولین در شرایط مختلف محیطی تغییر می‌کند، از آنجا که گیاهان مورد استفاده در سال دوم آزمایش در مقایسه با نمونه‌های سال اول مدت زمان بیشتری در زمین استقرار یافتند احتمال دارد اندام زیرزمینی آن‌ها توسعه بیشتری پیداکرده باشد و گیاهانی که توسعه ریشه بیشتری داشته باشند در جذب آب بیشتر و تحمل شرایط خشکی موفق‌ترند. بنابراین تفاوت در غلظت پرولین در دوسال را می‌توان به تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه در طول زمان ربط داد. از طرفی معنی‌دار بودن اثر جمعیت روی این صفت احتمالاً به ساختارهای متابولیک متفاوت گیاهان در تولید و ذخیره اسمولیت‌هایی نظیر پرولین ارتباط دارد. بیشترین و کمترین مقدار میانگین بدست آمده برای محتوای پرولین در دو جمعیت مورد بررسی، مربوط به جمعیت ابیانه و در سال زراعی دوم بترتیب در شرایط تنش رطوبتی شدید با میزان ۲۸/۱۲ میکرو مول در گرم ماده تر و در شرایط عدم تنش و در سال زرعی اول با میزان ۱/۰۴ میکرو مول در گرم ماده تر بود (جدول ۵).

تجمع پرولین در سلول‌های گیاهی ممکن است بر اثر افزایش در پروتئولیز (تجزیه پروتئین‌ها به اسیدهای آمینه) و کاهش در سنتز پروتئین‌ها باشد. افزایش محتوای پرولین به عنوان یک چاپرون شیمیایی با تأثیر بر حلالیت پروتئین‌ها و آنزیم‌ها و تنظیم اسمزی، نقش مهمی در سیگنال‌دهی در شرایط تنش، پایداری فرم طبیعی پروتئین‌ها و غشاء، حفظ شکل و ساختار آنزیم‌ها، هضم و از بین بردن رادیکال‌های آزاد، محافظت از ساختار کلروپلاست در برابر آسیب اکسیداتیو و کاهش اسیدیته سیتوپلاسمی سازگار با متابولیسم در شرایط تنش خشکی را بر عهده دارد. هم‌چنین تجمع پرولین باعث بهبود تولید و ذخیره انرژی از طریق تأثیر بر متابولیسم نیتروژن در گیاه می‌شود. مقادیر بالاتر غلظت پرولین در گیاهان تحت تنش خشکی (در مقایسه با گیاهان رشد یافته در شرایط شاهد) (جدول ۳) ممکن است ناشی از افزایش تولید، کاهش تجزیه یا تغییرات نقل و انتقالات پرولین در داخل و خارج سلول باشد (Chaeikar *et al*., 2020). غلظت بالاتر پرولین غالباً با تنظیم اسمزی و حفظ محتوای نسبی آب مرتبط می‌باشد (Hussain *et al*., 2018). تنظیم اسمزی برای محافظت از رشد و عملکرد گیاه در شرایط تنش خشکی ضروری می‌باشد. به طور مشابه، چندین پژوهشگر همبستگی مثبت بین غلظت پرولین و افزایش شدت تنش آبی را در برخی از گیاهان دارویی مانند چای سبز (*Camellia sinensis*) (Chaeikar *et al*., 2020)، گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium*) (Hodaei *et al*., 2018)، ریحان (*Ocimum basilicum*) (Hussain *et al*., 2018) و گونه‌های بومادران (Gharibi *et al*., 2016) گزارش نمودند.

## فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر جمعیت، تنش خشکی، سال و اثر دوگانه جمعیت و رژیم آبیاری، جمعیت و سال، رژیم آبیاری و سال و اثر سه‌گانه جمعیت و رژیم آبیاری و سال از نظر آماری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز با تشدید تنش افزایش یافت و بیشترین میزان آن در تنش رطوبتی شدید حاصل گردید (جدول ۳). جمعیت‌های مورد مطالعه روند مشابهی را برای فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز نشان دادند. میزان افزایش فعالیت هر دو آنزیم در سال دوم نسبت به سال اول بیشتر بود (جدول ۴).

برای صفت فعالیت آنزیم پراکسیداز، دامنه تغییرات بین ۹۱/۸۵-۱۲۶۱/۲۴۹ میکرومول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین متغیر بود. بیشترین مقدار میانگین بدست آمده برای این صفت، برای دو جمعیت مورد بررسی تحت تنش رطوبتی شدید در سال زراعی دوم مربوط به جمعیت ابیانه (۱۲۶۱/۹۱ میکرومول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) بود. کمترین مقدار میانگین برآورد شده در تنش رطوبتی شدید برای فعالیت این آنزیم مربوط به جمعیت مزده و در سال اول (۲۴۹/۸۵ میکرومول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و در بین نمونه‌های شاهد بود (جدول ۵). دامنه تغییرات فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در دو جمعیت گیاهی بین ۹/۲۹ تا ۶۷/۸۰ میکرومول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بود. بیشترین مقدار میانگین این صفت تحت

تنش رطوبتی شـــدید در ســـال زراعی دوم برای جمعیت ابیانه (۶۷/۸۰ میکرومول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و کمترین مقدار آن برای جمعیت مزده تحت شرایط رژیم آبیاری شاهد در سـال اول (۹/۲۹ میکرومول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) بود (جدول ۵). مشابه نتایج مطالعه حاضر، افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکســیدازی طی کاهش ذخیره آب در خاک در برخی گیاهان دارویی نظیر نعنا فلفلی (*Mentha piperita*) (Chiappero *et al*., 2019)، کـنـگـر فـرنـگـی (*Cynara cardunculus*) (Nouraei *et al*., 2018)، آویشـــن دنـایـی (*Thymus daenensis*) (Bahari *et al*., 2015) و مـورد (*Myrtus communis*) (Caravaca *et al*., 2005) نشان داده شده است.

