

اثر تنش شوری بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه داروئی بابونه

(Matricaria chamomilla)فاطمه راسخ^۱، وحید روشن^۲، آتوسا وزیری^{۱*} و بهمن خلد برین^۳^۱ ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، گروه زیست‌شناسی^۲ ایران، شیراز، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس^۳ ایران، شیراز، دانشگاه شیراز، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۸

چکیده

گیاه *Matricaria chamomilla* از گیاهان دارویی متعلق به خانواده کاسنی بوده که به دلیل داشتن ترکیبات دارویی خاص، نقش مهمی در درمان‌های طب سنتی دارا می‌باشند. شرایط شوری می‌تواند روی مواد موثره‌ی گیاهان اثرگذار باشد. در پژوهش حاضر کاشت بذر گونه *M. chamomilla* در محیط گلخانه صورت پذیرفت و به منظور بررسی اثر شوری بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، گیاهان ۱۴ هفته‌ای تحت تیمار سطوح مختلف شوری [صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر] قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تنش شوری منجر به افزایش محتوای پرولین و فعالیت پاد اکسیدانی در بابونه گردید. تنش شوری ملایم و شدید منجر به تغییر در نسبت ترکیبات اصلی اسانس و پلی‌فنل‌ها شد. مقدار و نوع ترکیبات تشکیل دهنده اسانس *M. chamomilla* با دستگاه GC و GC/MS تعیین و بر اساس نتایج کروماتوگرافی اسانس، مهمترین ترکیبات موجود در اسانس گیاه، α -Bisabolol oxide A (۷/۳۳ درصد تا ۱۲/۲۷ درصد)، Chamazulene (۱۶/۰۵ درصد تا ۳۰/۹۵ درصد) و En-in-dicycloether (۱۱/۵۲ درصد تا ۱۴/۸۹ درصد) گزارش گردید. مقدار و نوع ترکیبات پلی‌فنلی با دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد. بر اساس کروماتوگرام بدست آمده از آنالیز عصاره، مهمترین ترکیبات شامل کلروژنیک اسید، کافئیک اسید، کاتکین، سیناپیک اسید، هسپریدین، الگیک اسید، کوئرستین و ائوژنول بودند. به طور کلی نتایج نشان داد که تنش شوری باعث تغییرات تعداد، نوع و درصد ترکیبات اسانس گردید. نتایج آنالیز میانگین‌ها نشان داد تنش شوری منجر به افزایش غلظت پرولین گردیده است. تنش ملایم (۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) منجر به افزایش محتوای رنگیزه‌ها گردیده که این افزایش در سطح کمتر از ۰/۰۵ معنی دار می‌باشد. همچنین افزایش سطوح شوری منجر به افزایش معنی دار فعالیت پاد اکسیدانی (کاهش عددی) نسبت به گیاهان شاهد گردید. با بررسی اثر تنش شوری بر میزان ترکیبات پلی‌فنلی، مشخص گردید که در تمام گیاهان تحت تیمار مقدار پلی‌فنل‌های سیناپیک اسید و ائوژنول نسبت به سایر پلی‌فنل‌ها بیشتر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: *Matricaria chamomilla*، پاد اکسیدان، روغن‌های اسانسی، پرولین، پلی‌فنل

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۲۲۴۸۵۳۱۴، پست الکترونیکی: a_vaziri@pnu.ac.ir

مقدمه

شوری عامل مهمی است که تولید محصول را در بسیاری از مناطق جهان به مخاطره می‌اندازد. وسعت خاک‌های شور ایران حدود ۲۴ میلیون هکتار است که معادل ۱۵٪ از اراضی کشور را شامل می‌شود. امروزه با توجه به بحران آب جایگزین کردن گیاهان داروئی مقاوم به خشکی و شوری به جای گیاهان پر مصرف و حساس از اهمیت

ایفا می‌کند. تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش، به واسطه سنتز پرولین و غیر فعال شدن تخریب آن است. افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش باعث محافظت غشای سلولی، پروتئین‌ها، آنزیم‌های سیتوپلاسمی و مهار گونه‌های فعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد می‌گردد (۳۰) بنابراین از جمله پاسخ‌های گیاهان در برابر تنش های محیطی، افزایش سطح پرولین می‌باشد.

