

بررسی صفات فیزیولوژیک، درصد و اجزای اسانس دو زیرگونه مرزنجوش (*O. vulgare* subsp. *hirtum* و *Origanum vulgare* subsp. *gracile*) تحت تنش شوری

زهرا ابراهیمی^۱، محمدرضا مرشدلو^{۲*} و محمدباقر حسنیپور اقدم^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

پست الکترونیک: morshedlooreza@gmail.com

۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۰

تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۹

چکیده

به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف شوری بر محتوای اسانس و برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دو زیرگونه مرزنجوش بخارایی (*Origanum vulgare* subsp. *gracile* (K.Koch) letsw.) و یونانی (*O. vulgare* subsp. *hirtum* (Link) letsw.) آزمایشی گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار اجرا شد. تیمار تنش شوری با استفاده از کلرید سدیم در محلول غذایی هوگلند و در چهار سطح شاهد (بدون تنش)، و تنش‌های ملایم (شوری ۳۰ میلی‌مولار)، متوسط (شوری ۶۰ میلی‌مولار) و شدید (شوری ۹۰ میلی‌مولار) اعمال گردید. براساس نتایج، تحت تنش شوری شاخص‌های رشدی، کاروتنوئید کل و شاخص کلروفیل کاهش یافتند، اما فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و غلظت مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن در هر دو زیرگونه افزایش پیدا کردند. وزن تر و خشک، کاروتنوئید، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در مرزنجوش یونانی بیشتر از زیرگونه بخارایی بدست آمد. درصد و اجزای اسانس نیز تحت تأثیر شوری قرار گرفتند. با افزایش شوری، درصد اسانس نسبت به شاهد افزایش یافت و بیشترین مقدار آن (۰/۸٪) در تنش ملایم بدست آمد. ۳۵ ترکیب از دو زیرگونه مرزنجوش شناسایی شد. کارواکرول (۷۲-۳۰٪): کارواکرول زیرگونه یونانی بیشتر از بخارایی، گاما-تریپنین، کارواکرول متیل‌اتر و پارا-سیمن ترکیب‌های غالب هر دو زیرگونه بودند. نتایج این پژوهش برتری مرزنجوش یونانی نسبت به بخارایی را از لحاظ تحمل به تنش شوری و همچنین عملکرد کمی و کیفی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: تنش غیرزیستی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، شاخص مورفولوژیکی، شاخص فیزیولوژیکی، کارواکرول.

مقدمه

(Mohammadizadeh et al., 2014). به عبارتی، شوری پس از خشکی مهمترین و متداول‌ترین نوع تنش غیرزنده بوده و یکی از مهمترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان و تولید محصول در بسیاری از مناطق جهان و از جمله ایران می‌باشد

تنش‌های محیطی مانند شوری و خشکی به‌عنوان مهمترین عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی شناخته می‌شوند (Morshedloo et al., 2017a)؛

پنج زیرگونه در جهان می‌باشد. در ایران نیز سه زیرگونه *O. vulgare* subsp. *gracile*، *O. vulgare* subsp. *viride* و *O. vulgare* subsp. *vulgare* از آن دیده می‌شود که معمولاً در مناطق جنگلی و روی دیواره‌های پرشیب و گاهی در میان صخره‌ها می‌رویند (Mozaffarian, 2012؛ Morshedloo, 2016؛ Omidbaigi, 2011). پیکر رویشی گیاهان متعلق به جنس مرزنجوش از نظر ترکیب‌های معطر غنی بوده و همواره در سراسر جهان به‌عنوان ادویه و طعم‌دهنده بسیار محبوب مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Mozaffarian, 2012). این گیاه ارزش دارویی بالایی داشته که در طب سنتی از دم‌کرده پیکر رویشی مرزنجوش به‌عنوان ماده‌ای اشتهاآور، ضدنفخ، مقوی معده، مدر، آرام‌بخش، ضدعفونی‌کننده، التیام‌دهنده زخم‌ها، تسکین سرفه و خلط‌آور استفاده می‌شود. همچنین بخش‌های مختلف گیاه مرزنجوش شامل گیاه کامل، برگ و اسانس به‌طور معمول در صنایع غذایی و آرایشی و بهداشتی کاربرد دارد (Mozaffarian, 2012؛ Omidbaigi, 2011). براساس گزارش‌های تأیید شده جنس مرزنجوش یکی از شناخته‌شده‌ترین گروه‌های گیاهان خانواده نعناع در مورد محتوای ترکیب‌های شیمیایی آن بوده است و شامل ۵۶ گونه مختلف است که حاوی ترکیب‌های فعال بیولوژیکی از جمله فنول، گلیکوزیدها، تانن‌ها، فلاونوئیدها، استروئیدها و تریپنوئیدها می‌باشد (Morshedloo et al., 2018). اسانس یکی از مواد مؤثره اصلی مرزنجوش می‌باشد که از برگ‌ها و سرشاخه‌های گلدار آن توسط فرایند تقطیر استخراج می‌شود. اجزای تشکیل‌دهنده اسانس‌ها عمدتاً تریپنوئیدها (مونوترپنوئیدها و سزکوئی‌تریپنوئیدها) می‌باشند (Morshedloo et al., 2017b). ترکیب‌های اسانس مرزنجوش شامل کارواکرول، تیمول، گاما-ترینن، آلفا-پینن و میرسین می‌باشد که با توجه به نوع زیرگونه و شرایط رشدی گیاه مقادیر ترکیب‌ها متفاوت است (Morshedloo et al., 2018).

با توجه به جایگاه ویژه گیاه مرزنجوش به‌عنوان یک گیاه معطر و دارویی ارزشمند، در این مطالعه دو زیرگونه

که از دیرباز مورد توجه بشر بوده است (Khalvandi et al., 2019).

خسارت شوری در گیاهان از طریق اسمزی، سمیت یونها و اختلال در جذب عناصر غذایی می‌باشد. ازجمله صدمات ناشی از تنش اسمزی می‌توان به صدمات فیزیولوژیکی مانند آسیب به غشاءها، عدم تعادل عناصر غذایی، تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و متعاقب آن کاهش توانایی در جاروب گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و همین‌طور کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی اشاره نمود (Hojjat, 2012؛ Gupta & Hung, 2014؛ nooghi & Mozaffari, 2012). تنش شوری از طریق کاهش قابلیت اسمزی محلول خاک، برهم خوردن تعادل عناصر غذایی و همچنین ایجاد سمیت ناشی از تجمع سدیم و کلر در گیاه باعث اختلال در رشد می‌شود و پاسخ گیاه به شوری به غلظت نمک و نسبت یونها بستگی دارد (Mirmohammady meybodi & Gharyazi, 2010). تنش شوری علاوه بر کاهش شاخص‌های عملکردی، تولید متابولیت‌های ثانویه ازجمله اسانس را نیز در گیاهان دارویی تحت تأثیر قرار می‌دهد. تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان همیشه به یک میزان انجام نمی‌شود و عوامل متعددی تولید این ترکیب‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. نوع گونه یا جنس گیاهی، مرحله رشد و نمو، شرایط فصلی خاص، میزان دسترسی به مواد غذایی معدنی و شرایط تنشی ازجمله این عوامل هستند (Morshedloo et al., 2015). در پاسخ به تنش شوری یا خشکی تولید متابولیت‌های ثانویه ممکن است افزایش یا کاهش داشته باشند. با وجود این در برخی گیاهان دارویی مثل پونه (*Mentha pulegium*) و مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) تحت تنش شوری مقادیر زیادی از ترکیب‌های ثانویه تجمع می‌یابند (Verpoorte et al., 2002؛ Oueslati, 2010؛ Hendawy & Khalid, 2005). مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) گیاهی خشبی، چندساله، پایا، دارای ارتفاع ۵۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر، معطر و از تیره نعناعیان (Lamiaceae) است که منشأ آن نواحی مدیترانه‌ای گزارش شده است. گونه *O. vulgare* شامل دوازده هیبرید طبیعی و

چهار سطح و به دلیل دادن محلول هوگلند حاوی مقادیر مشخص سدیم کلرید به مدت ۴۰ روز و به فاصله یک روز در میان انجام شد. بدین صورت که برای تیمار شاهد از محلول هوگلند (۱/۴) بدون کلرید سدیم و برای تنش ملایم، متوسط و شدید به ترتیب از محلول هوگلند (۱/۴) حاوی ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم استفاده گردید و به منظور به حداقل رساندن تغییرات EC و pH در اثر تنش شوری هر چهار روز یک مرتبه آبشویی کامل محیط ریشه گیاهان با آب معمولی انجام شد.

به منظور بررسی شاخص‌های فیزیولوژیک (کلروفیل و ...) نمونه برداری از برگ گیاهان در مرحله ۴۰ روز پس از اعمال تنش انجام شد و نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک در فریزر (-۸۰) نگهداری شدند. برای تعیین وزن خشک، نمونه‌های برداشت شده از هر گلدان تا ثابت شدن وزن در سایه نگهداری شدند. برای استخراج اسانس، ۲۰ گرم از نمونه خشک گیاه (اندام هوایی)، کاملاً خرد شده و در بالن ریخته شد، سپس به میزان ۴۰۰ CC آب مقطر به بالن اضافه گردید و پس از آن با استفاده از دستگاه کلونجر، به مدت ۳ ساعت اسانس نمونه‌ها استخراج شد. اسانس حاصل با استفاده از سولفات سدیم خشک آبرگیری شده و در ویال‌های دربسته و در تاریکی و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس با دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) نگهداری گردید (Morshedloo et al., 2018).