تولید پراکســید هیدروژن ($H_2O_2$) به عنوان یک گونه اکسیژن فعال (ROS) ناشی از تنش خشکی می‌تواند از تثبیت $CO_2$ جلوگیری کرده و به‌عنوان یک مولکول سیگنالینگ نقش ایفا کند. فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو نظیر پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز نیز منجر به تولید و تجزیه $H_2O_2$ می‌شود (Caravaca *et al*., 2005). از آنـجـا کـه آنـزیـم آسکوربات‌پراکسیداز (APX) از مولکول‌های آسکوربیک اسید به عنوان دهنـده الکترون برای تجزیـه مولکول‌هـای پراکســید هیدروژن اســتفاده می‌کند؛ محصــول نهایی واکنش این آنزیم $H_2O$، $O_2^-$ و آسکوربیک اسید اکسید شده می‌باشد. در حقیقت APX با قدرت چســبندگی زیادی که با $H_2O_2$ دارد می‌تولند باعث بازدارندگی فعالیت آن گردد و در رفع مســمومیت به گیاه کمک کند. از طرف دیگر غشـــاهای پلاســـمایی به تنش‌های اکسیداتیو بسیار حساس می‌باشند و مقادیر بالای آسکوربیک اسید در سلول باعث پایین نگه داشتن گروهی از ترکیبات شامل آنزیم پراکسیداز (GPX) و ویکلین E (آلفا-توکوفرول) که آن‌ها نیز نقش حفاظتی برای فسفولیپیدهای غشایی دارند، می‌شود (Chiappero *et al*., 2019).

## درصد اسانس

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر جمعیت، رژیم آبیاری، ســـال و اثر دوگانه جمعیت و رژیم آبیاری، جمعیت و سال، رژیم آبیاری و سال و اثر سه‌گانه جمعیت و رژیم آبیاری و ســال از نظر آماری بر این صـفت معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسـه میانگین نشـان داد که درصـد اسـانس با تشـدید تنش افزایش یافت و بیشـــترین میزان آن در تنش رطوبتی شـــدید حاصـــل گردید (جدول ۳). میزان افزایش تجمع اســـانس اندام هوایی جمعیت‌ها در سـال دوم نسـبت به سـال اول بیشـتر بود (جدول ۴).

دامنه تغییرات درصد اسانس در دو سال زراعی در جمعیت ابیانه بین ۱/۰۱ تا ۲/۸۲ درصـد و در جمعیت مزده بین ۰/۷۸ تا ۲/۰۴ درصـد متغیر بود. بیشـترین درصـد اسـانس با میزان ۲/۸۲ درصـد (حدود ۳ برابر شـاهد) در جمعیت ابیانه در سـطح تنش رطوبتی شـدید و در سـال زراعی دوم مشـاهده شـد. در شـرایط رژیم آبیاری شـاهد در سـال اول، جمعیت مزده دارای کمترین درصد اسانس (۰/۷۸ درصد) نسبت به جمعیت دیگر بود (جدول ۵).

نتایج بدســـت آمده در مورد محدوده درصـــد اســـانس در راستای تحقیقات پیشین می‌باشد که در بررسی عوامل محیطی مؤثر بر رشـد شـش جمعیت *S. abrotanoides* متعلق به شـش ناحیه مهم استان پهناور خراسان محدوده درصد اسانس را بین ۱/۱۸ تا ۲/۲۱ ٪ گزارش کردند (Ilkaee *et al*., 2017). همسـو با مطالعه حاضـر، افزایش قابل توجه در میزان اسـانس با شـدت بخشـــیدن میزان تنش کم‌آبیاری در برخی از گیاهان دارویی مانـنـد خرفـه (*Portulaca oleracea*) (Hosseinzadeh *et al*., 2019)، آویشـن (*Thymus vulgaris*) (Arpanahi and Feizian, 2019)، بادرشـبو (*Dracocephalum moldavica*) (Ghanbarzadeh *et al*., 2019)، مـریـم گـلـی (*Salvia officinalis*) (Vosoughi *et al*., 2018)، مـرزنـجـوش (*Origanum vulgare*) (Morshedloo *et al*., 2017) و بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) (Farahani *et al*., 2009) گزارش گردیده اسـت. گیاهان دارویی در شـرایط تنش خشـکی میزان اسـانس بیشـتری تولید می‌کنند؛ زیرا گیاه هنگام مواجهه بـا تنش خشـــکی محتوای متـابولیـت‌هـای خود را بـه منظور جلوگیری از عمل اکسیداسیون درون سلول‌ها افزایش می‌دهد. هم‌چنین تنش خشکی با اختلال در فتوسنتز و تنفس، درصد و ترکیب شـــیمیایی اســـانس را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش سطح برگ در اثر تنش خشکی موجب بالا رفتن تراکم غده‌های ترشحی در برگ شده و مقدار تجمع اسانس را افزایش می‌دهد (Ghanbarzadeh *et al*., 2019).

**جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه برای دو جمعیت در دو سال متوالی**

**Table 2- Analysis of variance (ANOVA) of the studied traits for two populations during two consecutive years**

| منابع تغییرات S.O.V | درجه آزادی df | میانگین مربعات Mean Square | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | فنول کل Total phenolics | فلاونوئید کل Total flavonoids | پراکسیداز Peroxidase | آسکوربات‌پراکسیداز Ascorbate peroxidase | محتوای پرولین Proline content | درصد اسانس Essential oils |
| رژیم آبیاری Irrigation regime | 2 | 11017.80** | 46.86** | 710615.55** | 3882.89** | 2005.62** | 4.54** |
| سال Year | 1 | 5474.52** | 22.24** | 755033.55** | 231.24** | 58.19** | 1.46** |
| رژیم آبیاری و سال Year×Irrigation regime | 2 | 889.97** | 1.52** | 62385.55** | 66.84** | 31.04** | 0.17** |
| بلوک داخل سال و رژیم آبیاری Block/ Year and Irrigation regime | 12 | 0.90 | 0.11 | 11.16 | 0.18 | 0.05 | 0.10 |
| جمعیت Population | 1 | 271.48** | 9.67** | 1067729.55** | 2087.57** | 23.15** | 2.28** |
| جمعیت و رژیم آبیاری Irrigation ×Population regime | 2 | 15.02** | 2.77** | 24136.71** | 92.26** | 28.17** | 1.17** |
| جمعیت و سال Year×Population | 1 | 889.43** | 6.38** | 66687.89** | 114.06** | 70.70** | 0.08** |
| جمعیت و رژیم آبیاری و سال Irrigation ×Population regime Year | 2 | 141.10** | 0.53** | 19192.89** | 14.55** | 30.74** | 0.06** |
| باقی‌مانده Residual | 12 | 1.24 | 0.02 | 2.27 | 0.07 | 0.11 | 0.001 |
| ضریب تغییرات C.V% | - | 5.02 | 3.41 | 12.21 | 9.88 | 8.42 | 3.17 |

** یعنی معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

** is significant at 1 probability level.

**جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل جمعیت و رژیم آبیاری برای صفات مورد مطالعه**

**Table 3- Mean comparison of the population and irrigation regime interactions for studied traits**

| جمعیت Population | فنول کل Total phenolics (mg TAE/g DW) | | | فلاونوئید کل Total flavonoids (mg QUE/g DW) | | | پراکسیداز Peroxidase (µmol/min mg protein) | | | آسکوربات‌پراکسیداز Ascorbate peroxidase (µmol/min mg protein) | | | محتوای پرولین Proline content (µmol/g FW) | | | درصد اسانس Essential oils (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe |
| مزده Mezdeh | 75.96$^{c}$ | 106.01$^{b}$ | 134.91$^{a}$ | 3.14$^{c}$ | 5.93$^{b}$ | 7.99$^{a}$ | 308.44$^{c}$ | 587.04$^{b}$ | 698.26$^{a}$ | 9.87$^{c}$ | 16.36$^{b}$ | 38.95$^{a}$ | 1.41$^{c}$ | 2.54$^{b}$ | 26.96$^{a}$ | 1.01$^{c}$ | 1.37$^{b}$ | 1.79$^{a}$ |
| ابیانه Abyaneh | 80.68$^{c}$ | 109.74$^{b}$ | 142.93$^{a}$ | 5.28$^{c}$ | 6.57$^{b}$ | 8.33$^{a}$ | 569.61$^{c}$ | 919.76$^{b}$ | 1137.68$^{a}$ | 19.91$^{c}$ | 30.94$^{b}$ | 60.02$^{a}$ | 1.16$^{c}$ | 3.09$^{b}$ | 21.85$^{a}$ | 1.07$^{c}$ | 1.86$^{b}$ | 2.74$^{a}$ |

در هر ردیف از هر تیمار، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری از نظر آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند.

Means with a similar letter in each row of the treatments had non-significant differences according to LSD Test ($p$<0.05).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل جمعیت و سال برای صفات مورد مطالعه

Table 4- Mean comparison of the population and year interactions for studied traits

| جمعیت Population | فنول کل Total phenolics (mg TAE/g DW) | | فلاونوئید کل Total flavonoids (mg QUE/g DW) | | پراکسیداز Peroxidase (µmol/min mg protein) | | آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase (µmol/min mg protein) | | محتوای پرولین Proline content (µmol/g FW) | | درصد اسانس Essential oils (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ۱۳۹۹ 2020 | ۱۴۰۰ 2021 | ۱۳۹۹ 2020 | ۱۴۰۰ 2021 | ۱۳۹۹ 2020 | ۱۴۰۰ 2021 | ۱۳۹۹ 2020 | ۱۴۰۰ 2021 | ۱۳۹۹ 2020 | ۱۴۰۰ 2021 | ۱۳۹۹ 2020 | ۱۴۰۰ 2021 |
| مزده Mezdeh | 98.26 b | 112.99 a | 4.48 b | 6.89 a | 343.38 b | 719.11 a | 20.97 b | 22.48 a | 10.17 b | 11.43 a | 1.14 b | 1.64 a |
| ابیانه Abyaneh | 93.81 b | 128.42 a | 6.36 b | 7.09 a | 773.90 b | 977.46 a | 32.64 b | 41.27 a | 6.03 b | 11.37 a | 1.74 b | 2.04 a |

در هر ردیف از هر تیمار، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری از نظر آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند.

Means with a similar letter in each row of the treatments had non-significant differences according to LSD Test ($p$<0.05).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل جمعیت و رژیم آبیاری و سال برای صفات مورد مطالعه

Table 5- Mean comparison of the population and irrigation regime and year interactions for studied traits

| سال Year | جمعیت Population | فنول کل Total phenolics (mg TAE/g DW) | | | فلاونوئید کل Total flavonoids (mg QUE/g DW) | | | پراکسیداز Peroxidase (µmol/min mg protein) | | | آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase (µmol/min mg protein) | | | محتوای پرولین Proline content (µmol/g FW) | | | درصد اسانس Essential oils (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe |
| ۱۳۹۹ 2020 | مزده Mezdeh | 70.51 c | 102.98 b | 121.30 a | 2.59 c | 4.38 b | 6.47 a | 249.85 c | 331.64 b | 448.67 a | 9.29 c | 17.42 b | 36.21 a | 1.25 c | 2.43 b | 26.83 a | 0.78 c | 1.08 b | 1.55 a |
| | ابیانه Abyaneh | 71.43 c | 98.04 b | 111.98 a | 5.08 c | 6.15 b | 7.85 a | 505.07 c | 803.19 b | 1013.45 a | 18.29 c | 27.39 b | 52.25 a | 1.04 b | 1.47 b | 15.57 a | 1.01 c | 1.55 b | 2.67 a |
| ۱۴۰۰ 2021 | مزده Mezdeh | 81.42 c | 109.02 b | 148.52 a | 3.70 c | 7.47 b | 9.52 a | 367.03 c | 842.43 b | 947.86 a | 10.46 c | 15.30 b | 41.69 a | 1.56 c | 2.65 b | 27.09 a | 1.23 c | 1.66 b | 2.04 a |
| | ابیانه Abyaneh | 89.94 c | 121.45 b | 173.87 a | 5.47 c | 6.99 b | 8.81 a | 634.15 c | 1036.33 b | 1261.91 a | 21.52 c | 34.50 b | 67.80 a | 1.29 c | 4.70 b | 28.12 a | 1.14 c | 2.17 b | 2.82 a |

در هر ردیف از هر تیمار، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری از نظر آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند.