افزایش محتوای اکسیدان‌های غیر آنزیمی مانند ویتامین C، ویتامین E، کاروتنوئیدها، لیپوئیک اسید در حفاظت از گیاه بر علیه تنش‌های اکسیداتیو گزارش شده است (۳۵). پژوهش‌های انجام شده بر روی گیاهان *Achillea fragrantissima* (۶) و *Mentha spicata* (۸) نشان می‌دهد محتوای فنلها با افزایش تنش شوری افزایش یابد. در گیاه *M. chamomilla* تجمع اسیدهای فنلی مانند پروتوکاتکین اسید کلروژنیک و اسید کافئیک با زیاد شدن شوری افزایش می‌یابد (۲۰). در گیاه *Nigella sativa* تنش شوری بیوستز برخی ترکیبات فنلی ویژه از جمله کوئرستین، آپیزین و ترنس سینامیک اسید را افزایش می‌دهد (۱۷). با توجه به موارد ذکر شده در رابطه با اثرات شوری روی ترکیبات موثره گیاهی، پژوهش حاضر به منظور ارزیابی اثر تیمارهای مختلف شوری در چهار سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی بابونه انجام شد.

مواد و روشها

بذرهای بابونه از مرکز پاکان بذر اصفهان تهیه و پس از تایید توسط هرباریوم مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی در گلدان‌های پلاستیکی ۱۰ لیتری حاوی کود برگ، ماسه و خاک لومی - رسی به نسبت ۲:۲:۱ در اول آبان سال ۱۳۹۵ در گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی استان فارس (شیراز) کاشته و با آب مقطر آبیاری شدند. این گیاه عموماً علفی پایا بوده و پراکنش دانه کرده آنها از طریق حشرات و باد صورت می‌گیرد. بعد از سبز شدن بذور عمل

زیادی برخوردار است. کشت گیاهان مناسب در شرایط تنش یکی از مسائل مهم در تولید محصولات گیاهی محسوب می‌شود (۱). بابونه با نام علمی *Matricaria chamomilla* گیاهی از تیره کاسنیان می‌باشد که با توجه به کاربرد روز افزون آن در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی، عطرسازی و تهیه های غذایی از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است (۲). بیش از ۱۲۰ ماده شیمیایی در گل بابونه به عنوان های ثانویه شناسایی شده اند (۳۸ و ۳۷). به طور کلی نتایج متضادی در مورد تاثیر تنش شوری بر مقدار روغن‌های اسانسی گیاهان دارویی وجود دارد. براساس تحقیقات Ashraf و Orooj (۱۰) کاهش معنی داری در درصد روغن‌های اسانسی گیاه *Trachyspermum ammi* L. تحت تنش شوری مشاهده گردید. چنین تاثیر منفی تنش شوری بر مقدار روغن‌های اسانسی در گیاهان دیگر مانند *Mentha balsamea* L., *Mentha pulegium* و *Mentha suaveolens* Willd (۱۱) و *Thymus maroccanus* Ball (۱۶) نیز گزارش شده است. از طرفی، در گزارش‌هایی درصد های اسانسی گیاهان دارویی *Salvia officinalis* L. (۲۴) و *Thymus vulgaris* L. (۲۱) در تنش شوری ملایم (به ترتیب ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم شوری خاک) افزایش پیدا کرد. در گزارش دیگری درصد های اسانسی گیاه *Coriandrum sativum* در شوری ملایم افزایش ولی در سطوح شوری بالا کاهش یافت (۳۴). اجزای مهم روغن های اسانسی گیاه *Matricaria recutita* L. (آلفا بیسابولولوکسید، ترنس بتا فارنسن، کامازولن) تحت تنش شوری افزایش معنی دار نسبت به گیاهان شاهد نشان داد (۱۲). نشان داده شده است که تغییر در مقدار و درصد ترکیبات روغن های اسانسی در تنش‌های ملایم شوری به دلیل افزایش در تعداد مطلق غدد ترشح روغن‌های اسانسی می‌باشد (۴۰).