به منظور محاسبه درصد ترکیب‌ها از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 7990B ساخت کشور آمریکا با آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) و ستون VF-5MS استفاده و دمای تزریق و آشکارساز به ترتیب روی ۲۳۰ و ۲۴۰ تنظیم شد. گاز هلیوم با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه و نسبت تقسیم ۱:۲۴ استفاده و نمونه‌های اسانس به نسبت ۱:۱۰۰ در هگزان رقیق‌سازی و به میزان ۱ میکرولیتر تزریق شدند. کمی کردن ترکیب‌های اسانس با استفاده از نرمال‌سازی سطح زیر پیک و بدون

ایرانی (*O. vulgare* subsp. *gracile*) و یونانی (*O. vulgare* subsp. *hirtum*) مرزنجوش از نظر محتوا و ترکیب‌های اسانس و شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی در سطوح مختلف شوری مورد مقایسه قرار گرفتند تا در نهایت متحمل‌ترین و مناسب‌ترین زیرگونه از نظر تولید مواد مؤثره و ماده خشک مشخص و معرفی گردد، به طوری که برای تولید تجاری و توسعه کشت در مناطق دارای آب و خاک شور کشور مورد استفاده و بهره‌برداری قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی تحمل دو زیرگونه مرزنجوش بخارایی (*Origanum vulgare* subsp. *gracile*) و یونانی (*O. vulgare* subsp. *hirtum*) به تنش شوری و تعیین متحمل‌ترین آنها از نظر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در سال ۹۹-۱۳۹۸ به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در ۴ تیمار و ۳ تکرار در گلخانه پژوهشی و تحقیقاتی گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه مراغه انجام شد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل دو زیرگونه مرزنجوش (مرزنجوش یونانی و بخارایی) و کلرید سدیم در چهار سطح شامل شاهد (محلول هوگلند بدون کلرید سدیم)، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم در محلول هوگلند (۱/۴) بودند. بذرهای مربوط به مرزنجوش یونانی از کمپانی ریچترز کانادا (RICHTERS HERBS, Goodwood, ON L0C 1A0 Canada) خریداری شدند. همچنین بذرهای مربوط به زیرگونه بخارایی از بانک بذر مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه گردید. به منظور اجرای آزمایش بذر به صورت یکنواخت در سینی‌های کشت و در بستر کشت حاوی کوکوپیت و پرلایت به نسبت ۱:۲ کشت شدند. کمی پس از جوانه‌زنی و رشد، گیاهچه‌ها به لیوان‌های پلاستیکی منتقل شدند و بعد از رسیدن گیاهان به مرحله شش برگگی، به گلدان‌های ۷ لیتری با ترکیب خاک مزرعه ۵۰٪، ماسه ۲۵٪، کود دامی پوسیده ۱۵٪ و پرلیت ۱۰٪ منتقل گردیدند. بعد از استقرار مناسب گیاهان و در مرحله شروع رشد رویشی، اعمال تنش در

شاخص بازداری پیک‌ها، مخلوطی از هیدروکربن‌های آلیفاتیک (C8-C40) تحت شرایط تحلیلی بالا به داخل سیستم GC تزریق شد. محاسبه و شناسایی ترکیب‌های اسانس به کمک شاخص‌های بازداری خطی آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتابهای مرجع (Adams, 2001) و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه‌ای انجام شد (Morshedloo et al., 2018).

به منظور تهیه محلول هوگلند (۱/۴) ترکیب‌های زیر که شامل عناصر ماکرو و میکرو بودند در چهار بشکه پلاستیکی حاوی ۱۶۰ لیتر آب مخلوط شدند و بعد NaCl ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار به سه بشکه محتوای محلول هوگلند (۱/۴) اضافه شد و در نهایت محلول‌های ذکر شده برای اعمال تنش شوری در چهار سطح شاهد (محلول هوگلند ۱/۴ بدون کلرید سدیم)، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در محلول هوگلند (۱/۴) مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۱).

استفاده از ضرایب تصحیح انجام شد. همچنین برای شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل شده به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) مدل Agilent 5977A ساخت کشور آمریکا، با ستون HP-5 MS (۵٪ فنیل متیل پلی‌سیلوکسان، به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ماده جاذب ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد. در برنامه‌ریزی دمایی آون، ابتدا دما در عرض ۵ دقیقه به ۶۰ درجه سانتی‌گراد رسید، سپس به تدریج دما با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت تا به دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد برسد. بعد از آن به مدت ۲۰ دقیقه در این دما نگه داشته شد. از هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد. ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. محفظه تزریق در حالت تقسیم (نسبت تقسیم ۱:۳۰) تنظیم شده و محدوده جذب جرمی از ۴۰ تا ۴۰۰ m/z بود. به منظور محاسبه

جدول ۱- عناصر و مقادیر مورد استفاده در تهیه محلول هوگلند

عناصر ماکرو	مقدار (g)	عناصر میکرو	مقدار (g)
KNO ₃	۲۰/۲g	H ₃ BO ₃	۰/۴۴g
Ca(NO ₃) ₂ , 2H ₂ O	۳۲g	MnSO ₄	۰/۱۹g
KH ₂ PO ₄	۵/۴۴g	ZnSO ₄	۰/۰۷g
NH ₄ NO ₃	۳/۲g	CuSO ₄	۰/۰۱۶g
MgSO ₄	۱۹/۶۸g	MoNH ₄	۰/۰۸g
Fe EDTA	۴/۸g		

میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئید توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد. در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان هر یک برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه بدست آمد (Arnon, 1967).

اندازه‌گیری کلروفیل a, b و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی، از نمونه گیاهی به مقدار ۰/۲ گرم وزن کرده و در هاون چینی با استفاده از نیتروژن مایع خرد گردید. سپس ۵CC استون ۸۰٪ به نمونه اضافه و بعد از هضم در دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 \cdot A_{663} - 0.86 \cdot A_{645}) \cdot V / 100W$$

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 \cdot A_{645} - 3.6 \cdot A_{663}) \cdot V / 100W$$

$$\text{Chl T} = \text{Chl.a} + \text{Chl.b}$$

$$\text{Carotenoids} = (100 \cdot A_{470} - 3.27 \cdot (\text{Chl. A}) - 104 (\text{Chl. B}) / 227$$

گردید، آنگاه مخلوط در حمام آب داغ در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد. برای جلوگیری از توقف واکنش، ظروف محتوای مخلوط حرارت داده شده به سرعت درون حمام یخ قرار گرفته و اجازه داده شد تا درون حمام یخ به مدت ۳۰ دقیقه بماند، مخلوط سرد شده با دور ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و در نهایت میزان جذب مخلوط به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر اندازه گیری گردید.

اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی تهیه بافر استخراج

در این پژوهش برای استخراج عصاره گیاهی، از بافر فسفات ۵۰ میلی مولار استفاده شد. بدین منظور مقدار ۵۰ میلی مولار از دو محلول یک مولار KH_2PO_4 و یک مولار K_2HPO_4 به طور جداگانه تهیه گردید. سپس در حالی که محلول K_2HPO_4 در pH متر هم زده می شد به آرامی به آن KH_2PO_4 اضافه شد تا pH آن به ۷/۵ برسد. سپس به بافر تهیه شده به مقدار ۲ میلی مولار EDTA و ۱٪ PVP اضافه و بافر تهیه شده تا زمان استفاده در دمای چهار درجه سانتی گراد نگهداری شد.

تهیه عصاره آنزیمی

برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی آنزیم ها از برگ های جوان توسعه یافته که قبلاً در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند، استفاده گردید. ابتدا حدود ۰/۲ گرم از هر نمونه گیاهی در هاون و به کمک نیتروژن

=V حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفوژ)

A = جذب نور در طول موج های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

=W وزن تر نمونه بر حسب گرم

اندازه گیری غلظت پراکسید هیدروژن

برای اندازه گیری پراکسید هیدروژن ۰/۲ گرم نمونه برگی در ۲ میلی لیتر از محلول ۰/۱٪ اسید کلرواستیک (وزنی - حجمی) همگن شده و در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس کمپلکس واکنش با ترکیب ۰/۵ میلی لیتر سوپرناتانت، ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی مولار با pH برابر ۷ و یک میلی لیتر یدیدیتاسیم یک مولار بدست آمد. میزان جذب نمونه ها با استفاده از اسپکتروفتومتری در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه گیری گردید. میزان پراکسید هیدروژن با استفاده از منحنی استاندارد بدست آمد.

اندازه گیری غلظت مالون دی آلدئید

برای اندازه گیری مالون دی آلدئید که به عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدها می باشد، مقدار ۰/۲ گرم از نمونه برگ تازه با ۱/۵ میلی لیتر ۱٪ TCA، در هاون همگن شده، سپس نمونه های حاصل در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰ rpm سانتریفوژ شدند. بعد از سانتریفوژ به ۰/۵ میلی لیتر از محلول بالایی ۱ میلی لیتر محلول (۱w/v) اسید تیوباربیتوریک (TBA) که حاوی تری کلرواستیک اسید ۲۰٪ بود اضافه

قرار گرفتند. یادآوری می شود که کمپلکس واکنش بدون آنزیم که به عنوان شاهد در نظر گرفته شده بود به مدت ۱۵ دقیقه در نور قرار گرفت. همچنین کمپلکس واکنشی بدون آنزیم که از ابتدای واکنش در تاریکی مطلق قرار گرفته بود به عنوان بلنک استفاده شد. پس از توقف واکنش میزان جذب نمونه ها در ۵۶۰ نانومتر یادداشت برداری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش داده های بدست آمده از سنجش صفات مورفولوژیکی، فیتوشیمیایی و فیزیولوژیکی با سه تکرار، به صورت آزمایش فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی، توسط نرم افزارهای SAS, version (9.3) و MSTATC و آزمون LSD آنالیز شدند. تجزیه واریانس ها نیز با ضریب اطمینان ۹۵٪ ($P \leq 0.05$) انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2019 رسم شدند.

نتایج

وزن خشک بوته

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی سطوح شوری و اثر نوع زیرگونه بر میزان وزن خشک بوته در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود (جدول ۲). میزان وزن خشک دو زیرگونه مرزنجوش با افزایش سطوح شوری کاهش پیدا کرد، به طوری که بالاترین مقدار وزن خشک مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۱۵/۸ گرم در بوته بود. در تنش شدید (شوری ۹۰ میلی مولار)، کاهش ۷/۲ درصدی نسبت به شاهد مشاهده شد، با وجود این زیرگونه یونانی نسبت به زیرگونه بخارایی دارای میزان وزن خشک بیشتری بود (شکل ۱).

مایع به خوبی پودر شد، سپس پودر حاصل به تیوپ های ۲ میلی لیتری منتقل و به آن ۱/۸ میلی لیتر بافر استخراج اضافه گردید. در ادامه نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ شدند. سپس مایع رویی آنها به تیوپ های جدید منتقل و از آن برای اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم های سوپر اکسید دیسموتاز و گایاکول استفاده گردید.

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)

برای اندازه گیری فعالیت این آنزیم، ۱۰۰۰ میکرو لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی مولار با pH برابر ۷، ۲۵۰ میکرو لیتر EDTA ۰/۱ میلی مولار، ۱۰۰۰ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی مولار، ۱۰۰۰ میکرو لیتر گایاکول ۵ میلی مولار و ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی مخلوط و جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه قرائت گردید. فعالیت ویژه این آنزیم بر اساس میلی مول واحد آنزیمی در میلی گرم پروتئین محاسبه شد.

