بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی مریم گلی‌لوله‌ای به تنش خشکی و ارتفاع محل

قاسم حسامپور [۱*]، حسین صادقی [۲]، محمد اکبر زاده [۳]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی. ۲- استادیار گروه باغبانی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری.
۳- مربی پژوهشی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران.
Ghasem_hesampoor66@yahoo.com*

چکیده

مریم‌گلی لوله‌ای گیاهی علفی و چند ساله با نام علمی *Salvia macrosiphon* Boiss. متعلق به خانواده نعنائیان می‌باشد. گیاهان این خانواده یک منبع طبیعی ترکیبات فنلی به حساب می‌آیند. به منظور بررسی اثر تنش خشکی و ارتفاع از سطح دریا بر میزان این ترکیبات در گیاه مریم گلی لوله‌ای، آزمایشی در پاییز ۹۰ در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری و منطقه کیاسر به اجرا در آمد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل دو زمان برداشت (۱۱۰ و ۱۲۵ روز بعد از کشت)، چهار سطح آبیاری (دور آبیاری ۴، ۶، ۸ و ۱۰ روز) و دو مکان ساری و کیاسر با ارتفاع مختلف از سطح دریا (به ترتیب ۱۵ و ۱۱۰۰ متر از سطح دریا) بودند. نتایج نشان دادکه بیشترین میزان فنل کل (۱۷۲/۴۹۸ اکی‌والان گالیک اسید در گرم عصاره خشک) و فلاونوئیدها (۶۰/۴۰۷ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره خشک) در فواصل آبیاری ۱۰ روز بدست آمد. بیشترین غلظت مالون دی آلدئید (۰/۰۵۰ نانو مول بر گرم وزن تر بافت گیاهی) نیز در فواصل ۱۰ روز حاصل شد. دراین بررسی بیشترین غلظت مالون دی‌آلدئید (۰/۰۵۷ نانو مول بر گرم وزن تر بافت گیاهی) از گیاهان برداشت شده در کیاسر در اولین زمان برداشت اندازه‌گیری شد.

کلمات کلیدی: مریم گلی لوله‌ای، فنل کل، فلاونوئید، مالون دی‌آلدئید

مقدمه

گیاهان منبع غنی از ترکیبات فنلی (فلاونوئید، تانن و آنتوسیانین) هستند که مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌آیند (امیری، ۱۳۹۰). به خوبی اثبات شده است که تجمع ترکیبات طبیعی در گیاهان به شدت به شرایط رشد از قبیل: دما، رژیم نوری و منابع غذایی و غیره وابسته می‌باشند.گیاهانی که در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرند به‌طور قابل توجهی فنل‌های ساده و پیچیده آن‌ها افزایش می‌یابد تا بتوانند از خسارات ناشی از تنش جلوگیری کنند. رویشگاه‌های مختلف با شرایط آب و هوایی متنوع، اثرات متفاوتی بر رشد و میزان مواد موثره گیاهان در شرایط تنش دارند. نتایج حاصل از بررسی مهمترین مواد ثانوی عصاره گیاه برازمبل (*Perovskia abrotanoides* Karel.) در رویشگاه‌های طبیعی استان گلستان و خراسان شمالی نشان داد که میزان ترکیب‌های فلاونوییدی، فنلی و آنتوسیانینی در اندام‌ها و رویشگاه‌های مختلف متفاوت بوده و با افزایش ارتفاع رویشگاه در ۲۳۰۰ متر بر میزان مقادیر آن‌ها مخصوصاً در سر شاخه‌های گلدار گیاه افزایش می‌یابد(مازندرانی و همکاران، ۱۳۸۸). در پژوهشی دیگر که در زمینه تنش خشکی بر روی گیاه دارویی گلوکاما (*Glechoma longituba*) انجام گرفت، با افزایش تنش، عملکرد گیاه و میزان فلاونوئیدهای کل به شدت کاهش یافت(zhang et al., 2012). برخی از گیاهان که از مکانیسم دفاعی کمتری در برابر تنش‌ها برخوردار هستند با بروز تنش، پراکسیداسیون لیپید در بافت آنها اتفاق خواهد افتاد. مالون‌دی‌آلدئید یکی از محصولات اصلی پراکسیداسیون غشاء لیپیدی می‌باشد، میزان آن را می‌توان به عنوان شاخصی برای درجه پراکسیداسیون غشاء لیپیدی دانست. با افزایش تنش خشکی میزان آن به تدریج زیاد می‌شود(zhang et al., 2012). در بررسی اثر تنش خشکی بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی گیاه انیسون (*Pimpinella anisum* L.) مشخص شد که مقدار مالون دی-آلدئید در شرایط تنش متوسط نسبتاً ثابت ماند، ولی در شرایط تنش شدید به طور معنی‌دار افزایش یافت(کاوان و همکاران، ۱۳۸۸).