Means with a similar letter in each row of the treatments had non-significant differences according to LSD Test ($p$<0.05).

## ترکیبات متشکله اسانس

در پروفایل اســـانس لندام هوایی دو جمعیت مورد مطالعه توسط GC-MS تحت سه سطح تیمار رطوبتی، در مجموع ۴۰ نوع ترکیب مختلف شـناسـایی شـدند، که در پنج گروه شـامل مونوترپن‌های هیدروکربنه، مونوترپن‌های اکسیژنه، سزکوئی‌ترپن هیدروکربنه، سزکوئی‌ترپن اکسیژنه و سایر ترکیبات طبقه بندی شدند (جدول ۶). طبق نتایج، قسمت عمده ترکیبات اسانس در جمعیت‌های مورد مطالعه برازمبل در هر ســـه رژیم رطوبتی به کلاس مونوترپن‌های اکســیژنه اختصــاص داشــت. بیشــترین و کمترین مقدار مونوترپن‌های اکســـیژن‌دار به ترتیب متعلق به تیمار تنش رطوبتی شـدید در جمعیت مزده (۵۲/۹۶ درصـد) و تیمار رطوبتی شـاهد در جمعیت ابیانه (۴۳/۱۳ درصـد) بود. در کل، مجموع مونوترپن‌های اکسیژن‌دار تحت تنش رطوبتی شدید بیشـتر از شاهد مشاهده شد. بطورکلی طبق نتایج می‌توان گفت،

در دو جمعیت برازمبل مورد مطالعه با افزایش شدت تنش رطوبتی، مجموع مونوترپن‌های اکسیژنه افزایش یافت و در مقابل میزان تجمع سزکوئی‌ترپن‌ها (اکسیژنه و هیدروکربنه) روند نزولی نشان داد (جدول ۶). دلتا ۳ کارن، کمفور، ۱و۸ سینئول، برنئول، میرسن و آلفاپینن ترکیبات اصلی و غالب اسانس در دو جمعیت گیاهی و در سطوح مختلف رطوبتی بودند. سطوح مختلف رطوبتی اثرات متفاوتی بر این ترکیبات داشتند. در دو جمعیت گیاهی مورد مطالعه ترکیبات مهم کمفور و میرسن با افزایش شدت تنش رطوبتی مقدارشان افزایش یافت. در مقابل برخی ترکیبات از جمله دلتا ۳ کارن مقدارشان نسبت به شاهد کاهش یافت. بیشترین و کمترین مقدار مونوترپن اکسیژنه کمفور به ترتیب متعلق به جمعیت‌های مزده و ابیانه در سطح تنش رطوبتی شدید (۲۹/۲۶ درصد) و تنش رطوبتی ملایم (۱۸/۲۸ درصد) بود (جدول ۶). هم‌چنین بیشترین و کمترین میانگین ۱و ۸ سینئول به ترتیب مربوط به جمعیت ابیانه در سطح تنش رطوبتی ملایم (۲۵/۷۹ درصد) و مزده در شرایط رطوبتی شاهد (۱۵/۹۵ درصد) حاصل گردید. بیشترین و کمترین میانگین برنئول مربوط به جمعیت مزده و به ترتیب در سطح تنش رطوبتی ملایم (۴/۳۴ درصد) و رژیم رطوبتی شاهد (۱/۱۸ درصد) مشاهده گردید. بیشترین میزان دو ترکیب مونوترپن هیدروکربنه دلتا ۳ کارن و میرسن مربوط به جمعیت ابیانه و به ترتیب در تنش رطوبتی ملایم (۱۱/۸۱ درصد) و تنش رطوبتی شدید (۹/۹۰ درصد) بود. بیشترین و کمترین میزان آلفاپینن در اسانس جمعیت ابیانه و به ترتیب در تنش رطوبتی شدید (۱۰/۸۱ درصد) و رژیم رطوبتی شاهد (۵/۰۴ درصد) مشاهده شد (جدول ۶). دو جمعیت ابیانه (۸/۶۱ درصد) و مزده (۷/۸۵ درصد) در رژیم رطوبتی شاهد بیشترین میزان ترکیب سسکویی‌ترپن هیدروکربنه کاریوفیلن را به خود اختصاص دادند. هم‌چنین ابیانه بیشترین میزان ترکیب سسکویی‌ترپن اکسیژنه آلفا-یودسمول را تحت رژیم رطوبتی شاهد (۲/۱۴ درصد) به خود اختصاص داد. در پژوهش حاضر، از آنجا که در جمعیت مزده رژیم رطوبتی ملایم موجب افزایش میزان ترکیبات دلتا ۳ کارن، برنئول و آلفاپینن و رژیم رطوبتی شدید موجب افزایش میزان ترکیبات کمفور، ۱و۸ سینئول و میرسن گردید و در جمعیت ابیلنه رژیم رطوبتی ملایم موجب افزایش میزان ترکیبات دلتا ۳ کارن، برنئول و ۱و۸ سینئول و رژیم رطوبتی شدید موجب افزایش میزان ترکیبات کمفور، میرسن و آلفاپینن شد (جدول ۶)؛ می‌توان گفت که اعمال تنش رطوبتی ملایم و شدید در این گیاه موجب افزایش درصد ترکیبات مهم اسانس‌ها و در نتیجه افزایش کیفیت آن‌ها گردید.