اندازه گیری میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

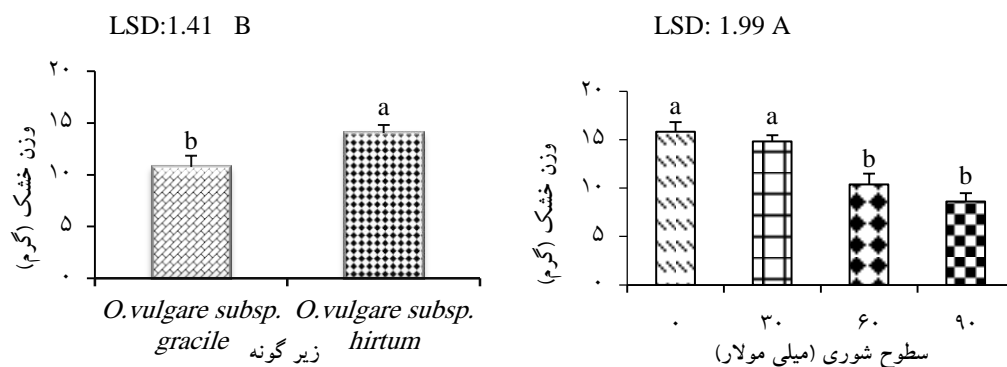
برای اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز از مخلوط موادی که شامل ۰/۹ میلی لیتر آب مقطر، ۱/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار، ۰/۱ میلی لیتر کربنات سدیم ۱/۵ مولار، ۰/۲ میلی لیتر متیونین ۰/۲ مولار، ۰/۱ میلی لیتر EDTA ۳ میلی مولار، ۰/۱ میلی لیتر نیترو بلوتترازولیوم ۲/۲۵ میلی مولار و ۰/۰۵ میلی لیتر عصاره آنزیمی بود استفاده شد. واکنش با اضافه کردن ۰/۱ میلی لیتر ریبوفلاوین ۶۰ میکرو مولار و قرار دادن لوله های آزمایش در روشنایی به مدت ۱۵ دقیقه آغاز گردید، سپس به مدت ۱۵ دقیقه لوله ها در تاریکی

جدول ۲- تجزیه واریانس داده‌های مربوط به وزن خشک و صفات فیزیولوژیکی در

دو زیرگونه مرزنجوش تحت تنش شوری

میانگین مربعات						
وزن خشک	مالون دی‌آلدئید (MDA)	پراکسید هیدروژن (H ₂ O ₂)	گیاکول پراکسیداز (GPX)	سوپراکسید دیسموتاز (SOD)	درجه آزادی	منابع تغییرات
۶۹/۹**	۱/۷**	۱۵/۱**	۰/۲**	۵/۰۰۱**	۳	سطوح شوری
۶۸/۷**	۰/۰۵ns	۴۷/۱**	۰/۳**	۴/۵**	۱	ژنوتیپ
۰/۲ns	۰/۰۴ns	۱/۲**	۰/۱**	۱/۰۴**	۳	سطوح شوری × ژنوتیپ
۲/۷	۰/۰۲	۰/۱	۰/۰۱	۰/۱۳	۱۶	خطا
۱۳/۲	۱۱/۷	۶/۳	۶۸/۷	۹/۷		ضریب تغییرات (%)

** بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، * بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ns: عدم اختلاف معنی‌دار



شکل ۱- A: تأثیر سطوح مختلف شوری بر میزان وزن خشک دو زیرگونه مرزنجوش تحت تنش شوری، B: میانگین وزن خشک دو

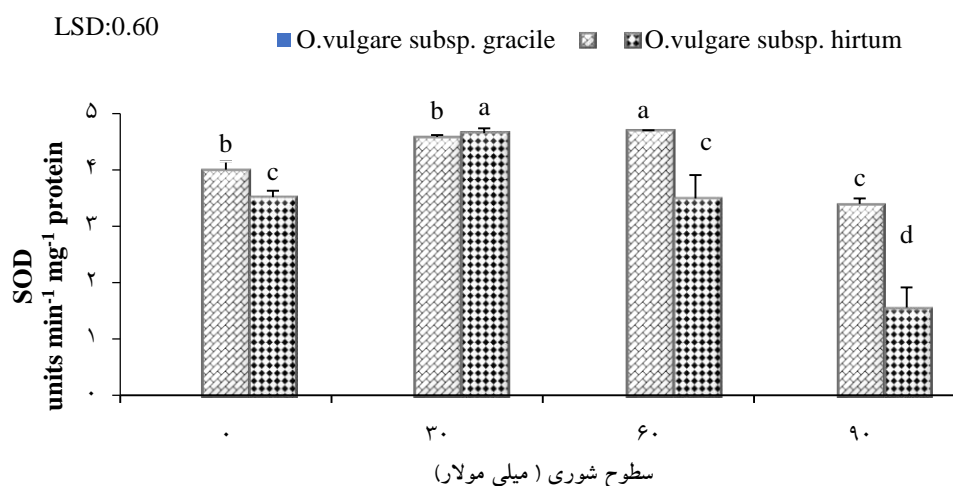
زیرگونه مرزنجوش تحت تنش شوری

۴/۷ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) می‌باشد. در حالی‌که در تنش شدید (شوری ۹۰ میلی‌مولار) فعالیت این آنزیم کاهش پیدا کرد و به کمترین میزان (۳/۴) واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) رسید. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در زیرگونه *hirtum* (یونانی) بالاترین میزان فعالیت (۴/۶) واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) را در تنش ملایم بدست آورد، در حالی‌که در تنش‌های متوسط و شدید میزان آن کاهش یافت و به کمترین مقدار (۱/۵) واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل سطوح شوری بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در دو زیرگونه مرزنجوش در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ۲). با بررسی میانگین اثر متقابل سطوح شوری بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در دو زیرگونه مرزنجوش مشخص شد که زیرگونه *gracile* (بخارایی) در تنش‌های ملایم و متوسط دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (به ترتیب ۴/۵ و

دقیقه) در شوری ۹۰ میلی مولار رسید. از سویی زیرگونه *gracile* (بخارایی) دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) نسبت به زیرگونه *hirtum* (یونانی) بود (شکل ۲).

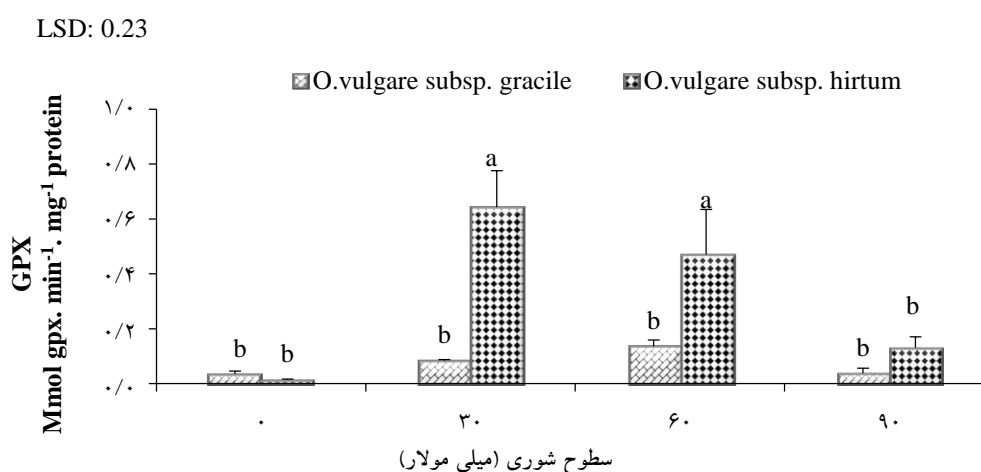


شکل ۲- اثر متقابل سطوح شوری بر میزان فعالیت آنزیم SOD در دو زیرگونه مرزنجوش

پروتئین در دقیقه بود. در حالی که در زیرگونه یونانی (*hirtum*) تنش ملایم (شوری ۳۰ میلی مولار) بالاترین میزان فعالیت گایاکول پراکسیداز (۰/۶۴ میلی مول گایاکول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) را داشت. از سویی زیرگونه یونانی (*hirtum*) نسبت به زیرگونه بخارایی (*gracile*) میزان فعالیت گایاکول پراکسیداز بیشتری را نشان داد (شکل ۳).

آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)

طبق مقایسه میانگین داده‌ها میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) با افزایش سطوح شوری نسبت به تیمار شاهد افزایش پیدا کرد. بالاترین میزان فعالیت این آنزیم در زیرگونه بخارایی (*gracile*) متعلق به تنش متوسط (شوری ۶۰ میلی مولار) با میانگین ۰/۰۸ میلی مول گایاکول بر میلی گرم

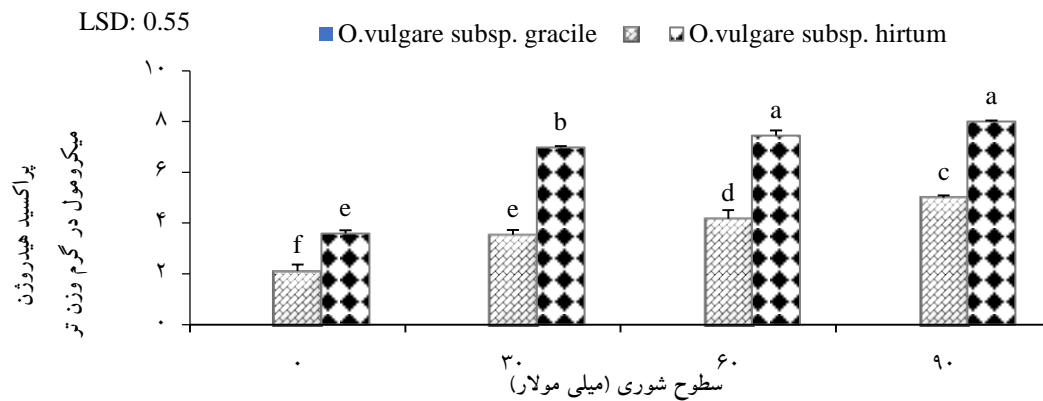


شکل ۳- اثر متقابل سطوح شوری بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در دو زیرگونه مرزنجوش

پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

زیرگونه بخارایی و یونانی در تنش شدید به ترتیب افزایش ۲/۸ و ۴/۴ درصدی را نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. از سویی زیرگونه *hirtum* (یونانی) دارای غلظت پراکسید هیدروژن بیشتری نسبت به زیرگونه (*gracile* بخارایی) بود (شکل ۴).