جنس مریم گلی متعلق به خانواده نعنائیان بوده که در سراسر جهان تاکنون ۹۰۰ گونه از آن شناسایی شده است، مریم‌گلی لوله‌ای گیاهی علفی و چند ساله با نام علمی *Salvia macrosiphon* Boiss. یکی از گونه‌های متعلق به این خانواده می‌باشد که بطور وسیعی در فلور گیاهی ایران وجود دارد(خانیکی و لاری یزدی، ۱۳۸۸). گیاهان این خانواده یک منبع طبیعی از فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی به حساب

می‌آیند. لذا هدف ازانجام این تحقیق بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی مریم گلی‌لوله‌ای کشت شده در دو منطقه با ارتفاع متفاوت از سطح دریا، تحت تنش خشکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این پژوهش، بذرهای گیاه مریم گلی لوله‌ای در تابستان ۱۳۹۰ از کوه‌های شهرستان داراب استان فارس جمع‌آوری شدند. کشت گیاهان در دو منطقه کیاسر واقع در عرض شمالی ´۲۳۵۶ و °۳۶ و طول شرقی ´۵۴۳۱ و °۵۳ و ارتفاع ۱۱۰۰ متر از سطح دریا و دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری واقع در عرض شمالی ´۳۳ و °۳۶ و طول شرقی ´۰۳ و °۵۳ و ارتفاع ۱۵ متر از سطح دریا انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو منطقه به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح زمان برداشت (۱۱۰ و ۱۲۵ روز بعد از کشت)، چهار سطح آبیاری (دور آبیاری ۴، ۶، ۸ و ۱۰ روز) و دو مکان (ساری و کیاسر) بودند. بذرهای گیاه مریم گلی‌لوله‌ای درون گلدان‌های ۴ لیتری حاوی مخلوطی با نسبت ۱ به ۵ کود دامی و خاک باغچه کشت شدند. گیاهان تا مرحله ۴ برگی به مدت ۶۰ روز بعد از کشت بذر هر ۴ روز یکبار آبیاری شده و پس از آن اعمال تیمارهای خشکی شروع گردید. گیاهان در فضای آزاد قرار گرفتند، اما از رسیدن آب باران به آنها جلوگیری به عمل آمد. ۱۲۰ روز بعد از کشت بذر، میزان فلاونوئیدهای کل (Chang et al, 2002)، فنل کل (Ebrahimzadeh et al. 2008) و غلظت مالون دی‌آلدئید (Heath & Packer, 1968) در برگهای گیاهان با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل uv-1800 PC) مورد ارزیابی قرار گرفت. اندازه‌گیری هر یک از صفات با توجه به تیمارهای آبیاری صورت گرفت، به طوری‌که درست قبل از آبیاری در هر تیمار، نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری صفات انجام شد و پس از آن گیاهان آبیاری شدند. محاسبات آماری با استفاده از نـرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

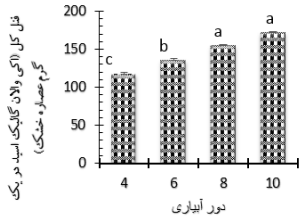
مطابق نتایج بدست آمده (جدول ۱) تیمار دور آبیاری میزان فنل کل، محتوی تام فلاونوئیدها و غلظت مالون دی‌آلدئید، همچنین تیمار زمان برداشت میزان فنل کل و تیمار اثر متقابل مکان و زمان برداشت غلظت مالون دی‌آلدئید را تحت تأثیر قرار داده و باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار بین آنها شدند.