پرولین از دیگر تنظیم کننده‌های اسمزی تحت تنش‌های محیطی شوری و خشکی می‌باشد که در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی، همبستگی بالایی با تحمل به این تنش‌ها

کشور انگلستان) خوانده شد. از پرولین استاندارد جهت رسم نمودار غلظت‌های مختلف استفاده گردید و اعداد خوانده شده با استفاده از منحنی به میکرومول پرولین در گرم بافت تازه تبدیل گردید (۱۴).

استخراج عصاره و ارزیابی فعالیت پاد اکسایشی: بررسی خاصیت پاد اکسایشی عصاره گیاه به روش DPPH مورد سنجش قرار گرفت. برای تهیه عصاره متانولی، ۱۰ گرم پودر نمونه خشک شده را در ۲۰۰ میلی لیتر متانول ریخته پس از ۴۸ ساعت عصاره با استفاده از کاغذ صافی صاف و جهت حذف حلال، در دستگاه روتاری قرار داده شد.

۰/۰۰۶۴ گرم از عصاره ی گیاهی برداشته و ۱۰۰۰ میکرولیتر حلال متانول به آن اضافه کرده و غلظت ۶۴۰۰ میلی گرم بر لیتر را تهیه نمودیم. از این نمونه ۵۰۰ میکرولیتر برداشته و با ۵۰۰ میکرولیتر متانول ترکیب کرده و غلظت ۳۲۰۰ میلی گرم بر لیتر را آماده نموده و به همین ترتیب ادامه داده تا به غلظت ۶/۲۵ میلی گرم بر لیتر رسیدیم. سپس از هر غلظت ۲۰ میکرولیتر برداشته و با ۲۰۰ میکرولیتر DPPH ۴۰ میلی گرم بر لیتر مخلوط نموده و پس از قرار دادن آنها به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت و درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$100 - [(A) \text{ sample} - (A) \text{ blank}] \times 100 / (A) \text{ control}]$$

ضمن تعیین رابطه بین غلظت و میزان فعالیت پاد اکسایشی IC_{50} (غلظتی از ترکیب که باعث ۵۰٪ بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می شود) فعالیت پاد اکسایشی نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرو مول اسید گالیک بر گرم وزن خشک عصاره ($\mu\text{mol/g}$) محاسبه شد. بدیهی است که هر چه این عدد کوچکتر باشد قدرت پاد اکسایشی یا مهار رادیکال‌های آزاد، بیشتر می باشد (۱۸).

اندازه گیری کلروفیل: کلروفیل a و b و همچنین کلروفیل کل توسط روش Arnon (۹) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر و سپس قرار دادن در فرمول‌های زیر

تنک نشاء انجام شد به طوری که در هر گلدان ۴ تا ۶ نشاء مستقر گردید. در هفته چهاردهم، گیاهان موجود در گلدان‌های ۸ لیتری تحت تاثیر تنش شوری قرار گرفتند. برای این منظور ۴ سطح مختلف نمک کلرید سدیم (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر) تهیه و به صورت آب آبیاری به گلدان‌های مختلف داده شد. به منظور جلوگیری از تنش یکباره به گیاهان، مقادیر مختلف نمک به تدریج و در فاصله زمانی ۱۰ روز و در دو نوبت صبح و عصر داده شد. به منظور ثابت ماندن سطح شوری خاک‌ها در گلدان‌های مختلف، آبیاری‌های بعدی به مدت ۳ ماه تا زمان گلدهی کامل همچنان با آب مقطر انجام گرفت. اندازه‌گیری ویژگی‌های مورد نظر شامل درصد و نوع ترکیبات روغن‌های اسانسی اندام هوایی، کلروفیل a و b، پرولین و فعالیت پاد اکسایشی در مرحله گلدهی کامل با برداشت اندام هوایی گلدار گیاه صورت گرفت.