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل سطوح شوری بر میزان پراکسید هیدروژن در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شد (جدول ۲). با بررسی میانگین داده‌ها مشخص شد که با افزایش سطوح شوری غلظت پراکسید هیدروژن نیز بیشتر شده است، به طوری که دو

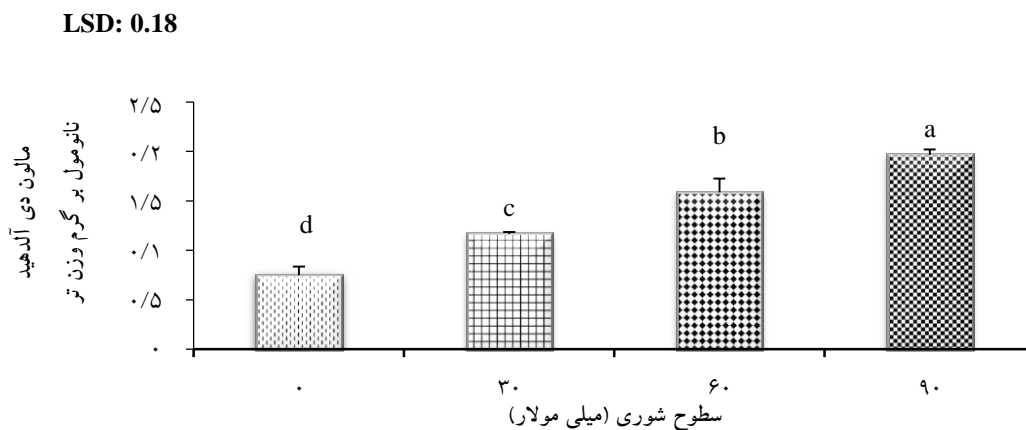


شکل ۴- اثر متقابل سطوح شوری بر غلظت پراکسید هیدروژن در دو زیرگونه مرزنجوش

افزایش سطوح شوری افزایش پیدا کرد و در تنش شدید به بالاترین میزان رسید. به طوری که تنش‌های ملایم، متوسط و شدید به ترتیب افزایش ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ درصدی را نسبت به تیمار شاهد پیدا کردند (شکل ۵).

مالون‌دی‌آلدئید

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که تنها اثر اصلی سطوح مختلف شوری بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در دو زیرگونه مرزنجوش معنی دار شده است (جدول ۲). مطابق میانگین داده‌ها، محتوای مالون‌دی‌آلدئید به طور معنی داری با



شکل ۵- اثر سطوح شوری بر غلظت مالون‌دی‌آلدئید در دو زیرگونه مرزنجوش

رنگی‌های فتوسنتزی

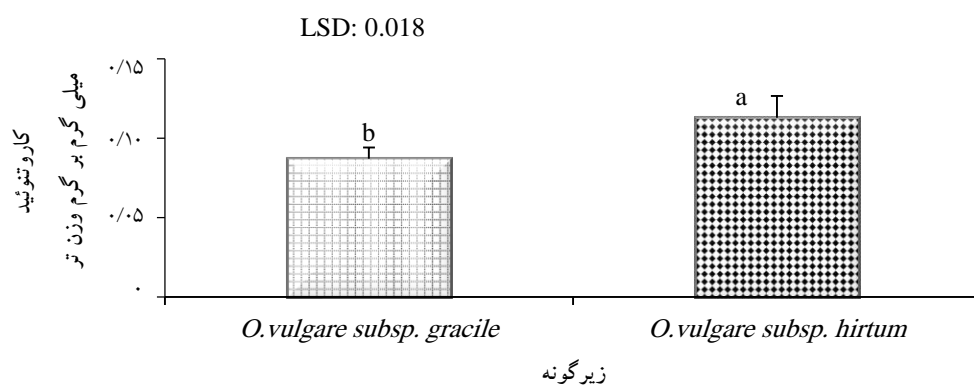
نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی سطوح مختلف شوری بر میزان شاخص‌های فتوسنتزی از قبیل کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید و کلروفیل کل در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ۳). همچنین کاروتنوئید کل در اثر اصلی دو زیرگونه مرزنجوش در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. طبق مقایسه میانگین داده‌ها با افزایش سطوح شوری از میزان کلروفیل a کاسته شد و تنش شدید کمترین مقدار کلروفیل a (۰/۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را داشت. این روند کاهش در سایر

رنگی‌ها از جمله کلروفیل b، کاروتنوئید و کلروفیل کل (جدول ۳) هم مشاهده شد که با افزایش سطوح مختلف شوری مقدار هر سه شاخص کاهش پیدا کرد. بالاترین مقدار کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید (به ترتیب ۰/۲۸، ۱/۴۱ و ۰/۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد بود و کمترین مقدار (به ترتیب ۰/۱۲، ۰/۶۳ و ۰/۰۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) هم در تنش شدید (شوری ۹۰ میلی‌مولار) برای هر سه شاخص مشاهده شد (شکل ۷). با وجود این زیرگونه *hirtum* (شوری ۹۰ میلی‌مولار) نسبت به زیرگونه *gracile* (بخارایی) دارای کاروتنوئید بیشتری بود (شکل ۶).

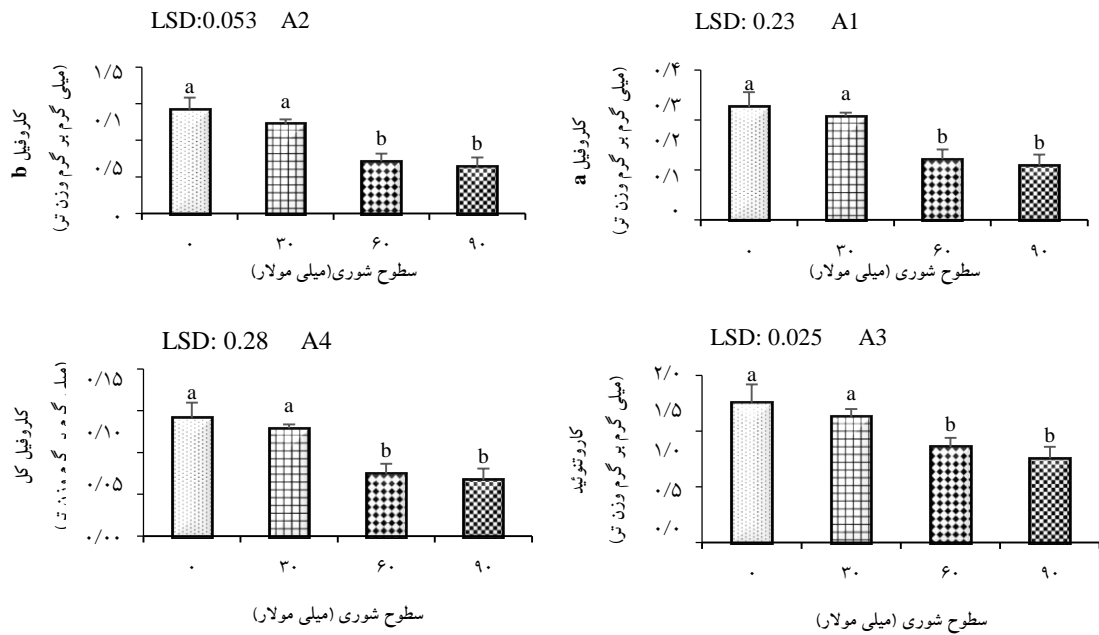
جدول ۳- تجزیه واریانس داده‌های مربوط به رنگی‌های فتوسنتزی دو زیرگونه مرزنجوش تحت تنش شوری

میانگین مربعات					
منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	کلروفیل کل
سطوح شوری	۳	۰/۵***	۰/۰۳***	۰/۰۰۳***	۰/۸***
ژنوتیپ	۱	۰/۰۴ns	۰/۰۰۲ns	۰/۰۰۴***	۰/۰۶ns
سطوح شوری × ژنوتیپ	۳	۰/۰۱ns	۰/۰۰۱ns	۰/۰۰۰۶ns	۰/۰۲ns
خطا	۱۶	۰/۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۴	۰/۰۵
ضریب تغییرات (%)		۲۳/۳	۲۱/۵	۲۱/۱	۲۲/۹

***: بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، **: بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ns: عدم اختلاف معنی‌دار



شکل ۶- میانگین کاروتنوئید دو زیرگونه مرزنجوش در سطوح مختلف شوری



شکل ۷- اثر اصلی سطوح شوری بر میزان کلروفیل a (A1)، کلروفیل b (A2)، کاروتنوئید (A3) و کلروفیل کل (A4) در دو زیرگونه مرزنجوش

نسبت به تیمار ۳۰ میلی مولار نشان داد. با وجود این کمترین مقدار درصد اسانس (۰/۴۵٪) متعلق به تیمار شاهد بود (جدول ۴). طبق نتایج حاصل مشخص شد که درصد اسانس گیاهان تحت تنش سطوح مختلف شوری بیشتر از گیاهان بدون تنش می باشد (شکل ۸).

درصد اسانس

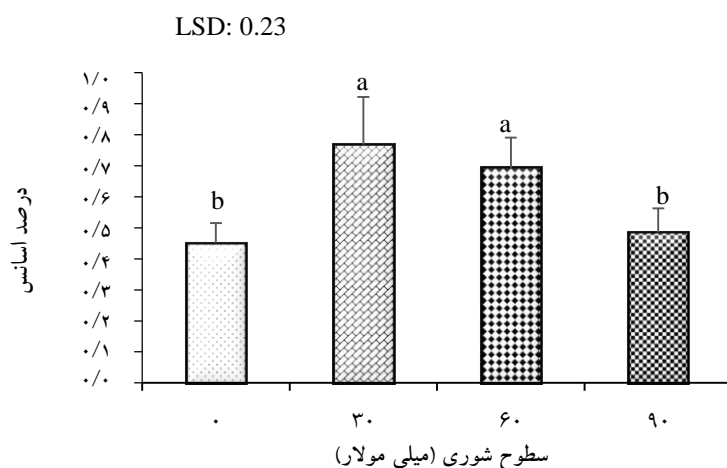
میانگین داده های درصد اسانس در سطوح مختلف شوری نشان داد که بیشترین مقدار درصد اسانس (۰/۷۶٪) متعلق به تنش ملایم (شوری ۳۰ میلی مولار) است که این شاخص در تنش متوسط و شدید (شوری ۶۰ و ۹۰ میلی مولار) به ترتیب کاهش ۰/۰۷ و ۰/۲۸ درصدی

جدول ۴- تجزیه واریانس داده های مربوط به درصد و ترکیب های اصلی اسانس

دو زیرگونه مرزنجوش تحت تنش شوری

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییرات
carvacrol	carvacrol methyl ether	γ -terpinene	p-cymene	درصد اسانس		
۲۳۹/۵**	۱/۲ns	۳۰/۷**	۱۷۱/۹**	۰/۱*	۳	سطوح شوری
۴۱۱۶/۵**	۲۸۶/۵**	۴۱۵/۰**	۶۰/۸*	۰/۰۱ns	۱	ژنوتیپ
۷۶/۹*	۳/۰۱ns	۶/۱ns	۱۳۲/۳**	۰/۰۳ns	۳	سطوح شوری × ژنوتیپ
۲۴/۵	۱/۱	۳/۴	۹/۷	۰/۰۴۶	۱۶	خطا
۹/۹	۲۵/۴	۲۱/۶	۱۸/۰۹	۳۱/۷		ضریب تغییرات (%)

** بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪، * بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ns بیانگر عدم اختلاف معنی دار



شکل ۸- درصد اسانس در سطوح مختلف شوری در دو زیرگونه مرزنجوش

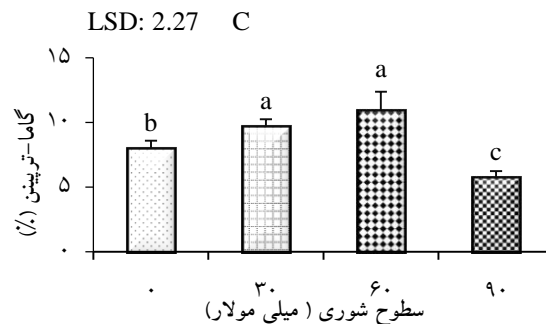
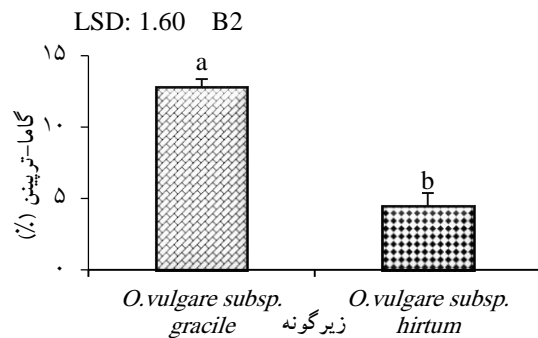
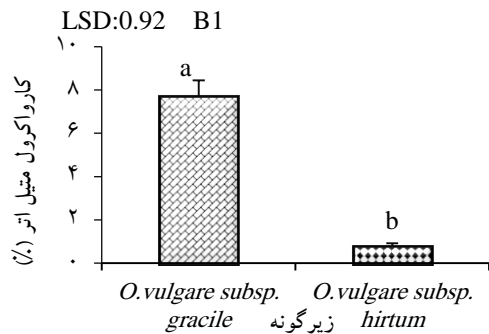
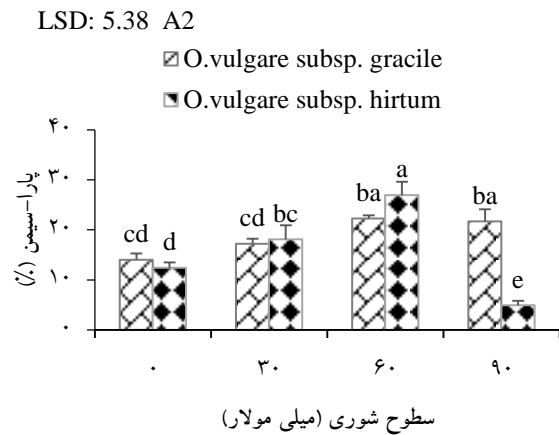
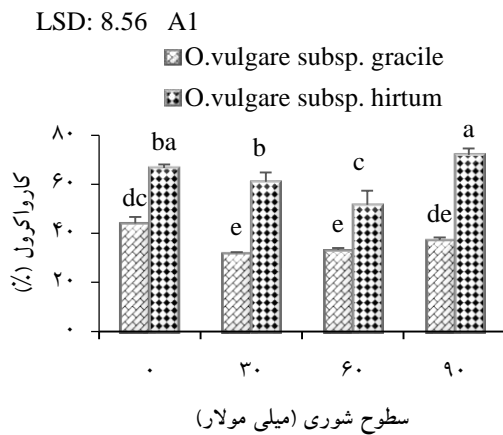
ترکیب‌های اصلی اسانس

با بررسی دو زیرگونه مرزنجوش در سطوح مختلف شوری مشخص شد که ترکیب پارا-سیمن در دو زیرگونه بخارایی و یونانی در تنش ملایم و متوسط افزایش یافته است، به طوری که میزان این ترکیب در تنش متوسط (شوری ۶۰ میلی‌مولار) دو زیرگونه یونانی و بخارایی به بالاترین مقدار (به ترتیب ۲۶/۹٪ و ۲۲/۲٪) رسیده است. در زیرگونه *gracile* (بخارایی) این ترکیب در تنش شدید کاهش ۰/۸ درصدی نسبت به تنش متوسط پیدا کرد و کمترین مقدار پارا-سیمن را با میانگین ۱۴/۰۳٪ تیمار شاهد نشان داد. در حالی که کمترین مقدار پارا-سیمن در زیرگونه *hirtum* (یونانی) متعلق به تنش شدید (شوری ۹۰ میلی‌مولار) با مقدار ۴/۹٪ بود. از سوی دیگر زیرگونه *hirtum* (یونانی) بالاترین مقدار (۲۶/۹٪) متعلق به تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار) و کمترین مقدار (۴/۹٪) متعلق به شوری ۹۰ میلی‌مولار) پارا-سیمن را نسبت به زیرگونه *gracile* (بخارایی) داشت. با وجود این زیرگونه *gracile* (بخارایی) دارای بیشترین مقدار پارا-سیمن نسبت به زیرگونه *hirtum* (یونانی) بود (شکل ۹). با بررسی ترکیب گاما-ترینین در سطوح مختلف شوری مشخص شد که بالاترین مقدار این ترکیب با میانگین ۱۰/۹٪ متعلق به تنش

متوسط می‌باشد. در حالی که کمترین مقدار گاما-ترینین متعلق به تنش شدید (با میانگین ۵/۷٪) بود. از سوی دیگر گونه *gracile* (بخارایی) نسبت به زیرگونه *hirtum* (یونانی) دارای مقدار گاما-ترینین بیشتری بود (شکل ۹). طبق بررسی اثر زیرگونه‌های مرزنجوش بر ترکیب کارواکرول متیل اتر، مشخص شد که زیرگونه *hirtum* (یونانی) کمترین مقدار ترکیب را نسبت به زیرگونه *gracile* (بخارایی) دارد و زیرگونه بخارایی با میانگین ۷/۶٪ بیشترین مقدار ترکیب کارواکرول متیل اتر را داراست (شکل ۹) و با بررسی اثر متقابل دو زیرگونه مرزنجوش بر میزان ترکیب کارواکرول در سطوح مختلف شوری مشخص شد که این ترکیب در زیرگونه *gracile* (بخارایی) با افزایش سطوح شوری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافته است و کمترین مقدار ترکیب با میانگین ۳۱/۹٪ متعلق به تیمار ۳۰ میلی‌مولار (تنش ملایم) بود که در تنش متوسط و شدید به ترتیب افزایش ۱/۳ و ۵/۴ درصدی نسبت به تنش ملایم مشاهده شد. در زیرگونه *hirtum* (یونانی) بالاترین مقدار کارواکرول با میانگین ۷۱/۹۹٪ متعلق به تنش شدید (شوری ۹۰ میلی‌مولار) بود که نسبت به تیمار شاهد ۲۷/۹٪ افزایش یافته بود. در حالی که تنش متوسط (شوری ۶۰ میلی‌مولار) کمترین مقدار (۵۱/۷٪) کارواکرول را در زیرگونه *hirtum*

بیشترین مقدار کارواکرول می‌باشد (شکل ۹).

(یونانی) داشت. با این حال مشخص شد که زیرگونه *hirtum* (یونانی) نسبت به زیرگونه *gracile* (بخاری) دارای



شکل ۹- اثر متقابل سطوح شوری بر میزان ترکیب‌های کارواکرول (A1)، پارا-سیمن (A2)، میانگین کارواکرول متیل اتر (B1) و

گاما-ترپینین (B2) و اثر اصلی سطوح شوری بر میزان گاما-ترپینین (C) در دو زیرگونه مرزنجوش

کاهش وزن خشک در شرایط شوری را می‌توان به کاهش آب قابل دسترس، به هم خوردن تنظیم اسمزی، عدم تعادل عناصر غذایی و سمیت یون‌های کلر و سدیم در گیاهان نسبت داد (Arvin, 2015). در تطابق با نتایج این پژوهش

بحث

وزن خشک

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزایش سطوح شوری از میزان وزن خشک گیاه کاسته شده است.

فیزیولوژیکی گیاه و همچنین مدت زمانی که گیاه در معرض شوری قرار می‌گیرد متفاوت است (Najafi et al., 2010).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

طبق نتایج حاصل از این پژوهش افزایش سطوح شوری منجر به افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در دو زیرگونه مرزنجوش شد. از این رو به نظر می‌رسد افزایش فعالیت این آنزیم به علت افزایش یون‌های سدیم و کلر تحت شرایط شوری می‌باشد که افزایش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) گیاه را قادر می‌سازد که در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش شوری مقاومت کند (Ozturk et al., 2004). در تطابق با نتایج این پژوهش، El-Esawi و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که افزایش شوری منجر به افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) شده است. همچنین طبق گزارشی مشخص شد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) تحت تنش شوری در ریشه، ساقه و برگ‌های گیاه پونه (*Mentha pulegium*) به مقدار قابل توجهی افزایش یافته است (Merati et al., 2015) و در مطالعه‌ای بر روی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum bacilicum*) افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به علت اعمال تنش شوری گزارش شده است (Afshar & Lanad Moghadam, 2015). همچنین Farsaraei و همکاران (۲۰۲۰) مشاهده کردند که با افزایش شوری میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در رقم کشکنی لولو ریحان (*Ocimum bacilicum*) افزایش یافته است. اگرچه بیشتر مطالعات حکایت از افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به عنوان اولین سد دفاعی در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارد ولی طبق تحقیقی بر روی گیاه مریم‌گلی قرمز (*Salvia miltiorrhiza*) مشخص شد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطوح شوری بالاتر کاهش یافته است. البته افزایش فعالیت کاتالاز و پراکسیدازها می‌تواند نقش مهمی در مقاومت به

