تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد دهم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۶
۵۵۹-۵۷۰
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2017.68.1017

مطالعه صفات فیزیولوژیک گیاه دارویی مرزنجوش یک‌ساله (*Origanum majorana*) در پاسخ به عنصر روی در شرایط تنش خشکی

مرضیه فارسی[۱]، فرزین عبدالهی[۲*]، امین صالحی[۳]، شیوا قاسمی[۴]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
۲. استادیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان.
۳. استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج.
۴. مربی، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان.

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۲/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۴/۲۶

چکیده

به‌منظور بررسی واکنش فیزیولوژیکی گیاه دارویی مرزنجوش (*Origanum majorana*) به عنصر روی در شرایط تنش خشکی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در سال ۱۳۹۳ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه هرمزگان اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح مختلف تنش خشکی (رطوبت خاک معادل ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) محلول‌پاشی کود روی (غلظت‌های ۰، ۱ و ۳ در هزار) بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر تمام صفات به‌غیراز درصد اسانس داشته و تیمار کود روی در تمام صفات اندازه‌گیری شده به‌غیراز کلروفیل a و آنزیم کاتالاز اثر معنی‌داری داشته است. اثر متقابل روی و تنش خشکی بر میزان کلروفیل a، b، کل، میزان آنتوسیانین و درصد اسانس معنی‌دار بود. اعمال تنش معادل ۷۵٪ ظرفیت زراعی موجب افزایش کلروفیل a، b و کل گردید درحالی‌که تنش ۵۰٪ ظرفیت زراعی موجب افزایش میزان کاروتنوئید، قند محلول، آنتوسیانین و آنزیم کاتالاز گردید. محلول‌پاشی غلظت سه در هزار روی موجب افزایش میزان کلروفیل b و کل و محلول‌پاشی غلظت یک در هزار روی نیز موجب افزایش میزان قند محلول و درصد اسانس گردید. در شرایط تنش ۷۵ و ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی، محلول‌پاشی یک در هزار روی موجب افزایش میزان کلروفیل a، b، میزان آنتوسیانین و درصد اسانس شد. هرچند در این آزمایش آنزیم کاتالاز تحت تأثیر تیمارهای روی قرار نگرفت اما محلول‌پاشی با غلظت پایین روی از طریق افزایش بیوسنتز کلروفیل، کارتنوئید، آنتوسیانین و قند محلول باعث افزایش تحمل گیاه مرزنجوش و درنتیجه بهبود شرایط رشدی این گیاه در شرایط تنش خشکی شد.

***واژه‌های کلیدی*: اسانس، ظرفیت زراعی، گیاهان دارویی، محلول‌پاشی کود.**

مقدمه

مرزنجوش گیاه دارویی یک‌ساله با نام علمی *Origanum majorana* L. گیاهی دارویی از خانواده نعناعیان (Labiatae) است. این گیاه بومی جنوب شرقی ناحیه مدیترانه بوده و در کشورهای مختلف ازجمله ایران کشت می‌شود. مرزنجوش از اهمیت اقتصادی و صنعتی زیادی برخوردار بوده و از دوران باستان خواص درمانی آن شناخته شده است (Baatour et al., 2011).

گیاهان همواره در معرض تنش‌های محیطی قرار دارند (Kafi and Mahdavi Damghani, 2000) و در این میان کمبود آب یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده عملکرد گیاهان زراعی است (Munns, 2002). تنش خشکی می‌تواند باعث تغییرات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاهان مختلف ازجمله گیاهان دارویی شود (Hasani and Omidbaigi, 2002). در شرایط تنش خشکی ترکیبات شیمیایی گیاهان ازجمله قند، پروتئین و میزان کلروفیل تغییر

* نگارنده پاسخگو: فرزین عبدالهی. پست الکترونیک: fabdollahi@hormozgan.ac.ir .

می‌کند که این موضوع می‌تواند در ایجاد مقاومت به خشکی نقش داشته باشد. رضایی و قربانلی (Rezai and Ghorbanli, 2012; Alloway, 2004) در بررسی اثر تنش خشکی بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) اظهار داشتند که با افزایش تنش خشکی مقدار کلروفیل a و b کاهش می‌یابد. همچنین گزارش شده است که در گیاه دارویی بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) که با افزایش کمبود آب میزان کلروفیل کاهش ولی در مقابل مقدار کاروتنوئید برگ افزوده می‌گردد (Arazmjo, 2010). خالد (Khalid, 2006) با مطالعه اثر تنش خشکی بر روی دو گونه ریحان شامل *Ocimum basilicum* و *O. americanum* نشان داد که با افزایش سطح تنش، غلظت قندهای محلول در اندام هوایی این دو گونه به‌طور معنی‌دار افزایش می‌یابد. صفی‌خانی و همکاران ((Safikhani et al., 2007 در تحقیقات خود با اعمال تیمارهای تنش خشکی ۴۰، ۶۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی در گیاه دارویی بادرشبو نتیجه گرفتند که بیشترین قند محلول مربوط به تیمار ۴۰٪ ظرفیت زراعی بود. قربانلی و همکاران ((Ghorbanli et al., 2010 با بررسی اثر کمبود آب و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) نشان دادند که مقدار قندهای محلول و آنزیم کاتالاز تحت شرایط تنش کم‌آبی هم در مقادیر یک‌سوم و هم دوسوم ظرفیت زراعی افزایش می‌یابد. حسنی (Hasani, 2006) در آزمایشی تأثیر تنش کم‌آبی بر رشد، عملکرد و میزان اسانس گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) اظهار داشتند که با کاهش مقدار آب خاک، ازنظر درصد اسانس اختلاف معنی-داری میان تیمارهای مختلف وجود نداشت و بیشترین درصد اسانس (۰/۳۵ میلی‌لیتر درصد گرم ماده خشک) در شرایط رطوبتی ۷۰٪ به دست آمد.

از نتایج تحقیقات گذشته که در مورد گونه‌های معطر انجام‌شده است چنین نتیجه‌گیری می‌شود که تغییرات میزان اسانس در شرایط تنش خشکی بسیار متفاوت و کاملاً به نوع گونه مورد تنش بستگی دارد، لذا چنین استنباط می‌شود که ژنوتیپ گیاهان نقش بسیار مهمی را در واکنش گیاه به شرایط تنش دارد به‌طوری‌که بر اساس گزارش‌ها در شرایط تنش خشکی میزان اسانس در برخی از گیاهان معطر افزوده‌شده و در برخی بدون تغییر و در برخی کاهش می‌یابد (Ghanidehkordi et al., 2011).