آنالیز آماری: آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد و برای آنالیز واریانس داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ی ۱۲ و برای مقایسه‌ی میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

سنجش پرولین: برای این منظور ۰/۵ گرم نمونه‌های تازه گیاهی ریز شد و درون ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ ریخته شد و به مدت ۲۸ ساعت به منظور هضم کامل در محیط آزمایشگاه قرار داده شد. سپس ۲ میلی لیتر از محلول به لوله آزمایش انتقال داده شد و ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک غلیظ اضافه گردید و به مدت ۱ ساعت درون حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد، سپس لوله‌ها درون یخ قرار داده شد و پس از سرد شدن محلول‌ها، ۴ میلی لیتر تولوئن به هر لوله اضافه گردید و به مدت ۳۰ - ۱۵ ثانیه توسط دستگاه Vortex بهم زده شد، سپس فاز روئی آن را برداشته و در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Biotek 808 محصول

امیلی لیتر بر دقیقه و حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر انتخاب گردید. فاز متحرک گرادیان شامل متانول و اسید فرمیک ۱٪ بود.

استخراج اسانس و بررسی اجزاء تشکیل‌دهنده آن: اسانس- گیری توسط روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر با ۳۰ گرم از گیاه بابونه انجام گرفت. اسانس‌گیری از زمان به جوش آمدن مایع درون بالن به مدت ۳ ساعت انجام و اسانس حاصل تا زمان استفاده، پس از آبیگری درون ظرف درب‌دار تیره رنگ ریخته و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. اسانس‌گیری سه بار تکرار شد و میانگین بازده اسانس به صورت درصد وزنی، بر اساس وزن خشک گیاه بدست آمد. تعیین عناصر تشکیل‌دهنده آن با استفاده از گاز کروماتوگرافی و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC, GC/MS)، مورد ارزیابی قرار گرفت.

دستگاه GC و GC/MS: دستگاه کروماتوگراف گازی Agilent technologies و مدل ۷۸۹۰A، ستون HP-5 (به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۳۲ میلی‌متر ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر)، برنامه‌ریزی دمایی ستون از ۶۰ تا ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای سه درجه سانتی‌گراد در دقیقه، نوع آشکارساز: FID با دمای ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل: نیتروژن با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه، دمای تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد.

گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی از نوع Agilent technologies و مدل ۵۹۷۵ A، ستون HP-MS5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ تا ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای سه درجه سانتی‌گراد در دقیقه، و ۲۱۰ تا ۲۴۰ با افزایش دمای بیست درجه سانتی‌گراد در دقیقه، دمای محفظه تزریق: ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد، انرژی یونیزاسیون: ۷۰ الکترون ولت، گاز حامل: هلیوم. شناسایی ترکیب‌های روغن‌های اسانسی با استفاده از نرمال آلکان‌ها و بررسی طیف‌های جرمی توسط کتابخانه Nist و

خوانده شد. یک دهم (۰/۱) گرم برگ گیاه را وزن کرده، درون بوته چینی ریخته و روی آن ازت مایع می‌ریزیم، پس از آن گیاه را پودر کرده و به مدت ۱۰ دقیقه درون استون ۸۰٪ گذاشته تا سبزینه آن خارج گردد، سپس شیشه فالكون‌های حاوی نمونه را به مدت ۱۰ ثانیه درون دستگاه ultrasonic cleaner قرار داده و هر کدام را به مدت ۱۰ ثانیه vortex کرده تا کاملاً مخلوط شود. سپس نمونه‌ها را به مدت ۱۰ دقیقه درون دستگاه بن‌ماری با دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده پس از آن صاف کردن نمونه‌ها با کاغذ صافی انجام شد، سپس در طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر توسط اسپکتوفتومتر خوانده شد.