Zhou و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که وزن خشک گیاه نعنای ژاپنی (*Schizonepeta tenuifolia*) تحت تنش شوری، کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل نشان داد. همچنین Gengmo و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند که اعمال تنش شوری منجر به کاهش وزن تازه و خشک گیاه مریم‌گلی قرمز (*Salvia miltiorrhiza*) شده است. طبق مطالعه‌ای روی گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.) مشخص شد که در اثر اعمال تنش شوری وزن تازه و خشک ساقه و ریشه این گیاه نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری پیدا کرده است (Roodbari et al., 2013). همچنین تنش شوری به عنوان کاهش‌دهنده اصلی پارامترهای رشدی از جمله وزن تر و خشک گیاه، در گیاهانی مانند مرزنجوش تابستانی (*Origanum majorana*)، نعنای سیبی (*Mentha suaveolens*)، آویشن دناپی و آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L. و *Thymus daenensis* Celak)، بابونه (*Matricaria chamomilla*)، پونه (*Mentha pulegium*)، مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) و ریحان (*Ocimum bacilicum*) گزارش شده است که با نتایج حاصل از این پژوهش همخوانی دارد (Said-Al Ahl & Jaleel et al., 2011; Emami Bistgani et al., 2019; Omer, 2008; Ben Tarrit et al., 2009). با اینکه در این پژوهش میزان وزن خشک هر دو زیرگونه کاهش پیدا کرده بود ولی زیرگونه یونانی دارای بیشترین میزان وزن خشک نسبت به زیرگونه بخارایی بود که به نظر می‌رسد این افزایش میزان وزن خشک زیرگونه یونانی به علت بالاتر بودن میزان فعالیت کاروتنوئید و آنزیم گایاکول پراکسیداز در این زیرگونه باشد که منجر به افزایش مقاومت به شوری از طریق کاهش اثرهای سمی یون‌های سدیم و کلر، افزایش آب قبل دسترس، ایجاد تعادل اسمزی در زیرگونه یونانی مرزنجوش شده‌اند و در نهایت همه این عوامل موجب افزایش میزان وزن خشک زیرگونه یونانی نسبت به زیرگونه بخارایی شده است. بنابراین می‌توان گفت که مقدار کاهش رشد گیاه در شرایط شوری با توجه به نوع گونه و زیرگونه گیاهی مورد مطالعه، نوع نمک، غلظت نمک، مرحله

گیاهان شوری گیاهان داشته باشد. در این پژوهش نیز با اینکه میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در هر دو زیرگونه افزایش یافته بود ولی زیرگونه بخارایی دارای فعالیت بیشتر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) نسبت به زیرگونه یونانی بود. بنابراین به نظر می‌رسد که کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در زیرگونه یونانی مرزنجوش تحت تنش شوری به دلیل کاهش موضعی میزان Na^+ در برگ و در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز باشد که باعث شده است کاهش میزان فعالیت این آنزیم در رقم مقاوم (زیرگونه یونانی) نسبت به رقم حساس (زیرگونه بخارایی) مشاهده شود (Vaidyanathan *et al.*, 2003).

آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)

در این پژوهش افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) در تنش‌های متوسط و ملایم هر دو زیرگونه مرزنجوش مشاهده شد ولی میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) در زیرگونه یونانی بیشتر از زیرگونه بخارایی بود که این افزایش به بالاتر بودن تحمل زیرگونه یونانی به شرایط شوری نسبت داده می‌شود. از آنجا که گایاکول پراکسیداز در مقایسه با کاتالاز میل ترکیب بیشتری برای حذف پراکسید هیدروژن دارد، بنابراین نقش مهمی را در مشارکت در سیستم دفاعی سلول و سم‌زدایی اکسیژن‌های واکنش‌گر ایفاء می‌کند که در نتیجه موجب حذف آب اکسیژنه تولیدی توسط عوامل تنش‌زا می‌گردد. در تطابق با نتایج پژوهش حاضر افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز رقم کشکنی ریحان در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار، در چین اول گزارش شده است (Farsaraei *et al.*, 2020). همچنین میزان بالاتر فعالیت گایاکول پراکسیداز در زیرگونه کانادایی مرزنجوش (*Origanum majorana*) نیز در شرایط شوری گزارش شده است (Baatour *et al.*, 2012). Alaei و همکاران (۲۰۲۰) با مطالعه روی گیاه کتان (*Linum usitatissimum*) متوجه شدند که شوری به‌طور معنی‌داری میزان فعالیت آنزیم

گایاکول پراکسیداز (GPX) را در این گیاه افزایش داده است. Olfa و همکاران (۲۰۱۸) با بررسی روی گیاه شنبليله (*Trigonella foenum graecum L.*) افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) را در پاسخ به تنش شوری گزارش کردند. طبق پژوهشی روی گیاه پیروش (*Catharanthus roseus*) مشخص شد که آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش معنی‌داری را در پاسخ به تنش شوری نشان دادند (Askary *et al.*, 2017). بنابراین به نظر می‌رسد که افزایش در میزان مالون‌دی‌آلدئید و هیدروژن پراکسید در گیاهان تحت تنش به‌ویژه تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌هایی از جمله گایاکول پراکسیداز (GPX) و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در گیاهان می‌شود (Alaei *et al.*, 2020)؛ به‌طوری‌که افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی را در مقاومت به شوری در واریته‌های مختلف گیاهی ایفاء می‌کنند (Gengmo *et al.*, 2014).

پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید

طبق نتایج حاصل از این پژوهش با افزایش سطوح شوری میزان پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید نیز افزایش پیدا کرد و در تنش شدید به بالاترین مقدار رسید. البته افزایش میزان پراکسید هیدروژن به عدم تعادل بین تولید و حذف آن به علت تنش شوری نسبت داده می‌شود. به‌نحوی که با افزایش میزان پراکسید هیدروژن ساختار و کارکردهای اصلی سلول دچار اختلال می‌شود و در نتیجه موجب کاهش میزان رشد گیاه و همچنین باعث پراکسیداسیون لیپیدها (افزایش مالون‌دی‌آلدئید) و آسیب‌های غشایی می‌شود (Weisany *et al.*, 2012؛ Sairam & Tyagi, 2004؛ Dermiral & Turkan, 2005). مقدار مالون‌دی‌آلدئید (MDA) نیز با تجمع پراکسید هیدروژن (H_2O_2) برگی همبستگی دارد که افزایش مالون‌دی‌آلدئید نشان‌دهنده تنش اکسیداتیو ناشی از تنش‌های مختلف محیطی مانند شوری در گیاهان می‌باشد (Olfa *et al.*, 2018). در تطابق با نتایج این

ریحان (*Ocimum bacilicum*)، بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) مریم‌گلی قرمز (*Salvia miltiorrhiza*) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) تحت شرایط شوری وجود دارد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (Gengmo et al., 2014؛ Deghani et al., 2015؛ Ghorbani et al., 2018؛ Said-Al Ahl & Omer, 2011). با وجود اینکه میزان کاروتنوئید در این پژوهش در هر دو زیرگونه با افزایش سطوح شوری کاهش پیدا کرده بود ولی زیرگونه یونانی دارای بیشترین میزان کاروتنوئید نسبت به زیرگونه بخارایی بود که بالاتر بودن این ترکیب به تحمل بیشتر زیرگونه یونانی به شرایط شوری نسبت داده می‌شود زیرا کاروتنوئیدها جزء آنتی‌اکسیدان‌های غیرآزمی غشایی محلول در چربی با وزن مولکولی پایین هستند که در پلاست‌ها ساخته می‌شوند و به‌عنوان رنگیزه‌های کمکی و آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند (Mohammadkhani & Heidari, 2007).

درصد اسانس

طبق نتایج حاصل از این پژوهش مشخص شد که تنش ملایم بیشترین درصد اسانس را به خود اختصاص داده است. در کل میزان اسانس گیاهان تحت تنش شوری بیشتر از گیاهان بدون تنش در این آزمایش بود. البته افزایش درصد اسانس در زیرگونه‌های یونانی و بخارایی مرزنجوش می‌تواند به‌دلیل تغییر در بیوسنتز اسانس گیاهان تحت تنش و محدود شدن سطح برگ‌ها و یا به‌دلیل متراکم شدن غدد ترشحی اسانس و افزایش تعداد مطلق غده‌های اسانسی در مقایسه با برگ‌های تحت شرایط غیر تنش باشد (Said-Al Ahl et al., 2016). در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، Jelali و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که سطوح متوسط شوری (5 dSm^{-1}) منجر به افزایش درصد اسانس در گیاه مرزنجوش (*Origanum majorana*) شده است. در پژوهش دیگری که بر روی ژنوتیپ‌های مختلف ریحان انجام شد مشخص شد که ژنوتیپ Grecco a Palla بالاترین مقدار

پژوهش، افزایش میزان مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن تحت تنش شوری در گیاهانی مانند ریحان (*Ocimum bacilicum*) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) گزارش شده است (Khaloandy et al., 2016؛ Farsaraei et al., 2020). Baatour و همکاران (۲۰۱۲) نیز بیان کردند که اعمال تنش شوری منجر به افزایش میزان مالون دی‌آلدئید در زیرگونه تونسوی مرزنجوش (*Origanum majorana*) شده است. همچنین طبق پژوهش‌هایی افزایش میزان مالون دی‌آلدئید در نتیجه افزایش میزان شوری در گیاهانی مانند زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) و مرزه (*Satureja hortensis*) گزارش شده است (Akbari et al., 2016؛ Jahantigh et al., 2016).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزایش سطوح شوری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کاروتنوئید و کلروفیل کل) در هر دو زیرگونه کاهش یافته است. کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش شوری مربوط به افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن در سلول می‌باشد. این رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه‌ها می‌شوند. در واقع تنش شوری منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست‌ها شده، در نتیجه غشاء کلروپلاستی صدمه دیده و قابلیت حیاتی خود را از دست می‌دهد (Zhang et al., 2013). در تطابق با این پژوهش Gohari و Bahrami (۲۰۲۰) بیان کردند که تنش شوری موجب کاهش میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید در گیاه بادرنجبویه (*Dracocephalum moldavica* L.) گردید. Emami Bistgani و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که مقادیر کلروفیل a، b و کلروفیل کل در هر دو گیاه آویشن دانایی (*Thymus daenensis* Celak) و آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) تحت تنش شوری کاهش یافته است. گزارش‌های دیگری نیز مبنی بر کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهانی مانند مرزه (*Satureja hortensis*),