تغذیه مناسب تحت شرایط تنش می‌تواند تا حدی به گیاه در تحمل تنش‌های مختلف کمک کند عنصر روی از عناصر کم‌مصرف ضروری است که برای رشد طبیعی و تولیدمثل گیاهان زراعی ضروری است (Alloway, 2004) نیاز به روی برای رشد بهینه و مراحل فیزیولوژیک (Misra, 1992) گزارش‌شده است. این فلز به‌عنوان فعال‌کننده و کوفاکتور برخی آنزیم‌های حیاتی گیاه ازجمله کربونیک‌انهیدرازها، دهیدروژنازها، آلکالین فسفاتازها، فسفولیپازها و RNA پلیمرازها در متابولیسم پروتئین‌ها، قندها، اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها، فتوسنتز گیاه و بیوسنتز اکسین به‌عنوان یک هورمون محرک رشد ایفای نقش می‌کند. برخی از محققان معتقدند که فلز روی از طریق محافظت پروتئین‌ها و لیپیدهای غشایی در برابر رادیکال‌های آزاد و سایر محصولات حاصل از واکنش‌های احیایی درون‌سلولی سبب حفظ تمامیت غشای سلول‌ها می‌شود. بعلاوه این فلز به همراه مس بخش اصلی آنزیم سوپراکسیددسموتاز را به‌عنوان حذف‌کنندهٔ رادیکال‌های آزاد تشکیل می‌دهد (Rion and Alloway, 2004).

باوجود رشد دو گونه مرزنجوش در ایران و همچنین آثار بیولوژیک و فارماکولوژیک این گیاه و واکنش متفاوت گیاهان دارویی به شرایط تنش خشکی و با توجه به اینکه در ایران مطالعات اندکی در رابطه با واکنش گیاهان دارویی به تغذیه با عنصر روی در شرایط تنش خشکی انجام‌شده است، لذا این پژوهش به‌منظور بررسی پاسخ فیزیولوژیک گیاه دارویی مرزنجوش یک‌ساله نسبت به کاربرد عنصر روی در شرایط تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در گلخانه و آزمایشگاه تحقیقاتی طی سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ در دانشگاه هرمزگان انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل سه سطح تنش خشکی [رطوبت خاک معادل ۵۰٪ (تنش شدید)، ۷۵٪ (تنش متوسط) و ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (بدون تنش)] (Khalid, 2006) و سه سطح (صفر، ۱ و ۳ در هزار) کود روی مایع زینتراک (Zintrac®) که به‌صورت محلول سفیدرنگ با اسیدیته ۸/۸، نقطهٔ انجماد ۷- درجه سانتی‌گراد و حاوی ۷۰ درصد روی خالص (به فرم ZnO) بود. غلظت‌های کود روی بر اساساً نتایج آزمون خاک (جدول ۱) و توصیه‌های کودی بکار رفت (Malakouti et

al., 2005) برای این منظور بذور اصلاح‌شده مرزنجوش از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. تعداد ۲۵ بذر در گلدان-های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر، ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر کشت شدند.

تیمارهای خشکی به روش وزنی اعمال شد (Khalid, 2006). به‌طوری‌که ابتدا وزن گلدان و شن ریزه کاملاً شسته و خشک‌شده‌ای که به‌عنوان زهکش ته گلدان استفاده می‌شد، مشخص گردید. سپس به هر گلدان ۴/۴ کیلوگرم از خاک (مجموع وزن گلدان و خاک معادل ۵/۳ کیلوگرم) که یکنواخت تهیه‌شده بود، ریخته شد. خاک گلدان‌ها از ترکیب یکسان خاک زراعی، ماسه و خاک‌برگ تشکیل شد و درصد رطوبت وزنی آن در حد ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی دائم به ترتیب معادل ۱۹ و ۵ درصد (با استفاده از دستگاه سلول فشار مدل Abzar Tosseh Sahand® ساخت ایران) تعیین شد.

پس از آماده کردن گلدان‌ها، اقدام به کاشت بذر در گلدان گردید. تعداد ۲۵ بذر در داخل هرکدام از گلدان‌ها کاشته شد و پس از سبز شدن، بوته‌ها در طی چند مرحله تنک گردیده و درنهایت در داخل هر گلدان ۷ بوته نگهداری شد. تا مرحله ۸ تا ۱۰ برگی شدن بوته‌ها، گلدان‌ها به مقدار مساوی آبیاری گردیدند و از این مرحله به بعد، اقدام به اعمال تیمارهای تنش گردید. برای این منظور کلیه گلدان‌ها در هرروز یک نوبت و در ساعت ۸ صبح، با ترازوی مناسب توزین گردید و در صورت نیاز به آبیاری بر اساس تنش در نظر گرفته‌شده، میزان آب موردنیاز که قبلاً محاسبه‌شده به گلدان اضافه گردید. محلول‌پاشی کود روی نیز ۲۰ روز پس از شروع اعمال تنش و ۴ مرتبه (قبل از گلدهی) در فواصل ده روز صورت گرفت. بدین‌صورت که در هر مرحله یک‌چهارم حجم موردنظر به گلدان‌ها داده شد.

ده روز پس از سومین محلول‌پاشی صفات فیزیولوژیک مانند میزان کلروفیل، قندهای محلول، آنتوسیانین و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز اندازه‌گیری شد و برداشت بوته‌ها به‌منظور استخراج و اندازه‌گیری اسانس در پایان مرحله گلدهی کامل انجام شد. جهت تعیین مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی از روش آرنون (Arnon, 1949) استفاده شد. مطابق این روش ۰/۵ گرم برگ تازه در داخل هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده گردید. عصاره حاصل برای ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ با دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. از محلول رویی مقدار سه میلی‌لیتر به داخل کووت اسپکتروفتومتر ریخته شد و مقدار جذب در طول‌موج‌های ۴۷۰، ۶۴۷ و ۶۶۳ خوانده شد. غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید به ترتیب با استفاده از معادله‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ محاسبه گردید (Arnon, 1949).

$$Chl\ a = (۱۲/۲۵\ A_{۶۶۳}) - (۲/۷۹\ A_{۶۴۷}) \quad [۱]$$

$$Chl\ b = (۲۱/۵۰ \times A_{۶۴۷}) - (۵/۱۰\ A_{۶۶۳}) \quad [۲]$$

$$Chl\ a+b = (۷/۱۵ \times A_{۶۶۳}) + (۱۸/۷۱\ A_{۶۴۷}) \quad [۳]$$

$$C = (۱۰۰۰\ A_{۴۷۰} - ۱/۸۲ Chl\ a - ۸۵/۰۲ Chl\ b)/۱۹۸ \quad [۴]$$

که در آن Chl a، Chl b، Chl a+b و C به ترتیب محتوی کلروفیل a، b، مجموع a+b و کاروتنوئید می‌باشد و A فرمول میزان جذب توسط عصاره‌ها در طول‌موج‌های مربوطه است.