جدول ۱: تجزیه واریانس مرکب صفات ارزیابی شده از گیاه مریم گلی لوله‌ای تحت تنش خشکی و زمان برداشت در دو منطقه

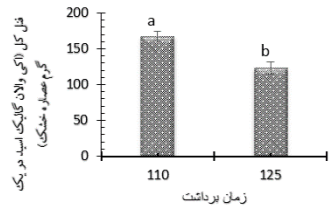
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		فنل کل	فلاونوئید	مالون‌دآلدئید
مکان(A)	۱	۳۳۹۱/۵۸^{ns}	۶۲۸/۷۹^{ns}	۰/۰۰۰۳*
خطای اول	۴	۱۲۹۸/۳۶	۳۶۲/۳۹	۰/۰۰۰۳
زمان برداشت(B)	۱	۲۳۹۴۴/۰۱**	۵۷/۴۸^{ns}	۰/۰۰۱**
دور آبیاری(C)	۳	۶۶۱۱/۸۰**	۹۵۵/۴۶**	۰/۰۰۰۵**
B×C	۳	۱۸۶/۱۵^{ns}	۱/۰۴^{ns}	۰/۰۰۰۰۲^{ns}
A×B	۱	۹۰۰/۹۸^{ns}	۴/۴۵^{ns}	۰/۰۰۰۴**
A×C	۳	۶۲/۲۹^{ns}	۸۹/۴۸^{ns}	۰/۰۰۰۰۱^{ns}
A×B×C	۳	۹۵۸/۴۷^{ns}	۰/۶۳^{ns}	۰/۰۰۰۰۲^{ns}
خطای کل	۲۸	۴۵۸/۸۱	۱۶۳/۰۱	۰/۰۰۰۰۱
ضریب تغییرات		۱۴/۷۱	۲۵/۵۰	۹/۴۱

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهند، گیاهان آبیاری شده با فواصل ۴ روز کمترین میزان فنل کل (۱۱۸/۱۳۴ اکی‌والان گالیک اسید در گرم عصاره خشک) و گیاهانی که با فواصل ۸ و ۱۰ روز آبیاری شدند (به ترتیب ۱۵۵/۱۶۸ و ۱۷۲/۴۹۸ اکی‌والان گالیک اسید در گرم عصاره خشک) بیشترین میزان فنل کل را در برگ‌های خود نشان دادند (شکل ۱)، به نظر می‌رسد مقدار آن جهت مقابله با تنش اکسیداسیون افزایش یافته است. از نظر زمان برداشت نیز بیشترین (۱۶۷/۹۰۹ اکی‌والان گالیک اسید در گرم عصاره خشک) و کمترین (۱۲۳/۲۴۰ اکی‌والان گالیک اسید در گرم عصاره خشک) میزان فنل کل به ترتیب از گیاهان برداشت شده در اولین و دومین زمان برداشت حاصل شدند (شکل ۲)که احتمالاً با ادامه تنش مکانیزم‌های دفاعی بیشتری مانند سیستم‌های آنزیمی در گیاه فعال شده و از میزان فعالیت آنتی-