در اغلب مطالعات گذشته، کمفور، ۱و۸ سینئول، برنئول و آلفاپینن ترکیبات غالب اسانس برازمبل معرفی شدند. نتایج مطالعه دیگری نشان داد که خاصیت دفع حشرات و افزایش انبارمانی میوه‌ها به ترکیب ۱و۸ سینئول اسانس برازمبل مرتبط است (Arabi *et al*., 2008). هم‌چنین توانایی از بین بردن باکتری *Staphylococcus aureus* (پاتوژن ثانویه زخم سالک) با غلظت بالای کمفور و آلفاپینن اسانس برازمبل مرتبط است. بررسی ترکیب اسانس گونه‌های مختلف سالویا توسط پژوهشگران پیشین، گویای شباهت زیاد در ترکیبات بود که بیانگر ایفای نقش ترکیبات اسانس در طبقه بندی‌های کموتاکسونومی گونه‌های سالویا می‌باشد (Li *et al*., 2015). آن‌ها دریافتند که ترانس کریوفیلن، کریوفیلن اکسید و لینالول ترکیبات اصلی اسانس تمام گونه‌های سالویا هستند.

## نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش تأثیر تنش کم‌آبیاری بر برخی از صفات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و اسانس دو جمعیت برازمبل بومی ایران مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با شدت تنش رطوبتی مقدار فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، غلظت پرولین و درصد اسانس نسبت به شاهد افزایش یافت که نوعی سازگاری نسبت به شرایط تنش محسوب می‌شود. به‌طوری‌که بیشترین مقادیر این صفات در تنش رطوبتی شدید به دست آمد. هم‌چنین، در مقایسه بین دو جمعیت، بیشترین مقدار فنول و فلاونوئید کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در جمعیت ابیانه نسبت به جمعیت دیگر و در سال دوم زراعی مشاهده گردید. به عبارت دیگر می‌توان گفت که جمعیت ابیانه تحمل بیشتری نسبت به تنش کم‌آبیاری از خود نشان داده است. هم‌چنین در دو جمعیت گیاهی با افزایش شدت تنش رطوبتی، مجموع مونوترپن‌های اکسیژنه افزایش یافت و در مقابل میزان تجمع سزکوئی‌ترپن‌ها (اکسیژنه و هیدروکربنه) روند نزولی نشان داد. در سطوح تنش ملایم و شدید، افزایش درصد ترکیبات اصلی و غالب اسانس (دلتا ۳

کارن، کمفور، ۱و۸ سینئول، برنئول، میرسن و آلفاپینن) و در نتیجه بهبود کیفیت اسانس این گیاه مشاهده گردید. بنابراین با توجه به مقاومت نسبتاً مناسب برازمبل به شرایط کم‌آبی، می‌توان در مقطعی از رشد گیاه با ایجاد تنش رطوبتی مدیریت شده افزایش کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه را فراهم نمود.

**جدول ۶- ترکیبات موجود در اسانس جمعیت‌های مورد مطالعه**

**Table 6- The composition of essential oils (EOs) in the studied populations**

| ترکیبات اسانس Composition of EOs (%) | شاخص بازداری Retention Index | ابیانه Abyaneh | | | مزده Mezdeh | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe | نرمال Normal | ملایم Mild | شدید Severe |
| آلفا-توجن α-Thujene | 930 | nd | nd | 0.65 | nd | nd | 0.44 |
| آلفا-پین α-Pinene | 940 | 5.04 | 6.45 | 10.81 | 6.42 | 9.86 | 8.72 |
| کمفن Camphene | 958 | 2.26 | 3.31 | 4.09 | 4.94 | 3.63 | 1.48 |
| بتا-پینن β-Pinene | 984 | 1.66 | 2.02 | 1.60 | 1.24 | 1.34 | 1.48 |
| میرسن Myrcene | 989 | 0.59 | 0.59 | 9.90 | 7.94 | 8.72 | 9.73 |
| دلتا-۳-کارن δ-3-Carene | 1016 | 11.33 | 11.81 | 2.10 | nd | 3.08 | 1.62 |
| آلفا-ترپینن α-Terpinene | 1023 | nd | nd | 0.29 | nd | nd | nd |
| پی-سیمن p-Cymene | 1032 | 0.54 | 0.72 | 0.78 | 0.53 | 0.55 | 0.55 |
| لیمونن Limonene | 1037 | 1.20 | 1.16 | 1.49 | 1.33 | 1.52 | 1.30 |
| ۱و۸-سینئول 1,8-Cineole | 1042 | 21.27 | 25.79 | 24.85 | 15.95 | 19.57 | 20.62 |
| دلتا-ترپینن δ-Terpinene | 1066 | 0.53 | nd | 0.41 | 0.39 | 0.34 | nd |
| لینالول Linalool | 1102 | nd | nd | 0.29 | nd | 0.35 | nd |
| کمفور Camphor | 1149 | 19.08 | 18.28 | 23.56 | 27.00 | 25.27 | 29.26 |
| سیس-کریسنتمول cis-Chrysanthemol | 1163 | 0.52 | 0.62 | 0.46 | 0.39 | 0.40 | 0.47 |
| برنئول Borneol | 1166 | 2.26 | 3.17 | 2.14 | 1.18 | 4.34 | 2.03 |
| ترپینن-۴-ال Terpinen-4-ol | 1171 | nd | nd | 0.29 | nd | nd | nd |
| میرتنول Myrtenol | 1201 | nd | nd | 0.39 | 0.37 | nd | 0.58 |
| لینالیل استات Linalyl acetate | 1253 | nd | nd | 0.31 | nd | 0.39 | nd |
| برنیل استات Bornyl acetate | 1290 | 3.80 | 3.92 | 1.67 | 1.96 | 1.35 | 1.69 |
| آلفا-ترپینیل استات α-Terpinyl acetate | 1343 | 3.44 | 2.94 | 1.86 | 2.26 | 2.07 | 2.25 |
| آلفا-کوپائینن α-Copaenene | 1364 | nd | nd | nd | nd | nd | 0.43 |
| گرانیل استات Geranyl acetate | 1367 | 0.75 | 0.47 | 0.72 | 0.72 | 0.88 | 0.93 |
| آلفا-گورجونن α-Gurjunene | 1415 | 1.22 | 1.06 | 0.88 | 1.00 | 1.05 | 1.28 |