میزان قندهای محلول با استفاده از اتانول ۷۰٪ و بر اساس روش اسیدسولفوریک اندازه‌گیری شد (Mihalovic et al., 1997). برای سنجش قندهای محلول ۰/۱ گرم از بافت خشک اندام‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ اضافه و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شدند، پس‌ازآن ۰/۵ میلی‌لیتر محلول رویی نمونه‌ها به حجم ۲ میلی‌لیتر رسانده و سپس ۱ میلی‌لیتر فنل ۵٪ و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ به آن اضافه گردید. شدت رنگ محلول زرد به‌دست‌آمده را با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۸۵ نانومتر خوانده و مقادیر قند نمونه با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم برگرم وزن خشک ارزیابی شد. همچنین میزان آنتوسیانین با استفاده از متانول اسیدی با روش قناتی و همکاران (Ghanati et al., 2010) تعیین شد. بدین منظور برای سنجش آنتوسیانین، ۰/۲ گرم از هر یک از اندام‌های هوایی گیاه در ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل متانول و اسیدکلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱) خوب ساییده و سپس عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه و به‌صورت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی پس از صاف شدن به مدت یک‌شب در تاریکی قرار داده شد و میزان جذب طول‌موج ۵۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ $M.cm^{-1}$ استفاده شد. غلظت آنتوسیانین از رابطه $A=b\varepsilon c$ به دست آمد که در آن A مقدار جذب، ε ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰، b عرض کووت برحسب سانتی‌متر و C غلظت آنتوسیانین برحسب نانومول بر گرم وزن‌تر برگ است.

سنجش فعالیت کاتالاز بر اساس کاهش جذب آب‌اکسیژنه در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت (Dazy et al., 2008). مخلوط واکنش (۳ میلی‌لیتر) شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار، آب‌اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با افزودن آب‌اکسیژنه به مخلوط واکنش، واکنش شروع و کاهش در جذب آب‌اکسیژنه در مدت ۳۰ ثانیه در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم با استفاده از معادله ۵ انجام شد.

$$CAT(U/g^{-1}Fw)=\frac{\text{مقدار جذب نور در طول موج 470 نانومتر}\times 1000}{39/4}$$

[۵]

جهت استخراج اسانس در مرحله گلدهی کامل اقدام به برداشت نمونه گردید. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر انجام گرفت. به این منظور، ۲۰ گرم نمونه برگ وزن شد و پس از آسیاب مختصر درون بالن ۵۰۰ سی‌سی در داخل دستگاه کلونجر به مدت ۲ ساعت جوشانده شد. سپس درصد اسانس بر اساس نسبت حجم اسانس به‌دست‌آمده (میلی‌لیتر) به وزن نمونه گیاهی (گرم) محاسبه گردید (Charles and Simon, 1990).

جهت اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی، ۱۰ روز پس از آخرین محلول‌پاشی، گیاهان هر گلدان برداشت شد و نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون و در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. وزن خشک اندام هوایی برحسب گرم در گلدان با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد.

اطلاعات به‌دست‌آمده، از طریق برنامه آماری SAS نسخه ۹/۱ مورد تجزیه واریانس و مقایسه میانگین قرارگرفته و میانگین‌ها از طریق آزمون LSD در سطح آماری ۵٪ مقایسه شدند.

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک.

Table 1. Physical and chemical properties of soil.

کربن آلی (OC)	نیتروژن کل (N)	فسفر قابل‌دسترس (P)	پتاسیم قابل‌دسترس (K)	روی (Zn)	آهن (Fe)	منگنز (Mn)	مس (Cu)	pH	EC	بافت Texture
درصد	%	میلی‌گرم بر کیلوگرم			mg.kg^{-1}				دسی‌زیمنس بر متر dSm^{-1}	
0.83	0.10	36.7	152.7	0.6	9.7	5.1	0.8	7.72	0.63	سیلتی-رس Silty-loam

نتایج و بحث

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۲ نشان داد که اعمال تنش خشکی در سطح آماری یک درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ‌های گیاه مرزنجوش داشت. از طرف دیگر کود روی بر کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در سطح ۵ درصد اثر معنی‌دار داشت درحالی‌که بر کلروفیل a اثر معنی‌داری نداشت. اثر متقابل تنش خشکی و کود روی، بر کلروفیل a، b و کل در سطح یک درصد معنی‌دار شد اما بر تغییرات کارتنوئید اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده تنش شدید باعث افزایش معنی‌دار کاروتنوئید در مقایسه با شاهد و تنش متوسط به ترتیب به میزان ۲۱/۵ و ۲۹/۲ درصد شد. از طرف دیگر بین تیمار تنش متوسط و شاهد تفاوت معنی‌داری ازنظر میزان کارتنوئید مشاهده نشد (جدول ۳). مشابه این نتایج رسام و همکاران (Rassam et al, 2014) در بررسی تأثیر کمبود آب بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*)، نشان دادند که غلظت کاروتنوئید با تشدید کمبود آب به‌طور معنی‌دار افزایش یافت، درحالی‌که در این شرایط غلظت کلروفیل a،b و کل در مقایسه با شاهد کاهش یافت. بر اساس نظر برخی محققین کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی به علت افزایش تولید

رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول است که این رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون و درنتیجه تجزیه این رنگ‌دانه می‌گردند (Schutz and Fangmier, 2001) بنابراین در تنش‌های شدید، بر میزان کاروتنوئید به‌عنوان عامل محافظت‌کنندهٔ کلروفیل در برابر اکسیداسیون نوری، افزوده می‌شود تا از تخریب بیشتر کلروفیل ممانعت کند. به‌طوری‌که این رنگیزه با جذب رادیکال‌های فعال اکسیژن سبب محافظت کلروفیل در برابر تنش‌ها می‌گردد (Inze and Montagu, 2000; Jiang and Huang, 2001; Tewari et al, 2008). برخلاف این نتایج بحرینی‌نژاد و همکاران (Bahreininejad et al, 2013) نشان دادند که در گیاه آویشن دنایی (*Thymus daenensis*) با افزایش شدت تنش میزان کارتنوئید در مقایسه با شاهد کاهش یافت به‌طوری‌که کمترین میزان کارتنوئید در تنش متوسط (۵۰٪ ظرفیت زراعی) به دست آمد.