بیوستنتر ترکیب‌های اسانس توسط هر سطح تنش شوری باشد (Burbott & Loomis, 1969). سنتر ترکیب‌های مونوترپنی کارواکرول و تیمول، به‌عنوان ترکیب‌های اصلی اسانس گیاه مرزنجوش، به‌طور مستقیم از گاما-ترینین به‌وسیله آنزیم‌های سیتوکروم P450s که چندین مرحله از فرایندهای اکسیداسیون متابولیسم ترپن‌ها را کنترل می‌کنند انجام می‌شود. ترین‌سینتاز ۲ (*ovtps2*) نیز در گیاه مرزنجوش کاتالیز سنتر گاما-ترینین از ژرانیل پیروفسفات را بر عهده دارد. هفت ژن ترین‌سینتاز به‌صورت یک شبکه مسؤل تولید بیشتر ترکیب‌های ترپنی (مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترین‌ها) در اسانس مرزنجوش می‌باشند. بنابراین به نظر می‌رسد که افزایش فعالیت آنزیم‌های سیتوکروم و ژن‌های ترین‌سینتاز در شرایط شوری منجر به افزایش ترکیب‌های ترپنی در مرزنجوش می‌شود (Crocoll et al., 2010؛ Tholl, 2015). همچنین در این پژوهش مشخص شد که زیرگونه یونانی در شوری ۹۰ میلی‌مولار کارواکرول بیشتری نسبت به سطوح دیگر شوری و نیز زیرگونه بخارایی بدست آورده است. در واقع تجمع بالای ترکیب کارواکرول در زیرگونه یونانی مرزنجوش به‌علت مسیر فعال پلاستییدی MEP (*cymyl*) می‌باشد که فعالیت بیشتر این مسیر یکی از عوامل تأثیرگذار بر عملکرد بالاتر اسانس این زیرگونه است (Crocoll et al., 2010؛ Tholl, 2015؛ Hussain et al., 2009). در تطابق با نتایج این پژوهش، Hussein و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند که افزایش شوری در گیاه آویشن موجب افزایش ترکیب‌های تیمول و کارواکرول در این گیاه شد. Najafi و همکاران (۲۰۱۰) نیز با آنالیز اسانس گیاه مرزه تابستانی (*Satureia hortensis* L.) بیان کردند که ترکیب‌های اصلی اسانس مرزه شامل کارواکرول (۳/۵۵٪) و گاما-ترینین (۳/۳۲٪) می‌باشد و نیز گزارش کردند که با افزایش میزان شوری مقدار کارواکرول افزایش پیدا کرده، در حالی‌که از میزان گاما-ترینین کاسته شده است. گزارش‌های دیگری نیز مبنی بر افزایش ترکیب‌های اصلی اسانس تحت تنش شوری در گیاهانی مانند مریم‌گلی (*Thymus vulgaris*)، آویشن (*Salvia mirzayanii*)،

اسانس را در شرایط شوری بدست آورده است (Filho et al., 2018). Estaj و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که درصد اسانس در گیاه مرزه تابستانی تحت تنش شوری افزایش یافته است. همچنین افزایش درصد اسانس در گیاهانی مانند مرزه (*Satureja hortensis*)، مریم‌گلی (*Salvia officinalis*)، آویشن (*Thymus vulgaris*) و ریحان (*Ocimum bacilicum*) در پاسخ به سطوح پایین‌تر شوری گزارش شده است که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد (Hendawy؛ El-Din et al., 2009؛ Baher et al., 2002؛ Khalid, 2005). همچنین طبق گزارشی مشخص گردید که تنش شوری موجب افزایش درصد و عملکرد اسانس در گیاه جعفری (*Petroselinum hortense*) شده است (Said-Al Ahl et al., 2016). Bernstein و همکاران (۲۰۱۰) در آزمایشی روی ریحان دریافتند که با افزایش شوری، انباشت اسانس در بافت‌های گیاه افزایش پیدا کرد. آنان بیان کردند که یک همبستگی مثبت بین سطح تنش اعمال شده روی سلول‌ها و درصد اسانس در بافت‌های گیاهی وجود دارد. تنش شوری، درصد اسانس بیشتر گیاهان دارویی را افزایش می‌دهد، چون در هنگام استرس متابولیت‌های بیشتری تولید شده و این مواد باعث جلوگیری از عمل اکسیداسیون در سلول می‌شوند (Emami Bistgani et al., 2019). بنابراین افزایش در محتوای اسانس‌ها در گیاهان تحت تنش شوری می‌تواند به‌دلیل کاهش متابولیت‌های اولیه در نتیجه اثر شوری باشد که موجب می‌شود ترکیب‌های حدواسط به مصرف سنتر متابولیت‌های ثانویه برسند و کاهش در محتوای اسانس‌ها نیز می‌تواند به‌دلیل کاهش آنابولیسم گیاه باشد (Said-Al Ahl et al., 2016).

ترکیب‌های اصلی اسانس

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که ترکیب‌های پارا-سیمن و کارواکرول متیل اتر و گاما-ترینین و کارواکرول در سطوح ملایم و متوسط شوری نسبت به تیمار شاهد افزایش پیدا کرده‌اند. این تغییرات در ترکیب‌های اسانس می‌تواند به‌دلیل القاء آنزیم‌های خاص درگیر در

- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Argonomy Journal*, 23: 112-121.
- Arvin, P., 2015. Effect of gibberellin on some morphological traits, photosynthetic pigments content and proline in savoy (*Satureja hortensis* L.) under salinity stress conditions. *Journal of Crop Production Research (Environmental Stresses in Plant Sciences)*, 7(2): 89-104.
- Askary, M., Talebi, S.M., Amini, F. and Bangan, A.D.B., 2017. Effects of iron nanoparticles on *Mentha piperita* L. under salinity stress. *Biologija*, 63(1): 65-75.
- El-Din, A.A.E., Aziz, E.E., Hendawy, S. and Omer, E.A., 2009. Response of *Thymus vulgaris* L. to salt stress and Alar (B9) in newly reclaimed soil. *Journal of applied Sciences Research*, 59(12): 2165-2170.
- Baatour, O., Nasri-Ayachi, M.B., Mahmoudi, H., Tarchoun, I., Nassri, N., Zaghdoudi, M., Abidi, W., Kaddour, R., Hamdaoui, G., Marzouk, B. and Lachaal, M., 2012. Salt effect on physiological, biochemical and anatomical structures of two *Origanum majorana* varieties (Tunisian and Canadian). *African Journal of Biotechnology*, 11(27): 7109-7118.
- Baher, Z.F., Mirza, M., Ghorbanli, M. and Rezaii, M.B., 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(4): 275-277.
- Ben Tarrit, M., Msaada, K., Hosni, K., Hammami, M., Kchouk, M.E. and Marzouk, 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(3): 333-337.
- Bernstein, N., Kravchik, M. and Dudai, N., 2010. Salinity-induced changes in essential oil, pigments and salts accumulation in sweet basil (*Ocimum basilicum*) in relation to alteration of morphological development. *Annals of Applied Biology*, 156: 167-177.
- Burbott, A.J. and Loomis, W.D., 1969. Evidence for metabolic turnover of monoterpenes in peppermint. *Plant Physiology*, 44(2), pp.173-179.
- Crocoll, C., Asbach, J., Novak, J., Gershenzon, J. and Degenhardt, J., 2010. Terpene synthases of oregano (*Origanum vulgare* L.) and their roles in the pathway and regulation of terpene biosynthesis. *Plant Molecular Biology*, 73: 587-603.
- Deghani, R., Radjabian, T., Talei, D. and Saboora, A., 2015. Effects of salt stress on the pigment content of medicinal plant lemon balm (*Mellissa officinalis* L.). 4th National Congress on Medicinal Plants, Tehran, 12-13 May: 552.
- رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.)، ریحان (*Calundella*) و همیشه‌بهار (*Ocimum basilicum officinallis*) وجود دارد که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. (Zrig et al., 2016؛ Valifard et al., 2014)؛ Said-Al Ahl & Omer, 2011؛ El-Esawi et al., 2017؛ Khalid et al., 2010).
- به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی باید گفت که نتایج حاصل از بررسی صفات مورفوفیزیولوژیکی و ترکیب‌های اسانس زیرگونه‌های مرزنجوش *O. vulgare* subsp. *hirtum* (یونانی) و *O. vulgare* subsp. *Gracile* (بخارایی) تحت شرایط تنش شوری بیانگر این مطلب می‌باشد که زیرگونه یونانی از نظر شاخص‌های رشد و فیزیولوژیکی دارای توانایی مناسبی برای تحمل به شرایط شوری می‌باشد؛ با توجه به افزایش میزان کارواکرول و درصد اسانس تحت شرایط شوری، این زیرگونه می‌تواند گزینه مناسبی برای تولید رقمی با میزان اسانس و کارواکرول بالا (با توجه به اینکه بیشتر ارقام تجاری مرزنجوش تیپ کارواکرول می‌باشند) در برنامه‌های اصلاحی آینده و همچنین تولید عملکرد مناسب برای کاشت چه در مناطق حاوی املاح مختلف نمک و چه در مناطق با آب مناسب باشد.

منابع مورد استفاده

- Adams, R.P., 2001. Identification of Essential Oil Component by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Illinois: Allured Publication, 804p.
- Afshar, M. and Lanad Moghadam, A.R., 2015. Evaluation the effect of salicylic acid on some quantitative, qualitative and growth on salt stress in basil (*Ocimum basilicum* L.) plant. *Journal of Cell and Molecular Research*, 28(5): 36-43.
- Akbari, S., Kordi, S. and Ghanbari, F., 2016. Physiological responses of summer savory (*Satureja hortensis* L.) under salinity stress. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5(2): 1702-1708.
- Alaei, Y., Kazemitabar, S.K., Zaefi Zadeh, M., Najafi Zarini, H. and Kiani, G., 2020. A study on the salinity stress effects on the biochemical traits of seedlings and its relationship with resistance toward sensitive and tolerant flax genotypes. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 8(1): 47-52.