**ادامه جدول ۶- ترکیبات موجود در اسانس جمعیت‌های مورد مطالعه**

**Table 6 Continued- The composition of essential oils (EOs) in the studied populations**

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ای-کاریوفیلن<br>E-Caryophyllene | 1429 | 8.61 | 4.66 | 4.22 | 7.85 | 6.60 | 4.21 |
| آلفا-هومولن<br>α-Humulene | 1465 | 6.65 | 3.65 | 3.09 | 9.17 | 1.85 | 3.31 |
| لدول<br>Ledol | 1503 | nd | nd | nd | nd | nd | 0.46 |
| گاما-کادینن<br>γ-Cadinene | 1517 | 0.91 | 0.53 | 0.60 | 1.11 | 0.92 | 1.02 |
| دلتا-کادینن<br>δ-Cadinene | 1521 | 2.27 | 1.19 | 1.54 | 1.99 | 2.26 | 2.52 |
| اپیزونارن<br>Epizonarene | 1525 | nd | nd | nd | nd | 0.54 | 0.81 |
| آلفا-کالاکورن<br>α-Calacorene | 1542 | nd | 0.66 | nd | nd | nd | nd |
| اسپاتولنول<br>Spathulenol | 1553 | nd | 0.89 | nd | nd | nd | nd |
| کاریوفیلن اکسید<br>Cryophyllene oxide | 1576 | nd | nd | nd | 0.37 | nd | nd |
| ایزومیریستیسین<br>isomyristicin | 1615 | nd | 1.10 | nd | nd | nd | nd |
| کالارن<br>Calarene | 1620 | 0.53 | 0.80 | nd | 0.40 | nd | nd |
| تی-مورولول<br>t-Muurolol | 1643 | 0.53 | 1.55 | nd | 0.47 | nd | nd |
| فوننول<br>Fonenol | 1648 | 1.03 | nd | nd | 0.47 | nd | nd |
| تاو-کادینول<br>tau-Cadinol | 1652 | nd | nd | nd | 1.62 | nd | nd |
| آلفا-یودسمول<br>α-Eudesmol | 1657 | 2.14 | 0.98 | 0.99 | 1.62 | 1.79 | 2.16 |
| ۲-دسین<br>2-Decyne (CAS) | 1666 | 1.01 | 1.06 | nd | 0.80 | 0.75 | nd |
| لومنول<br>Levomenol | 1679 | 0.81 | 0.62 | nd | 0.53 | 0.57 | nd |
| هیدروکربن‌های مونوترپنی<br>Monoterpene hydrocarbons | | 24.16 | 27.12 | 32.12 | 23.59 | 29.79 | 25.32 |
| مونوترپن‌های اکسیژن دار<br>Oxygenated monoterpenes | | 43.13 | 47.86 | 51.98 | 48.05 | 46.77 | 52.96 |
| هیدروکربن‌های سسکویی‌ترپنی<br>Sesquiterpene hydrocarbons | | 17.39 | 10.56 | 8.79 | 15.96 | 14.12 | 11.06 |
| سسکویی‌ترپن‌های اکسیژن دار<br>Oxygenated sesquiterpenes | | 7.31 | 7.13 | 2.53 | 7.47 | 4.62 | 5.14 |
| سایر ترکیبات<br>Others | | 7.99 | 7.33 | 4.56 | 4.94 | 4.69 | 4.87 |

## References

Arabi, F., Moharramipour, S. and Sefidkon, F., 2008. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil from *Perovskia abrotanoides* (Lamiaceae) against *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, *28*, pp.144-150. **doi: 10.53555/ecb/2024.13.01.26**

Arpanahi, A. A. and Feizian, M., 2019. Arbuscular mycorrhizae alleviate mild to moderate water stress and improve essential oil yield in thyme. *Rhizosphere*, *9*, pp.93-96. **doi: 10.1016/j.indcrop.2023.117849**

Ashraf, S.N., Zubair, M., Rizwan, K., Tareen, R.B., Rasool, N., Zia-Ul-Haq, M. and Ercisli, S., 2014. Compositional studies and biological activities of *Perovskia abrotanoides* Kar. oils. *Biological Research*, *47*, pp.1-12. **doi: 10.1186/0717-6287-47-12**

Bahari, A.A., Sokhtesaraei, R., Chaghazardi, H.R., Masoudi, F. and Nazarli, H., 2015. Effect of water deficit stress and foliar application of salicylic acid on antioxidants enzymes activity in leaves of *Thymus daenensis* subsp. *Lancifolius*. *Cercetări Agronomice în Moldova*, *48*, pp.57-67.