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس واکنش فیزیولوژیکی گیاه دارویی مرزنجوش به کود روی در شرایط تنش خشکی.

Table 2. Results of analysis of variance of marjoram medicinal plant physiological response to the fertilizer zinc in drought conditions.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	Mean squares			میانگین مربعات	
		کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid	آنتوسیانین Anthocyanin
تنش خشکی Drought stress (D)	2	33.8**	45.36**	156.77**	14.13**	0.000015*
کود روی Zinc fertilizer (Z)	2	11.31 ns	14.06*	46.10*	4.51*	0.000034**
تنش خشکی× کود روی D × Z	4	32.99**	31.28**	122.51**	1.98 ns	0.000030**
خطا Error	18	4.69	3.78	14.17	0.93	0.0000033
ضریب تغییرات (٪) CV (%)		9.31	16.28	10.69	12.93	12.14

جدول ۲. ادامه

Table 2. Continued

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	Mean squares		میانگین مربعات	
		قند محلول Soluble sugar	آنزیم کاتالاز CAT	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	درصد اسانس Essential oil%
تنش خشکی Drought stress (D)	2	0.000028**	88.6**	25.26**	0.11 ns
کود روی Zinc fertilizer (Z)	2	0.0000096*	11.65ns	5.51**	0.17*
تنش خشکی× کود روی D × Z	4	0.0000039ns	12.59ns	3.65**	0.18*
خطا Error	18	0.0000020	6.78	0.85	0.056
ضریب تغییرات (٪) CV (%)		21.02	22.81	7.44	21.8

ns، *، ** به ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار و وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪ می‌باشد.

ns, * and **: Non-significant and significant at the 5% and 1% levels of probability respectively.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر اصلی تنش خشکی و کود روی بر واکنش فیزیولوژیکی گیاه دارویی مرزنجوش.

Table 3. Compare Average main effect of drought and fertilizer zinc on the physiological response medicinal plants marjoram.

Treatments	تیمارها		کاروتنوئید Carotenoid (mg/g FW)	قند محلول Soluble sugar (mg/g dw)	آنزیم کاتالاز CAT (Unit/g^{-1}f.w)
Drought stress (%FC)	تنش خشکی	100%	7.25b	0.0069c	8.24c
		75%	6.82b	0.0086b	11.47b
		50%	8.81 a	0.010a	14.51a
Zinc fertilizer	کود روی	Zn_0	7.94 a	0.0070b	11.08a
		Zn_1	6.65 b	0.0097a	12.68a
		Zn_2	7.8a	0.0080b	10.47a
	مقدار LSD		0.95	0.0014	2.57

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letters in each column are not significantly different at 5% level, according to LSD Test.

تیمار کود روی (Zn0: عدم محلول‌پاشی، Zn1: محلول‌پاشی یک در هزار، Zn2: محلول‌پاشی سه در هزار روی)

Fertilizer zinc (Zn 0: No spraying, Zn 1: spray one in a thousand, Zn2: spray three thousand zinc).

تأثیر محلول‌پاشی کود روی بر کاروتنوئید مرزنجوش معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان کاروتنوئید در تیمار شاهد به دست آمد که تفاوت معنی‌داری با محلول‌پاشی سه در هزار روی نداشت. از طرف دیگر محلول‌پاشی با غلظت ۲ در هزار باعث کاهش معنی‌دار کارتنوئید گردید (جدول ۴). در تأیید این نتایج برخی مطالعات نشان دادند که سنتز کارتنوئید در شرایط کاربرد مقادیر زیاد روی کاهش می‌یابد این موضوع به دلیل کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در غلظت‌های بالای روی می‌باشد (Candan and Tarhan, 2003).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر متقابل تنش و کود روی بر میزان هر سه کلروفیل معنی‌دار شد درحالی‌که اثر معنی‌داری بر کاروتنوئید نداشت (جدول ۲). در اغلب موارد کاربرد روی باعث افزایش کلروفیل برگ گردید (جدول ۴). بیشترین مقدار کلروفیل a، b و کل در شرایط تنش متوسط (آبیاری در شرایط رطوبت خاک معادل با ۷۵ درصد ظرفیت زراعی) همراه با محلول‌پاشی کود روی با غلظت یک در هزار به دست آمد (جدول ۴). کاربرد روی در شرایط تنش متوسط و بدون تنش نتوانست کلروفیل a، b و کل را در مقایسه با عدم محلول‌پاشی روی به‌طور معنی‌دار افزایش دهد. درحالی‌که در تنش شدید محلول‌پاشی غلظت ۲ در هزار روی باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل a، b و کل به ترتیب به میزان ۲۸/۶، ۵/ ۱۰۷ و ۴۹/۲ درصد نسبت به شرایط بدون محلول‌پاشی روی گردید (جدول ۴). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کاربرد روی موجب افزایش کلروفیل برگ در شرایط تنش خشکی می‌گردد که این موضوع می‌تواند به دلیل نقش عنصر روی در متابولیسم نیتروژن و درنتیجه بیوسنتز کلروفیل و کاروتنوئیدها باشد که درنهایت موجب افزایش کارایی فتوسنتز گیاه به‌ویژه در شرایط تنش می‌گردد (Movahhedi Dehnavi et al., 2004; Ebrahimi et al., 2014). روی می‌تواند بر غلظت عناصر غذایی درگیر در تشکیل کلروفیل یا عناصری که قسمتی از مولکول کلروفیل هستند مانند آهن و منیزیم نیز مؤثر باشد (Choudhury et al., 2006). همچنین روی با افزایش ایندول استیک اسید مانع از تخریب کلروفیل می‌شود و درنتیجه میزان کلروفیل افزایش می‌یابد (Cakmak and Marschner, 1988). گزارش‌ها حاکی از آن است که عنصر روی از طریق محافظت از گروه سولفیدریل باعث افزایش سنتز کلروفیل در شرایط تنش می‌گردد (Cakmak, 2000).