- in pistachio (*pistacia vera* L.) seedling. Australian Journal of Crop Science, 6(4): 711-716.
- Hussain, K., Majeed, A., Nawaz, K., Khizar Hayat, B. and Nisar, M.F., 2009. Effect of different levels of salinity on growth and ion contents of black seeds (*Nigella sativa* L.). Current Research Journal of Biological Sciences, 1: 135-138.
 - Husseini, H., Mousavi-Fard, S., Fatehi, F. and Qaderi, A., 2016. Changes in phytochemical and morpho-physiological traits of thyme (*Thymus vulgaris* cv *Varico3*) under different salinity levels. Journal of Medicinal plants, 16(10): 22-33.
 - Jahantigh, O., Najafi, F., Naghdi Badi, H.A., Khavari Nejad, R.A. and Sanjarian, F., 2016. Study of some physiological parameters hyssop (*Hyssopus officinalis*) in the vegetative stage under the influence of salinity. Iranian Journal of Plant Biology, 27(1): 81-94.
 - Jaleel, C.A., Gopi, R. and Panneerselvam, R., 2008. Growth and photosynthetic pigments responses of two varieties of *Catharantus roseus* to triadim. Comptes Rendus Biologies, 331(4): 272-277.
 - Jelali, N., Dhifi, W., Chahed, T. and Marzouk, B., 2011. Salinity effects on growth, essential oil yield and composition and phenolic compounds content of marjoram (*Origanum Majorana* L.) leaves. Journal of Food Biochemistry, 35(5): 1443-1450.
 - Khalid, K., Jamil, A. and Teixeira, S., 2010. Yield, essential oil and pigment content of ethnopharmacol. Scientia Horticulturae, 126(2): 297-305.
 - Khalvandi, M., Ameriana, M., Pridashti, H., Keramati, S. and Hosseini, J., 2019. Essential oil of peppermint in symbiotic relation ship with *Piriformospora indica* and methyl jasmonate application under saline condition. Industrial Crops and Products, 127: 195-202.
 - Merati, M.J., Niknam, V., Hassanpour, H. and Mirmasoumi, M., 2015. Comparative effects of salt stress on growth and antioxidative responses in different organs of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). Journal of Plant Researches, 28(5): 1097-1106.
 - Mirmohammady meybodi, A. and Gharyazi, M.B., 2010. The salinity stress of aspects physiological and corrective in crops. Isfahan University of Technology, 288p.
 - Morshedloo, M.R., Salami, S.A., Nazeri, V., Maggi, F. and Craker, L., 2018. Essential oil profile of oregano (*Origanum vulgare* L.) populations grown under similar soil and climate conditions. Industrial Crops and Products, 119: 183-190.
 - Morshedloo, M.R., Ahmadi, H., Pirali Hamadani, M. and Yazdani, D., 2017a. An over review to *Origanum vulgare* L. and its pharmacological properties. Journal of Medicinal Plants, 17(68): 15-31.
 - Dermiral, T. and Turkan, I., 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense system and proline content in root of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environmental and Expreimental Botany, 53(3): 247-257.
 - El-Esawi, M., Elansary, H., El-shanhorey, N. and Elshikh, M., 2017. Salicylic acid-regulated antioxidant mechanisms and Gene expression enhance Rosemary performance under saline conditions. Frontiers in Physiology, 8(716): 1-14.
 - Emami Bistgani, Z., Hashemi, M., Dagosta, M., Craker, L., Maggi, F. and Morshedloo, M.R., 2019. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. Industrial Crops and Products, 135: 311-320.
 - Farsaraei, S., Moghaddam, M. and Ghasemi, A., 2020. Changes in growth and essential oil composition of sweet basil in response of salinity stress and superabsorbents application. Scientia Horticulturae, 271: 109625.
 - Filho, H.G., Silva, P.C.C., da Silva, M.G., Pereira, M.M., Soares, T.M., Neto, A.D., Vasconcelos, R.S. and Gheyi, H.R., 2018. Growth, production and essential oil content of basil genotypes in hydroponic conditions under salt stress. Journal of Experimental Agriculture International, 25(1): 1-10.
 - Gengmo, Z., Quanmei, S.H., Yu, H., Shihui, L. and Changhai, W., 2014. The physiological and biochemical responses of a medicinal plant (*salvia miltiorrhiza* L.) to stress caused by various concentration of NaCl. Plos One, 9(2): 1-6.
 - Ghorbani, M., Movahhedy, Z., Kheiry, A. and Rostami, M., 2018. Effect of salinity stress on some morpho-physiological traits and quantity and quality of essential oil in peppermint (*Mentha piperita* L.). Environmental Stresses in Crop Sciences, 11(2): 413-420.
 - Gohari, G.R. and Bahrami, M.K., 2020. Effects of chitosan as growth elictor on some growth parameters and essential oils yield of *Dracocephalum moldavica* L. under salinity condition. Journal of Agricultural Science, 30(1): 155-169.
 - Gupta, B. and Hung, B., 2014. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and moleculare characterization: a review. International Journal of Genomics, 2014: 701596.
 - Hendawy, S.F. and Khalid, K.H.A., 2005. Response of sage (*Salvia officinalis* L.) plants to zink application under different salinity levels. Applied Science and Research, 1: 147-155.
 - Hojjat nooghi, F. and Mozaffari, V., 2012. Effect of calcium on eliminating the negative effect of salinity

- growth parameters and essential oil percentage of peppermint (*Mentha piperita* L.). International Journal of Basic and Applied Sciences, 2(1): 294-299.
- Said-Al Ahl, H.A.H., Abou-Ellail, M. and Omer, E.A., 2016. Harvest date and genotype influences growth characters and essential oil production and composition of petroselinum crispum plants. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2016(85): 992-1003.
 - Said-Al Ahl, H.A.H. and Omer, E.A., 2011. Medicinal and aromatic plant production under salt stress: a review. Kerld Polonica, 57: 72-87.
 - Sairam, R.K. and Tyagi, A., 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current Science, 86: 407-421.
 - Tholl, D., 2015. Biotechnology of isoprenoids: Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, 148: 63-106.
 - Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R. and Thomas, G., 2003. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oriza sativa* L.) differential response in salt tolerant and sensitive varieties. Plant Science, 165: 1411-1418.
 - Valifard, M., Mohsenzadeh, S., Kholdebrain, B. and Rowshan, V., 2014. Effect of salt stress on volatile compounds of *Salvia mirzayanii*. South African Journal of Botany, 93: 92-97.
 - Verpoorte, R., Contin, A. and Memelink, J., 2002. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. Phytochemistry, 1: 13-25.
 - Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, Gh., Siosemardeh, A. and Ghassemi-Golezani, K., 2012. Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). Plant Oms Journal, 5: 60-67.
 - Zhang, J.L. and Shi, H., 2013. Physiological and molecular mechanisms of plant salt tolerance. Photosynthesis Research, 116: 1-22.
 - Zhou, Y., Tang, N., Huang, L., Zhao, Y., Tang, X. and Wang, K., 2018. Effects of salt stress on plant growth, antioxidant capacity, glandular trichome density, and volatile exudates of *Schizonepeta tenuifolia* Briq. International Journal of Molecular Sciences, 19(252): 2-15.
 - Zrig, A., Tounektia, T., Abd Elgawad, H., Hegab, M.M., Oueled Alia, S. and Khemir, H., 2016. Essential oils, amino acids and polyphenols changes in salt- stress *Thymus vulgaris* exposed to open field and shade enclosure. Industrial Crops and Products, 91: 223-230.
 - Morshedloo, M.R., Salami, S.A., Nazeri, V. and Craker, L.E., 2017b. Prolonged water stress on growth and constituency of Iranian of Oregano (*Origanum vulgare* L.). Journal of Medicinally Active Plants, 5(2): 7-19.
 - Morshedloo, M.R., 2016. Evaluation of Physiological, Phytochemical and Gene Expression Pathway of Iranian Oregano (*Origanum vulgare* L.) Under Water Deficit Conditions. Ph.D. Dissertation, University of Tehran.
 - Morshedloo, M.R., Ebadi, A., Maggi, F., Fattahi, R., Yazdani, D. and Jafari, M., 2015. Chemical characterization of the essential oil compositions from Iranian populations of *Hypericum perforatum* L. Industrial Crops and Products, 76: 565-573.
 - Mohammadkhani, N. and Heidari, R., 2007. Effects of drought stress on protective enzyme Activities and lipid peroxidation in two maize cultivars. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10(21): 3835-3840.
 - Mohammadzadeh, H.A., Mirzakhani, G., Ghafai, M., Samavatipour, P., Araghi, S.M. and fatehi, M.F., 2014. Effect of NaCl stress on seed germination indices and early seedling growth of cumin (*Cuminum cyminum* L.) an important medicinal plant. Agricultural Science Development, 3(2): 161-166.
 - Mozaffarian, V., 2012. Identification of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. Farhang Moaser Press, Tehran, Iran, 1350p.
 - Najafi, F., Khavari-nejad, R.A. and Siahali, M., 2010. The effects of salt stress on certain physiological parameters in summer savory *Satureja hortensis* L. Plant Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 6(1): 13-21.
 - Olfa, B., Zaghdoudi, M., Bensalem, N. and Ouerghi, Z., 2018. Effects of NaCl on plant growth and antioxidant activities in fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.). Bioscience Journal, 34(3): 683-696.
 - Omidbaigi, R., 2011. Production and Processing of Medicinal Plants (Vol. 2). Astan Qods Razavi Publication, 440p.
 - Oueslati, S., Karry-Bouraouri, N., Attia, H., Rahbi, M., Ksouri, R. and Lachaal, M., 2010. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal) to salt stress. Acta Physiologiae Plantarum, 32: 289-296.
 - Ozturk, A., Unlukara, A., Ipek, A. and Gurbuz, B., 2004. Effect of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Pakistan Journal of Botany, 36(4): 787-792.
 - Roodbari, N., Roodbari, Sh., Ganjali, A., Nejad, F. and Ansarifard, M., 2013. The effect of salinity stress on

Study on physiological traits, percentage and essential oil components of two oregano subspecies (*Origanum vulgare* subsp. *gracile* (K.Koch) letsw. and *O. vulgare* subsp. *hirtum* (Link) letsw.) under salinity stress

Z. Ebrahimi¹, M.R. Morshedloo^{2*} and M.B. Hasanpour Aghdam³

1- M.Sc student, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

2*- Corresponding author, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran

E-mail: morshedloo@ut.ac.ir

3- Maragheh of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

Received: December 2020

Revised: July 2021

Accepted: July 2021

Abstract

To investigate the effects of different salinity levels on the essential oil content, and some morphological and physiological characteristics of two oregano subspecies (*Origanum vulgare* subsp. *gracile* (K.Koch) letsw. and *O. vulgare* subsp. *hirtum* (Link) letsw.), a factorial greenhouse experiment was conducted in a completely randomized design with four treatments and three replications. The salinity stress treatment was applied using sodium chloride in Hoagland nutrient solution at four levels of control (no stress), and mild (salinity 30 mM), moderate (salinity 60 mM), and severe (salinity 90 mM) stresses. According to the results, under salinity stress the growth indices, total carotenoids, and chlorophyll index decreased, but the activity of antioxidant enzymes and concentration of malondialdehyde and hydrogen peroxide increased in both subspecies. The wet and dry weight, carotenoids, hydrogen peroxide, and guaiacol peroxidase activity were obtained higher in subsp. *hirtum* than subsp. *gracile*. The percentage and essential oil composition were also affected by salinity. With increasing the salinity levels, the essential oil percentage was significantly increased compared to the control and its highest amount (0.8%) was observed under mild stress. Thirty five compounds were identified in both oregano subspecies essential oil. Carvacrol (30-72%: subsp. *hirtum* crarvacrol more than the other subsp.), γ -terpinene, carvacrol methyl ether, and *p*-cymene were the main components of both subspecies. The results of this study demonstrated the superiority of subsp. *hirtum* to the other oregano subspecies in terms of the tolerance to salinity stress and also quantitative and qualitative yields.

Keywords: Abiotic stress, photosynthetic pigments, morpho-physiological traits, carvacrol.