Bettaieb, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F. and Marzouk, B., 2011. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, *33*, pp.1103-1111. **doi: 10.1007/s11738-010-0638-z**

Caravaca, F., Alguacil, M.M., Hernandez, J.A. and Roldan, A., 2005. Involvement of antioxidant enzyme and nitrate reductase activities during water stress and recovery of mycorrhizal *Myrtus communis* and *Phillyrea angustifolia* plants. *Plant Science*, *169*, pp.191-197. **doi: 10.1016/j.plantsci.2005.03.013**

Chaeikar, S.S., Marzvan, S., Khiavi, S.J. and Rahimi, M., 2020. Changes in growth, biochemical, and chemical characteristics and alteration of the antioxidant defense system in the leaves of tea clones (*Camellia sinensis* L.) under drought stress. *Scientia Horticulturae*, *265*, e109257. **doi: 10.1016/j.scienta.2020.109257**

Chiappero, J., Cappellari R., L., A., L. G.S., Palermo, T.B. and Banchio, E., 2019. Plant growth promoting rhizobacteria improve the antioxidant status in *Mentha piperita* grown under drought stress leading to an enhancement of plant growth and total phenolic content. *Industrial Crops and Products*, *139*, e111553. **doi: 10.1016/j.indcrop.2019.111553**

Drew, B. T. and Sytsma, K. J., 2012. Phylogenetics, biogeography, and staminal evolution in the tribe *Mentheae* (Lamiaceae). *American Journal of Botany*, *99*, pp.933-953. **doi: 10.3732/ajb.1100549**

El-Sayed, A. I., El-hamahmy, M. A., Rafudeen, M. S., Mohamed, A. H. and Omar, A. A., 2019. The impact of drought stress on antioxidant responses and accumulation of flavonolignans in milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn). *Plants*, *8*, pp.611-629. **doi: 10.3390/plants8120611**

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

Ghaderi, S., Ebrahimi, S. N., Ahadi, H., Moghadam, S. E. and Mirjalili, M. H., 2019. In vitro propagation and phytochemical assessment of *Perovskia abrotanoides* Karel. (Lamiaceae)- A medicinally important source of phenolic compounds. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *19*, e101113. **doi: 10.1016/j.bcab.2019.101113**

Ghaffari, Z., Rahimmalek, M. and Sabzalian, M. R., 2019. Variation in the primary and secondary metabolites derived from the isoprenoid pathway in the *Perovskia* species in response to different wavelengths generated by light emitting diodes (LEDs). *Industrial Crops and Products*, *140*, e111592. **doi:**

**10.1016/j.indcrop.2019.111592**

Ghafourian, M. and Mazandarani, M., 2017. Ethnopharmacology, ecological requirements, antioxidant and antimicrobial activities of *Perovskia abrotanoides* Karel. extract for vaginal infections from semnan province. *International Journal of Women's Health and Reproduction Sciences*, *5*, pp.295-300. **doi: 10.15296/ijwhr.2017.50**

Ghanbarzadeh, Z., Mohsenzadeh, S., Rowshan, V. and Moradshahi, A., 2019. Evaluation of the growth, essential oil composition and antioxidant activity of *Dracocephalum moldavica* under water deficit stress and symbiosis with *Claroideoglomus etunicatum* and *Micrococcus yunnanensis*. *Scientia Horticulturae*, *256*, e108652. **doi: 10.1016/j.scienta.2019.108652**

Gharibi, S.H., Tabatabaei, B.E.S., Saeidi, G.H. and Goli, S.A.H., 2016. Effect of drought stress on total phenolic, lipid peroxidation, and antioxidant activity of *Achillea* species. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *178*, pp.796-809. **doi: 10.1007/s12010-015-1909-3**

Gharibi, S., Tabatabaei, B. E. S., Saeidi, G., Talebi, M. and Matkowski, A., 2019. The effect of drought stress on polyphenolic compounds and expression of flavonoid biosynthesis related genes in *Achillea pachycephala* Rech. f. *Phytochemistry*, *162*, pp.90-98. **doi: 10.1016/j.phytochem.2019.03.004**

Hafez Ghoran, S., Azadi, B. and Hussain, H., 2016. Chemical composition and antimicrobial activities of *Perovskia artemisioides* Boiss. essential oil. *Natural Product Research*, *30*, pp.1997-2001. **doi: 10.1080/14786419.2015.1101694**

Hodaei, M., Rahimmalek, M., Arzani, A. and Talebi, M., 2018. The effect of water stress on phytochemical accumulation, bioactive compounds and expression of key genes involved in flavonoid biosynthesis in *Chrysanthemum morifolium* L. *Industrial Crops and Products*, *120*, pp.295-304. **doi: 10.1016/j.indcrop.2018.04.073**

Hosseinzadeh, M., Ghalavand, A., Mashhadi Akbar Boojar, M., Modarres-Sanavy, S. and Mokhtassi-Bidgoli, A., 2019. Changes morphological, agronomic and oil and essential oil content in Purslane (*Portulaca oleracea* L.) under drought stress, mycorrhiza and organic/chemical fertilizer of nitrogen. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, *12*, pp.831-846. **doi:10.22077/escs.2019.1578.1356** [In Persian].

Hussain, S., Khalid, M. F., Saqib, M., Ahmad, S., Zafar, W., Rao, M. J., Morillon, R. and Anjum, M. A., 2018. Drought tolerance in citrus rootstocks is associated with better antioxidant defense mechanism. *Acta Physiologiae Plantarum*, *40*, pp.135-145. **doi: 10.1007/s11738-018-2710-z**

Ilkaee, M. N., Moradi, R., Mansouri, H., Ghorbani, S. and Paknajad, F., 2017. Effect of abiotic environmental factors on growth and essential oil characteristics of *Perovskia Abrotanoides* Karel. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *20*, pp.729-743. **doi: 10.1080/0972060X.2017.1358672**

Li, B., Zhang, C., Peng, L., Liang, Z., Yan, X., Zhu, Y. and Liu, Y., 2015. Comparison of essential oil composition and phenolic acid content of selected *Salvia* species measured by GC-MS and HPLC methods. *Industrial Crops and Products*, *69*, pp.329-334. **doi: 10.1016/j.indcrop.2015.02.047**

Morshedloo, M. R., Craker Lyle, E., Salami, A., Nazeri, V., Sang, H. and Maggi, F., 2017. Effect of prolonged

water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono- and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies. *Plant Physiology and Biochemistry*, *111*, pp.119-128. **doi: 10.1016/j.plaphy.2016.11.023**

Nouraei, S., Rahimmalek, M., and Saeidi, G., 2018. Variation in polyphenolic composition, antioxidants and physiological characteristics of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* Hayek L.) as affected by drought stress. *Scientia Horticulturae*, *233*, pp.378-385. **doi: 10.1016/j.scienta.2017.12.060**

Pop, A.V., Tofană, M., Socaci, S.A., Nagy, M., Bors, M.D., Salanta, L. and Vlaic, R., 2015. Studies on total polyphenols content and antioxidant activity of methanolic extracts from selected *Salvia* species. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, *72*, pp.86-91. **doi: 10.15835/buasvmcn-fst:11095**

Sabagh, S., Niakan, M. and Gholam-ali pour, A., 2017. Quantitative and qualitative evaluation of some primary and secondary metabolites of *Perovskia abrotanoides* Karel. at different phenological stages. *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*, *12*, pp.14-26 [In Persian].