قند محلول

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها در این آزمایش نشان داد تنش خشکی و محلول‌پاشی روی تأثیر معنی‌داری بر میزان تجمع قند محلول دارد درحالی‌که اثر متقابل تنش و روی بر میزان آن اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی از ۱۰۰ به ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بر میزان قند محلول افزوده شد به‌طوری‌که میزان آن در تیمار تنش ۵۰ درصد ظرفیت

زراعی به ۰/۰۱۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک رسید (جدول ۳). تنظیم اسمزی به‌عنوان جزء مهمی از مکانیسم‌های تحمل به خشکی در گیاهان مطرح است. گیاهان در شرایط متفاوت محیطی، مواد محلول با وزن مولکولی کم که به‌طورکلی اسمولیت‌ها (مواد محلول سازگار) نامیده می‌شوند را سنتز می‌نمایند (Pagter et al., 2005). ازجمله اسمولیت‌ها می‌توان به قندهای محلول اشاره کرد که در شرایط تنش خشکی در گیاه تجمع یافته و به‌عنوان یک عامل حفاظتی عمل می‌کنند. در شرایط تنش، این ترکیبات از طریق تنظیم اسمزی و نگهداری تورژسانس و همچنین پایداری غشاها و پروتئین‌ها از سلول محافظت می‌کنند (Bohnert et al, 1995). تجمع قندهای محلول در شرایط تنش خشکی در گیاه دارویی زوفا (Rassam et al, 2014)، بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) (Abbaszadeh et al., 2008) و ترخون (*Artemisia dracunculus* L.) (Lotfi et al, 2014) گزارش شده است. استفاده از کود روی در این آزمایش سبب افزایش میزان قند محلول گردید. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده تیمار محلول‌پاشی یک و سه در هزار روی موجب افزایش میزان قند محلول نسبت به شاهد گردید (جدول ۳).

افزایش میزان قند توسط روی می‌تواند به‌این‌علت باشد که روی با شرکت در سنتز هورمون اکسین از طریق تحریک سنتز اسیدآمینه تریپتوفان (به‌عنوان پیش ماده سنتز هورمون اکسین) و تنظیم ایجاد نشاسته در سلول، به سنتز کربوهیدرات، پروتئین و چربی کمک می‌کند (Said-Al Ahl and Hussein, 2010). دیلانی و همکاران (Delaney et al., 1993) اعلام کردند در شرایط تنش خشکی عنصر روی بخصوص در ارقام متحمل نقش کلیدی در فرایند تنظیم اسمزی (به‌واسطه افزایش میزان پرولین و یا قندهای محلول) ایفا می‌کند.

آنتوسیانین

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش خشکی و محلول‌پاشی روی و اثر متقابل تنش و روی بر میزان آنتوسیانین معنی‌دار گردید (جدول ۲). تحقیقات نشان می‌دهد که سنتز آنتوسیانین‌ها در شرایط تنش‌های محیطی مانند اشعه ماوراءبنفش، خشکی و درجه‌حرارت پایین افزایش می‌یابد و گیاه را در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند؛ بنابراین سنتز و تجمع آنتوسیانین در گیاه باعث افزایش تحمل گیاه به تنش‌های محیطی ازجمله خشکی می‌گردد (Tahkorpi, 2010; Sperdouli and Moustakas, 2012). افزایش میزان آنتوسیانین در شرایط تنش شدید در گیاهانی چون بادرشبو (Abbaspoor and Rezaei, 2015)، کتان (*Linum usitatissimum* L.) (Ghorbanli et al, 2012) و همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) (Jafarzadeh et al, 2014) گزارش شده است. زارع ده آبادی و اسرار (Zare Dehabadi and Asrar, 2009) نشان دادند که غلظت‌های بالای روی منجر به افزایش میزان آنتوسیانین در نعناع سبز (*Mentha spicata* L.) می‌شود که این نتایج با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. از طرف دیگر برخی مطالعات نشان می‌دهند که غلظت‌های بالای روی نمی‌توانند سنتز آنتوسیانین را به‌طور معنی‌دار افزایش دهند (Zare Dehabadi et al., 2007). بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و کود روی، بیشترین میزان آنتوسیانین (۰/۰۲ نانو مول برگرم وزن‌تر) مربوط به تیمار برهمکنش آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی با محلول‌پاشی یک در هزار کود روی و کمترین میزان آنتوسیانین (۰/۰۱ نانو مول برگرم وزن‌تر) مربوط به تیمار تنش متوسط و بدون محلول‌پاشی کود روی بود (جدول ۴). نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهند که محلول‌پاشی روی احتمالاً از طریق تحریک بیان برخی ژن‌ها که مسئول نسخه‌برداری از آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز ترکیبات آلی در گیاهان هستند باعث افزایش سنتز آنتوسیانین می‌گردند (Song et al., 2015).

آنزیم کاتالاز

بر اساس جدول تجزیه واریانس داده‌ها تنش خشکی بر میزان آنزیم کاتالاز معنی‌دار شد، اما اثر اصلی کود روی و اثر متقابل تنش و کود روی بر آنزیم کاتالاز معنی‌دار نبود (جدول ۲). مقایسه میانگین تیمارهای خشکی نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم (۱۴/۵۱ واحد برگرم وزن تر) مربوط به تنش شدید و کمترین میزان (۱۰/۶۰ واحد برگرم وزن تر) مربوط به آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بود (جدول ۳).

جدول ۴. مقایسه میانگین اثرمتقابل تنش خشکی و سطوح روی بر واکنش فیزیولوژیکی گیاه دارویی مرزنجوش.

Table 4. Compares average interaction of drought stress and Zn levels on physiological response medicinal plants marjoram.

تنش خشکی Drought stress	کود روی (Zinc)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg/g FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg/g FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g FW)	آنتوسیانین Anthocyanin (nmol/g FW)	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight g/pot	درصد اسانس Essential oil (٪)
۱۰۰% ظرفیت زراعی 100% FC	Zn0	21.08bc	10.69de	31.22def	0.013de	12.13cde	0.85 bc
	Zn1	23.19ab	10.69de	33.89de	0.020a	13.66ab	1.42a
	Zn2	23.70ab	11.95cd	35.66bcd	0.013de	13.17bc	0.63c
۷۵٪ ظرفیت زراعی 75% FC	Zn0	26.01a	14.38abc	40.40abc	0.010e	12.30cd	1.21ab
	Zn1	26.91a	17.07a	43.98a	0.014cd	14.62a	1.25ab
	Zn2	23.33ab	12.10bcd	35.44cd	0.016bc	12.9bc	1.09ab
۵۰٪ ظرفیت زراعی 50% FC	Zn0	20.70bc	7.38e	28.08ef	0.015dc	11.37def	1.09ab
	Zn1	17.74c	8.47e	26.21f	0.014dc	10.82f	1.06ab
	Zn2	26.61a	15.31ab	41.92ab	0.018ab	11.08ef	1.02ab
مقدار LSD		*3.71*	*3.33*	*6.45*	*0.0031*	*1.05*	*0.40*

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند

Means followed by the same letters in each column are not significantly different at 5% level, according to LSD Test.