Total Chl: $A \ 652 \times 27.8 \times V / \text{mg leaf weight}$

Chl a: $(11.75 \times A663 - 2.35 \ A645) \times V / \text{mg leaf weight}$

Chl b: $(18.61 \times A645 - 3.96 \ A663) \times V / \text{mg leaf weight}$

اندازه‌گیری پلی‌فنل: اندازه‌گیری پلی‌فنل‌ها توسط دستگاه HPLC و به روش Justesen و همکاران (۲۲) با تغییرات انجام شد. ابتدا ۰/۲ گرم از پودر خشک برگ را با حلال ۰/۸۵ متانول + ۰/۱۵ اسیداستیک مخلوط کرده سپس به حجم ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس درب میکروتیوپ زیر گاز ازت بسته شد و درون فویل ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری گردید. بعد از آن نمونه‌ها ۱۵ دقیقه در دستگاه ultrasonic cleaner قرار گرفت. سپس نمونه‌ها در سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای ۰ درجه و دور به مدت ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت. فاز رویی به میکروتیوپ انتقال داده و روی آن ان‌هگزان ریخته و به مدت چند ثانیه روی ورتکس قرار داده شد و دوباره به با همان شرایط سانتریفیوژ گردید. که ایجاد دو فاز می‌کند که فاز زیرین به دستگاه HPLC تزریق گردید. اندازه‌گیری میزان پلی‌فنول‌ها از دستگاه HPLC به مدل سری ۱۲۰۰ از شرکت Agilent، ستون C₁₈ سانتی‌متر ۴/۶×۱۵ و قطر ذرات ۵ میکرومتر، دکتور (Diode Array Detector) DAD در طول موج‌های ۳۲۰ و ۲۸۰ نانومتر و دمای آون ۳۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. برنامه شویس گرادیان، با سرعت شویس

Adams و Willy دستگاه GC/MS.

نتایج مربوط به اثر سطوح مختلف شوری بر مقدار و نوع ترکیبات تشکیل دهنده روغن‌های اسانسی در گیاه *Matricaria chamomilla* در جدول ۲ مشاهده می‌شود.

در روغن‌های اسانسی گیاه شاهد، ۳۱ ترکیب دارویی مختلف ۹۹/۸۵ درصد از کل ترکیبات روغن‌های اسانسی را تشکیل می‌دهند.

نتایج

اثر تنش شوری بر کمیت و کیفیت اسانس: نتایج نشان داد که شوری بر روی ویژگی‌های ارزیابی شده فیزیولوژیک مورد بررسی اثر معنی‌داری داشته است (جدول ۱).

جدول ۱- میانگین مربعات و سطح معنی‌داری تاثیر سطوح مختلف شوری بر صفات مورد بررسی

منابع تغییر	درجه آزادی	پرولین	کلرفیل a	کلرفیل b	آنتی‌اکسیدان
شوری	۳	**۰/۰۰۳ ۵۴۸/۲۷۶۰	*۰/۰۴۸ ۰/۰۱۳	۰/۰۴۳** ۰/۲۲۲	**۰/۰۰۰ ۳۱۷۹۳۳/۸
خطای آزمایش	۸	۴۶/۵۸۳	۰/۰۰۳	۰/۰۵۱	۲۰۹/۲
ضرب تغییر (%) =		۶/۸۸	۱۰/۵۸	۱۶/۳۰	۱/۸۰

معنی‌داری در سطح یک درصد* معنی‌دار در سطح ۵ درصد

α -Bisabolone oxide A در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده می‌شود این ترکیب از ۷/۸۲ درصد در شاهد به ۱۲/۲۷ درصد در بالاترین میزان شوری افزایش پیدا کرده است. تیمارهای تنش شوری بر تعداد ترکیبات اسانس نیز اثر گذاشت. با افزایش تنش شوری تعداد ترکیبات روغن‌های اسانسی کاهش یافت ولی ترکیبات بالای ۲ درصد اسانس در سطح شوری مختلف تغییر کمتری نشان دادند. به نظر می‌رسد با افزایش تنش شوری گیاه به سمت القا ترکیبات عمده خاص پیش می‌رود. در رابطه با درصد روغن‌های اسانسی، مقایسه میانگین‌ها نشان داد که سطح شوری ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به طور معنی‌داری باعث افزایش درصد اسانس شده است. همچنین سطوح ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نیز به طور معنی‌داری نسبت به شاهد باعث افزایش میزان اسانس شده است (نمودار ۱).