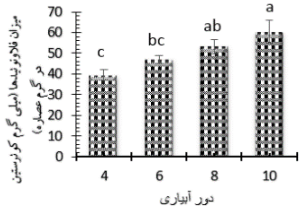
اکسیدانی فنل کل کاسته شده است. اثر تنش خشکی بر ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه دارویی کتان (*Linum usitatissimum* L.) نشان داد که میزان ترکیب‌های فنلی در اثر افزایش تنش خشکی زیاد شد (قربانلی و همکاران، ۱۳۹۰)، این یافته‌ها با نتایج حاصل از پژوهش حاظر مطابقت دارد. بیشترین میزان فلاونوئیدها (۶۰/۴۰۷ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره) از گیاهان آبیاری شده با فواصل ۱۰ روز و کمترین آن (۳۹/۴۷۳ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره) از گیاهان آبیاری شده با فواصل ۴ روز حاصل شد(شکل ۳). به نظر می‌رسد با افزایش فواصل آبیاری، گیاهان جهت مقابله با تنش خشکی ایجاد شده محتوای تام فلاونوئیدها را به عنوان یک مکانیسم دفاعی در برابر اکسیداسیون فعال کرده تا مقاومت بیشتری در برابر تنش داشته باشند. فلاونوئید ها به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی خود به طور مستقیم با وارد شدن در واکنش‌های احیایی و به طور غیرمستقیم به وسیله شلاته کردن آهن مانع تنش اکسیداتیو می‌شوند و مانند بسیاری دیگر از پلی‌فنل‌ها جمع کننده رادیکال‌های آزاد هستند، زیرا به عنوان گروه‌های قوی الکترون‌دهنده و پروتون‌دهنده عمل می‌کنند(قربانلی و همکاران، ۱۳۹۰). بررسی میزان فلاونوئیدهای گیاه شلغم (*Brassica napus*) در شرایط تنش خشکی نشان داد که این ماده به عنوان متابولیت‌های ثانویه در گیاه افزایش یافته است(Sangtarash et al., 2009). در بررسی اثر تنش خشکی بر ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه دارویی کتان نیز مشخص گردید که میزان فلاونوئید در تیمارهای تنش در مقایسه با شاهد افزایش یافت(قربانلی و همکاران، ۱۳۹۰). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت گیاه مریم گلی لوله‌ای همانند دیگر گیاهان دارویی با افزایش میزان ترکیبات فنلی خود در برابر تنش خشکی ایجاد شده مقاومت کرده است. گیاهان آبیاری شده با فواصل ۴ روز (۰/۰۳۷ نانو مول بر گرم وزن تر بافت گیاهی) کمترین و گیاهان آبیاری شده با فواصل ۸ و ۱۰ روز (به ترتیب ۰/۰۴۹ و ۰/۰۵۰ نانو مول بر گرم وزن تر بافت گیاهی) بیشترین غلظت مالون دی‌آلدئید را نشان دادند(شکل ۴)، به نظر می‌رسد با افزایش فواصل آبیاری و تنش خشکی بیشتر، پراکسیده شدن لیپید افزایش یافته و در نتیجه غلظت مالون دی‌آلدئید بیشتر شد. در بررسی اثر متقابل مکان و زمان برداشت مشخص شد که بیشترین غلظت مالون دی‌آلدئید (۰/۰۵۷ نانو مول بر گرم وزن تر بافت گیاهی) از گیاهان کشت شده در کیاسر در اولین زمان برداشت و کمترین غلظت آن (۰/۰۳۹ نانو مول بر گرم وزن تر بافت گیاهی) از گیاهان هر دو مکان در دومین زمان برداشت اندازه‌گیری شد(شکل۵). در زمان برداشت اول گیاهانی که درکیاسر کشت شده بودند چون نسبت به ساری از لحاظ سطح دریا در ارتفاعی بالاتر قرار داشتند، دارای شرایط اقلیمی افراطی، تشعشعات بالا، دمای پایین، تغییرات سریع دما (Öncel et al., 2004) بوده و امکان بروز تنش برای آنها بیشتر شده است، از این‌رو غلظت مالون دی‌آلدئید افزایش یافته است، همچنین ممکن است در زمان برداشت دوم نسبت به زمان برداشت اول مکانیزم‌های دفاعی بیشتر و از پراکسیده شدن لیپید جلوگیری شده، که نتیجه آن کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید می‌باشد. میزان مالون‌دی‌آلدئید گیاه دارویی گلوکاما تحت شرایط تنش خشکی، در تیمار ۴۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد تقریباً دو برابر شد(zhang et al. 2012) که با نتایج پژوهش حاضر مشابه می‌باشد.



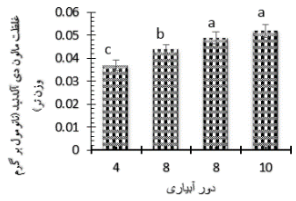
شکل۱- تاثیر تیمار دور آبیاری بر میزان فنل کل



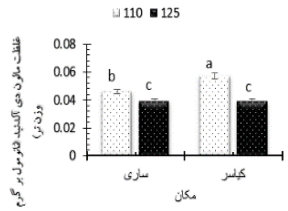
شکل۲- تاثیر تیمار زمان برداشت بر میزان فنل کل



شکل۳- تاثیر تیمار دور آبیاری بر میزان فلاونوئیدها



شکل۴- تاثیر تیمار دور آبیاری بر غلظت مالون دی‌آلدئیدها



شکل۵- تاثیر تیمار اثر متقابل مکان و زمان برداشت بر غلظت مالون دی‌آلدئید

Investigation of Biochemical Responses of *Salvia macrosiphon* Boiss. Affected by Drought Stress and Altitude