تیمار کود روی (Zn0: عدم محلول‌پاشی، Zn1: محلول‌پاشی یک در هزار، Zn2: محلول‌پاشی سه در هزار روی)

Fertilizer zinc (Zn 0: No spraying, Zn 1: spray one in a thousand, Zn2: spray three thousand zinc).

تنش خشکی، یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که می‌تواند خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاهان را تغییر داده و درنهایت رشد و نمو گیاهان را محدود کند (El-Tayeb and Ahmed, 2010). از طرف دیگر تنش خشکی باعث تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و ترکیبات اکسیدان و درنتیجه تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود (Song et al., 2008; Parida and Das, 2005). تحقیقات نشان داده است که گیاهان با فعال نمودن سیستم‌های آنتی‌اکسیدان ازجمله آنزیم کاتالاز به تنش پاسخ می‌دهند. در این راستا افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جهت مقابله با استرس اکسیداتیو ناشی از تنش‌های محیطی در گیاهان مختلف گزارش‌شده است (Dat et al., 2000; Smirnoff, 1998; Prasad, 2003).

وزن خشک اندام هوایی

با توجه به نتایج تجزیه واریانس وزن خشک اندام هوایی اثر اصلی تنش، کود روی و اثر متقابل تنش و کود روی، تنش و متیل جاسمونات و اثر متقابل کود روی و متیل جاسمونات در سطح احتمال یک درصد بر وزن خشک معنی‌دار گردید (جدول ۲). بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و کود روی بر وزن خشک اندام هوایی بین تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. در شرایط بدون تنش و تنش متوسط خشکی، محلول‌پاشی روی باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی در مقایسه با شاهد شد. این افزایش برای غلظت یک در هزار روی معنی‌دار بود به‌طوری‌که محلول‌پاشی روی با غلظت یک در هزار وزن خشک اندام هوایی را در شرایط بدون تنش و تنش متوسط در مقایسه با شاهد به ترتیب به میزان ۱۲/۶ و ۱۸/۹ درصد شد. غلظت ۲ در هزار روی نتوانست باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک در مقایسه با شاهد در شرایط تنش خشکی شود. بر این اساس بیشترین وزن خشک اندام هوایی (۱۴/۶۲ گرم در گلدان) به تیمار برهمکنش تنش متوسط و محلول‌پاشی یک در هزار روی و کمترین (۱۰/۸۲ گرم در گلدان) وزن خشک به تیمار تنش شدید و محلول‌پاشی یک در هزار روی تعلق داشت (جدول ۴). این نتایج نشان داد که هرچند آنزیم کاتالاز تحت تأثیر تیمارهای روی قرار نگرفت اما محلول‌پاشی با غلظت پایین روی از طریق افزایش بیوسنتز کلروفیل، کارتنوئید، آنتوسیانین و قند محلول (جدول ۴) باعث افزایش تحمل گیاه مرزنجوش و درنتیجه بهبود شرایط رشدی این گیاه در شرایط تنش خشکی شد. عنصر روی در غلظت‌های کم سبب تحریک رشد گیاه می‌شود، ارتباط میان افزایش شاخص‌های رشد گیاه ازجمله وزن خشک اندام هوایی با غلظت فلز روی را می‌توان به نقش این

فلز در بیوسنتز اکسین به‌عنوان یک هورمون محرک رشد در گیاه نسبت داد. تأثیر مثبت روی بر عملکرد ماده خشک ممکن است به دلیل افزایش بیوسنتز اکسین، افزایش غلظت کلروفیل، افزایش فعالیت فسفواینول پیروات کربوکسیلاز و ریبلوز بی فسفات کربوکسیلاز، کاهش تجمع سدیم در بافت‌های گیاهی و افزایش کارایی جذب نیتروژن و فسفر در حضور عنصر روی باشد (Ravi et al., 2008; Zare Dehabadi and Asrar, 2009; Sperdouli and Moustakas, 2012; Song et al., 2015).

درصد اسانس

بر اساس جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) اثر اصلی کود روی و اثر متقابل تنش و کود روی بر میزان درصد اسانس در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد کاربرد روی در شرایط تنش تأثیر معنی‌داری بر تغییرات درصد اسانس مرزنجوش نداشت؛ اما در شرایط بدون تنش کاربرد غلظت یک در هزار محلول روی باعث افزایش معنی‌دار درصد اسانس در مقایسه با شرایط عدم کاربرد روی و محلول‌پاشی محلول ۳ در هزار روی گردید به‌طوری‌که بیشترین میزان اسانس (۱/۴۲٪) مربوط به تیمار برهمکنش آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی با محلول‌پاشی یک در هزار کود روی و کمترین میزان (۰/۶۳٪) مربوط به برهمکنش آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی با محلول‌پاشی سه در هزار کود روی بود (جدول ۴). از طرف دیگر سطوح بالای روی باعث کاهش درصد اسانس مرزنجوش در شرایط تنش خشکی گردید. بنا بر نظر پانکا (Panka, 1978) عموماً تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان در شرایط محیطی خشک افزایش می‌یابد. به‌طورکلی گزارش‌های موجود در زمینه اثر تنش خشکی بر میزان اسانس، در گونه‌های گیاهی مختلف تا حدودی متفاوت است. همیشه با بالا رفتن میزان تنش، درصد اسانس نمی‌تواند افزایش یابد چراکه در تنش‌های شدید، گیاه بیشترین مواد فتوسنتزی خود را صرف تولید ترکیبات تنظیم‌کننده‌های اسمزی ازجمله پرولین، گلیسین -بتائین و ترکیبات قندی همانند ساکاروز، فروکتوز و فروکتان می‌کند که بتواند شرایط لازم برای ادامه حیات خود در این شرایط را فراهم کند. این ترکیبات برای گیاه هزینه‌بر بوده و در برخی مواقع گیاه این هزینه را به بهای کاهش عملکرد جبران می‌کند (Munns, 1993). رفعت و صالح (Refaat and Saleh, 1997) گزارش نمودند که تنش خشکی سبب افزایش میزان اسانس در ریحان می‌شود همچنین زهتاب سلماسی و همکاران (Zehtab Salmasi et al., 2001). گزارش کردند که تنش آبی سبب افزایش درصد اسانس در گیاهان آنیسون می‌گردد. تراکم غده‌های مترشحه‌ی اسانس در اثر کاهش سطح برگ در شرایط تنش خشکی به‌عنوان دلیلی برای تجمع بیشتر اسانس در گیاهان ریحان و نعناع ذکرشده است.