Sarker, U. and Oba, S., 2018. Drought stress effects on growth, ROS markers, compatible solutes, phenolics, flavonoids, and antioxidant activity in *Amaranthus tricolor*. *Applied biochemistry and biotechnology*, *186*, pp.999-1016. **doi: 10.1007/s12010-018-2784-5**

Vosoughi, N., Gomarian, M., Pirbalouti, A.G., Khaghani, S. and Malekpoor, F., 2018. Essential oil composition and total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.) extract under chitosan application and irrigation frequencies. *Industrial Crops and Products*, *117*, pp.366-374. **doi: 10.1016/j.indcrop.2018.03.021**

Zardak, S. G., Dehnavi, M. M., Salehi, A. and Gholamhoseini, M., 2017. Responses of field grown fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) to different mycorrhiza species under varying intensities of drought stress. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, *5*, pp.16-25. **doi: 10.1016/j.jarmap.2016.09.004**

**Journal of Crop Science Research in Arid Regions/ Volume 6, Issue 1, Spring 2024, P. 33-50**

# Evaluation of limited irrigation effects on essential oil constituents and antioxidant activities of the medicinal plant *S. abrotanoides*

**Mahvash Afshari[1*], Mehdi Rahimmalek[2], Mohammad Reza Sabzalian[1]**

[1] Department of Plant Production and Genetics, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
[2] Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
[*]Corresponding Author: m.afshari1992@gmail.com

Received: 24 April 2022 Accepted: 12 June 2022 **DOI: 10.22034/CSRAR.2024.338848.1228**

## Abstract

**Introduction:** Drought is one of the most important abiotic stresses that affects plant growth, development and biochemical processes of plants such as the production of secondary metabolites and aromatic chemical compounds. *Salvia* subgenus *Perovskia* belongs to the Lamiaceae family and it has numerous therapeutic properties. In general, the anti-oxidative defense mechanisms are mainly classified into enzymatic (e.g., guaiacol peroxidase, and ascorbate peroxidase) and non-enzymatic, i.e., polyphenolic compounds, terpenoids, proline, which can coordinately detoxify excess reactive oxygen species in the cells. Indeed, water deficit stress can impose profound effects on quality and quantity of essential oils in aromatic plants.

**Materials and Methods:** In order to investigate the effects of limited irrigation on polyphenol contents, antioxidant enzyme activities and essential oil constituents of two populations of *S. abrotanoides* viz., Abyaneh and Mezdeh populations, as endemic species of Iran, a randomized complete block design with three replications was conducted at the Research Farm of Isfahan University of Technology, in two consecutive years 2020-2021. Water deficit levels included field capacity (as control), 70% of field capacity (mild stress), and 50% of field capacity (severe stress).

**Results and Discussion:** The results showed that total phenolic content, total flavonoids, antioxidant enzymes activities, proline content, and essential oil yield substantially increased with the severity of stress as compared with well-watered plants. Furthermore, the highest contents of total phenolics, total flavonoids, and antioxidant activities were obtained in Abyaneh population in comparison to the other ones at the second year of cultivation. In other words, Abyaneh has a greater capacity in regulating water deficit stress than the other population. The essential oil content ranged from 1.01 to 2.82% in Abyaneh population and 0.78 to 2.04% in Mezdeh population. The analysis of the essential oils by GC/MS revealed the presence of a large number of components represented mainly by oxygenated monoterpenes. Camphor concentration ranged from 18.28% (Abyaneh population and mild stress) to 29.26% (Mezdeh population and severe stress). The amount of berneol ranged from 1.18% (Mezdeh population and well-watered level) to 4.34% (Mezdeh population and mild stress), and the level of δ-3-carene ranged from 1.62% (Mezdeh population and severe stress) to 11.81% (Abyaneh population and mild stress). The highest and lowest amount of 1,8-cineole were found in Abyaneh population under mild stress level (25.79%) and Mezdeh population under well-watered level (15.95%), respectively. Among main essential oil compositions, Abyaneh population showed the highest amount of α-pinene under well-watered level (10.81%), while this population had the lowest value (5.04%) under severe stress level. Furthermore, the concentration of myrcene were obtained in the range of 0.59% to 9.90%, in which the highest value was observed for the sample collected from Abyaneh population under severe stress level, while the sample of this population under well-watered along with mild stress levels showed the lowest values. In both plant populations, the proportions of oxygenated monoterpenes were elevated with increasing stress severity while the sesquiterpenes (sesquiterpene hydrocarbons and oxygenated sesquiterpenes) decreased. In addition, the percentage of all prominent volatile constituents including δ-3-carene, camphor, 1,8-cineole,

berneol, myrcene and α-pinene elevated at the levels of mild and severe stress, and it suggested that water stress conditions improved the quality of the studied essential oils.
**Conclusion:** Finally, it can be concluded that mild and severe drought stress significantly increased secondary metabolites, antioxidant activities, and the percentage of prominent volatile constituents, which provided an insight for improving the qualitative and quantitative status of bioactive components of *S. abrotanoides* with moisture-stress management practices.

**Keywords:** Flavonoids, Lamiaceae family, Moisture stress, Monoterpenes, Total phenols