Gh. Hesampoor[1*], H. Sadeghi[2], M. Akbarzadeh[3]

MSc. Student of Horticultural Sciences[1], Assistant Professor of Horticulture[2], Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

[3]Research Lecturer, Mazandaran Agriculture and Natural Resources Research Center, Sari, Iran

*Corresponding author

Abstract

Salvia macrosiphon Boiss. is one of herbal and perennial plants that belong to Labiatae. Plants of this family are natural source of phenolic compounds. For investigation of drought stress and altitude on these compounds of *Salvia macrosiphon*, an experiment was conducted at Sari agriculture sciences and natural resources university experimental fields and kiasar, in 2011. The experimental design was randomized complete block with three replications. Treatments were two harvesting time (110, 125 days after sowing), four irrigation regime (4, 6, 8 & 10 irrigation intervals) and two areas include Sari & Kiasar via different altitude (15 & 1100 meters of sea level, respectively). Results indicated that highest total phenolic content (172.498 GAE.g DW^{-1}) and flavonoids content (60.407 (mg of CE g^{-1} dw) were obtained at 10-days irrigation intervals. Investigation of interaction effects between place and harvesting time were demonstrated that highest malondialdehyde (0.057 nMol.g FW^{-1}) was measured from plants grown in Kiasar at primary harvesting time.

Keywords: *Salvia macrosiphon* Boiss., total phenol, flavonoid, malondialdehyde.

منابع

۱) امیری، ح. ۱۳۹۰. شناسایی مواد تشکیل دهنده و بررسی اثرات آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی گیاه *Salvia multicaulis* Vahl. ۱(۸): ۱۱۱-۱۱۷.

۲) خانیکی غ.، یزدی ح. ۱۳۸۸. بررسی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس دو گونه مریم گلی *Salvia macrosiphon* و *Salvia limbata*، مجله زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، دوره ۴، شماره ۱، ۴۲-۳۳.

۳) قربانلی، م.، بخشی خانیکی، غ. و ذاکری، ع. ۱۳۹۰. بررسی اثر تنش خشکی بر ترکیب های آنتی اکسیدان در گیاه دارویی کتان (*Linum usitatissimum* L.). فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ، جلد ۲۷، شماره ۴، ۶۵۸-۶۴۷.

۴) کاوان، ژ. ا.، قربانلی، م. و ساطعی، ا. ۱۳۸۸. اثر تنش خشکی و آسکوربات خارجی بر روی رنگیز ههای فتوسنتزی، فلاونوئیدها، ترکیبهای فنلی و میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گیاه انیسون (*Pimpinella anisum* L.). فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۵(۴): ۴۶۹-۴۵۶.

۵) مازندرانی ، م . ، بیک محمدی، م.، بیات، ه. ۱۳۸۸. اتنوفارماکولوژی و بررسی مهمترین مواد موثره ثانوی گیاه برازمبل *peroveskia abrotanoides* karel در رویشگاه های طبیعی استان های گلستان و خراسان شمالی، فصلنامه پژوهشهای علوم گیاهی، سال چهارم، شماره۴.

6) Chang C, Yang M, Wen H, Chern J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Analaysis, 10: 178-182.

7) Ebrahimzadeh MA, Hosseinimehr SJ, Hamidinia A and Jafari M. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of Feijoa sallowiana fruits peel and leaves. Pharmacology online, 1: 7-14.

8) Heath, R.L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation inisolated chloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archive of Biochemistry and Biophysics, 125: 189-198.

9) Öncel, I., Yurdakulol, E., Keles¸ Y., Kurt, L., Yıldız, A., 2004. Role of antioxidant defense system and biochemical adaptation on stress tolerance of high mountain and steppe plants. Acta Oecologica, 26, 211–218.

10) Sangtarash, M.H., Qaderi, M.M., Chinnappa, C.C. and Reid, D.M., 2009. Differential responses of two *Stellaria longipes* ecotypes to ultraviolet-B radiation and drought stress Flora-Morphology, Distribution. Flora Morphology Functional Ecology of Plants, 204(8): 593-603.

11) Zhang, L., Wang, Q., Guo, Q., Chang, Q., Zhu, Z., Liu, L. and Xu H., 2012. Growth, physiological characteristics and total flavonoid content of *Glechoma longituba* in response to water stress. Journal of Medicinal Plants Research. 6(6): 1015-1024.