بر اساس تحقیقات به‌عمل‌آمده محلول‌پاشی سه در هزار کود روی در شرایط بدون تنش و تنش متوسط موجب کاهش اسانس و در شرایط تنش شدید موجب افزایش اسانس گردید. پژوهش‌های گرتوسکی و همکاران (Grejtovsky, 2006) روی بابونه نشان داد که کاربرد خاکی روی (با مقادیر ۵۰،۱۰۰ و ۱۵۰ ملی گرم بر کیلوگرم) تا میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش عملکرد اسانس و نیز تغییرهای مثبت در اجزا اسانس می‌شود، اما در مقادیر بیشتر روی این روند معکوس می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که ویژگی‌های فیزیولوژیک مرزنجوش مانند بیشتر گیاهان تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد. به‌طوری‌که با افزایش تنش از میزان کلروفیل کاسته می‌شود ولی میزان قند محلول، کاروتنوئید و آنزیم کاتالاز افزایش می‌یابد که این موضوع نوعی سازگاری گیاه به شرایط تنش محسوب می‌شود. از طرف دیگر کاربرد روی به‌ویژه غلظت یک در هزار در شرایط تنش خشکی باعث بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک مرزنجوش گردید. هرچند در این آزمایش آنزیم کاتالاز تحت تأثیر تیمارهای روی قرار نگرفت اما محلول‌پاشی با غلظت پایین روی از طریق افزایش بیوسنتز کلروفیل، کارتنوئید، آنتوسیانین و قند محلول باعث افزایش تحمل گیاه مرزنجوش و درنتیجه بهبود شرایط رشدی و میزان تولید اسانس این گیاه در شرایط تنش خشکی شد.

منابع

Baatour, O., Kaddour, R., Mahmoudi, H., Tarchoun, I, Bettaieb I., Nasri, N., Mrah, S., Hamdaoui, G., Lachaâl, M., Marzouk, B., 2011. Salt effects on *Origanum majorana*

fatty acids and essential oils composition. Journal of the Science of Food and Agriculture. 10, 1002-4495.

Bahreininejad, B., Razmjoo, J., Mirza, M., 2013. Influence of drought stress on morpho-physiological traits in *Thymus daenensis*. International Journal of Plant Production. 7(1), 151-166.

Bohnert, K.H., Nelson, D. E., Jensen, R.G., 1995. Adaptations to environment stresses. The Plant and Cell. 7, 1099-1111.

Cakmak, I., 2000. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. New Phytologist 146, 185-205.

Candan, N., Tarhan, L., 2003. Changes in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn-stressed *Mentha pulegium*. Turkish Journal of Chemistry. 27, 21-30.

Charles, D.J., Simon, J. E., 1990. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. Journal of the American Society for Horticultural Science. 115(3), 458-462.

Choudhury, R.P., Kumar, A., Gary, A. N., 2006. Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behavior, pharmaceutical and biochemical analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 41(3), 825-32.

Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M., Inze, D., Van Breusegem, F., 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. Cellular and Molecular Life Sciences. 57, 779–795.

Dazy, M., Jung, V., Ferard, J., Masfaraud, J., 2008. Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil: Role of plant antioxidant enzymes and possible implication in site restoration. Chemosphere. 74, 57-63.

Delaney, A.J., Hu, C. A.A., Kishor, K.P.B., Verma, D.P.S., 1993. Cloning ornithine-aminotransferase cDNA from Vigna anconitifolia by trans-complementation in Escherichia coil and regulation of proline biosynthesis. Journal of Biological Chemistry. 268, 18673-18678.

El-Tayeb, M.A., Ahmed, N.L., 2010. Response of wheat cultivars to drought and salicylic acid. American-Eurasian Journal of Agronomy. 3(1), 01-07.

Ghanati, F., Bakhtiyarian, S., Abdolmaleki, P., 2010. Effects of methyl jasmonate on the secondary metabolites of *Calendula officinalis* L. Biotechnology (Tarbiat Modares University). 1(1), 20-30. [In Persian with English Summary].

Ghani dehkordi, F., Ghasemi Pirbaloti, A., Hamidi, B., Malekpoor, F., 2011. Effect of different level water and nitrogen on morphological and physiological traits of *Matricaria aurea L.* Journal of Herbal Drugs. 2, 101 -111.

Ghorbanli, M. Bakhshi Khaniki, G, Salimi Elizei, S., Hedayati, M., 2010. Effect of water deficit and its interaction with ascorbate on proline, soluble sugars, catalase and glutathione peroxidase amounts in *Nigella sativa* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 26(4), 466-476. [In Persian with English Summary].

Ghorbanli, M. Bakhshi Khaniki, G., Zakeri, A., 2012. Investigation on the effects of drought stress on antioxidant compounds of *Linum usitatissimum* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 27(4), 647-658. [In Persian with English Summary].

Grejtovsky A, Markusova K., Eliasova, A., 2006. The response of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) plants to soil zinc supply. Plant, Soil and Environment. 52, 1–7.

Hasani, A., 2006. Effects of water dificit stress on growth, yield and essential oil content of *Dracocephalum moldavica*. Iranian. Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 22(3), 256-261. [In Persian with English Summary].

Hasani, A., Omidbaigi, R., 2002. The effect of drought stress on morphological characteristics, physiological metabolites basil. Journal of Knowledge Agricultural. 12(3), 47-59. [In Persian with English Summary].

Inze, D., Montagu, M. V., 2000. Oxidative stress in plants. TJ International Ltd, Padstow, Cornawall. Great Britain. 321 pp.

Jafarzadeh L., Omidi H., Bostani A.A., 2014. The study of drought stress and bio fertilizer of nitrogen on some biochemical traits of Marigold medicinal plant (*Calendula officinalis L.*). Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 27 (2), 180-193. [In Persian with English Summary].

Jiang, Y., Huang, N., 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science. 41, 436-442.

Kafi, M., Mahdavi Damghani, A., 2000. Mechanisms of environmental stress Resistance in Plants. University of Ferdowsi Mashhad Press. 472p. [In Persian]

Khalid, K.A., 2006. Influence of drought stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (*Ocimum sp*.). International Agrophysics. 20, 289-296.

Lotfi, M., Abbaszadeh, B., Mirza, M., 2014. The effect of drought stress on morphology, proline content and soluble carbohydrates of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 30(1), 19-29. [In Persian with English Summary].

Malakouti, M. J., Moshiri, F., Ghaibi, M. N., Molavi, S., 2005. Optimum Levels of Some Nutrients in Soils and Some Agronomic and Horticultural Crops. Sana Publication. Tehran. 22p. [In Persian].

Mihalovic, N., Lazarevic, M., Dzeletoric, Z., Vuckoric, M., Durde, Vic. M., 1997. Chlorophyllase activity in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves during drought and its dependence on the nitrogen ion from applied. Plant Science. 129, 141- 146.

Misra, A. 1992. Effect of zinc stress in Japanese mint as related to growth, photosynthesis, chlorophyll content and secondary plant products-the monoterpenes. Photosynthitica. 26, 2225-2234.

Movahhedi Dehnavi, M. 2004. Effect of foliar application of micronutrients (zinc and manganese) on the quantitative and qualitative yield of different autumn safflower cultivars under drought stress in Isfahan. PhD thesis. Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran. [In Persian with English Summary].

Munns, R., 1993. Physiological process limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. Plant, Cell and Environment. 16, 15-24.

Munns, R. 2002. Comparative Physiology of Salt and Drought stress. Plant Cell and Environment. 25, 239-250.

Omidbaigi, R., 2005. Production and Processing of Medicinal Plants. Astan Quds Publication, Mashhad, Iran. 347p. [In Persian].

Pagter M., Bragato C., Brix, H., 2005. Tolerance and physiological responses of Phragmites australis to water deficit. Aquatic Botany. 81, 285-299.

Parida, A.K., Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety. 60, 324-349.

Prasad, T.K., 2003. Mechanisms of chilling-induced oxidative stress injury and tolerance in developing maize seedlings: changes in antioxidant system, oxidation of proteins and lipids, and protease activities. The Plant Journal. 10, 1017–1026.

Penka, M., 1978. Influence of irrigation on the contents of effective substances in officinal plants. Acta Horticulture. 73,181-198.

Rassam, G. Dadkhah, A., Khoshnood Yazdi, A., 2014. Evaluation of water deficit on morphological and physiological traits of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). Journal of Agronomy Sciences. 5(10), 1-12.

Ravi, S., Channal, H. T., Hebsur, N. S., Patil, B. N., Dharmatti, P. R., 2008. Effect of sulphur, zinc and iron nutrition on growth, yield, nutrient uptake and quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L). Karnataka Journal of Agricultural Science. 32, 382-385.

Refaat, A. M., Saleh, M. M., 1997. The combined effect of irrigation intervals and foliar nutrition on sweet basil plants. Bulletin of Faculty of Agriculture University of Cairo. 48, 515-527.

Rezai, H., Ghorbanli, M., 2012. Effect of drought stress and its interaction with ascorbic acid on the photosynthetic pigments in plant Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica L*). Abstracts of the NCNPMP. National Conference of Natural Products and Medicinal Plants. Birjand, Iran. 27-28 September. [In Persian].

Rion, B., Alloway, J., 2004. Fundamental aspects of Zinc in soils and plants. International Zinc Association Publisher, Paris, France, 128 p.

Safikhani, F., Heydarye Sharifabadi, H., Syadat, A., Sharifi ashorabadi, A., Syednedjad, M., Abbaszadeh, B., 2007. The effect of drought on yield and morphologic characteristics of

Deracocephalum moldavica L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 23(2), 183-194. [In Persian with English Summary].

Said-Al Ahl H.A.H., Hussein M.S., 2010. Effect of drought stress and potassium humate on the productivity of oregano plant using saline and fresh water irrigation. Ozean Journal of Applied Sciences. 3,125-141.

Schutz, H., Fangmier, E., 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO2 and water limitation. Environmental Pollution. 114,187-194.

Smirnoff, N., 1998. Ascorbate biosynthesis and function in photoprotection. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences. 355, 1455–1464.

Song, W.Y., Zhang, Z.B., Shao, H.B., Guo, X.L., Cao, H.X., Zhao, H.B., Fu, Z.Y., and Hu, X.J., 2008. Relationship between calcium decoding elements and plant abiotic-stress resistance. International Journal of Biological Sciences. 4(2), 116-125.

Song, C.Z., Liu, M.Y., Meng, J.F., Chi, M., Xi, Z.M., Zhang, Z.W., 2015, Promoting effect of foliage sprayed zinc sulfate on accumulation of sugar and phenolics in berries of *Vitis vinifera* cv. Merlot growing on zinc deficient soil. Molecules. 20, 2536-2554.

Sperdouli, I., Moustakas, M., 2012. Interaction of proline, sugars, and anthocyanins during photosynthetic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to drought stress. Journal of Plant Physiology. 169, 577-585.

Tahkorpi, M., 2010. Anthocyanins under drought and droughtrelanted stresses in Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). Academic dissertation to be presented with the assent of the Faculty of Science of the University of Oulu.

Tewari, R.K., Kumar, P., Sharma, P.N., 2008. Morphology and physiology of zinc-stressed mulberry plants. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 171, 286-294.

Zare Dehabadi, S., Asrar, Z., Mehrabani, M., 2007. Effect of zinc on growth and some physiological and biochemical parameters of spearmint (*Mentha spicata* L.). Iranian Journal of Biology. 20(3), 230-241. [In Persian with English Summary].

Zare Dehabadi, S., Asrar, Z., 2009. Study on the effects of zinc stress on induction of oxidative stress and concentration of mineral element in spearmint (*Mentha spicata* L.). Iranian Journal of Biology. 22(2), 218-228. [In Persian with English Summary].

Zehtab- Salmasi, S., Javanshir, A., Omidbaigi, R., Alyari, H., Ghassemi-Golezani, K., 2001. Effects of water supply and sowing date on performance and essential oil production of anise (*Pimpinella anisum* L). Acta Agronomica Hungarica. 49, 75-81.