اثر تنش شوری بر محتوای پرولین: نتایج آنالیز میانگین‌ها نشان داد تنش شوری منجر به افزایش غلظت پرولین گردیده است. سطوح شوری ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مقدار تجمع پرولین را در بافت رویشی به طور معنی‌داری نسبت به شاهد و تا حدود سه برابر نسبت به گیاه شاهد افزایش

در بین ترکیبات تریپنی تشکیل دهنده روغن اسانسی *M. chamomilla* در گیاه شاهد، α -Bisabolol oxide A، Chamazulene (۴۳/۷۸٪)، En-in-dicycloether (۱۴/۸۹٪) بیشترین ترکیبات را تشکیل داده اند. نتایج برای سه ترکیب فوق در سطوح مختلف شوری نشان می‌دهد که با افزایش تنش شوری α -Bisabolol oxide A در تیمار ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به شاهد کاهش نشان داده و در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین مقدار این ترکیب مشاهده گردید (جدول ۲). نتایج نشان داد که در تیمارهای مختلف شوری میزان Chamazulene که یکی از ترکیبات مهم بابونه می‌باشد، بین تیمارهای مختلف متفاوت بود، به طوری که در تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین سطح این ترکیب و در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر کمترین مقدار آن مشاهده شد. ترکیب En-in-dicycloether در تیمارهای ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نمک نسبت به شاهد کاهش نشان داد. همچنین بیشترین مقدار آن در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. ترکیب α -Bisabolol oxide B در اثر تمام سطوح شوری افزایش پیدا کرد که از ۳/۳۴ درصد در شاهد به ۷/۹۵ درصد در ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و ۶/۸۶ درصد در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش پیدا کرد. بیشترین افزایش در مقدار

داده است. همچنین مقدار تجمع پرولین، در سطوح شوری ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به طور معنی‌داری و تا بیش از دو برابر نسبت به شاهد افزایش داده است.

جدول ۲- ترکیبات موجود در اسانس برگ گیاه بابونه تحت تنش شوری

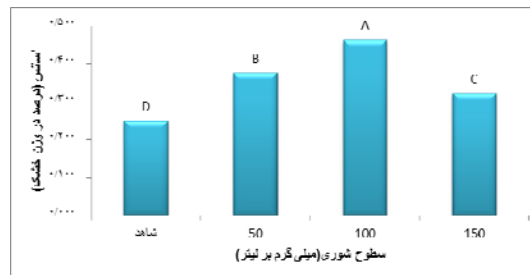
ردیف	ترکیبات (درصد)	اندیس باز داری	شاهد	شوری ۵۰	شوری ۱۰۰	شوری ۱۵۰
۱	a-Thujene	۹۲۷	t	-	t	-
۲	Yomogi alcohol	۹۹۹	t	t	t	-
۳	α -Terpinene	۱۰۱۷	t	-	-	-
۴	p-cymene	۱۰۲۴	t	-	-	-
۵	Limonene	۱۰۲۸	-	-	۰/۱۷	-
۶	1,8-cineole	۱۰۳۲	۰/۱۴	t	۰/۱۵	t
۷	(Z)-B-ocimene	۱۰۳۵	t	-	۰/۱۲	-
۸	(E) - B-ocimene	۱۰۴۲	۰/۴	t	۰/۷	۰/۲۴
۹	γ -Terpinene	۱۰۵۸	۰/۲	-	۰/۲۹	۰/۱۵
۱۰	Artemisia ketone	۱۰۵۹	۰/۹۴	۰/۱۷	۰/۹۳	۰/۷۹
۱۱	Artemisia alcohol	۱۰۸۲	۰/۲۵	۰/۱۳	۰/۲۲	۰/۱۱
۱۲	Terpinene-4-ol	۱۱۷۸	t	-	-	-
۱۳	α -Terpineol	۱۱۹۱	t	-	-	-
۱۴	Linalyl formate	۱۲۱۸	۰/۱۲	-	-	t
۱۵	(E) -Caryophyllene	۱۴۱۹	۰/۱۳	۰/۱۶	۰/۲۱	۰/۲۳
۱۶	Aromadendrene	۱۴۳۹	۰/۱۵	۰/۲۷	۰/۳۴	۰/۲۸
۱۷	(E) -B-Farnesene	۱۴۵۶	۵/۱۷	۵/۶۳	۴/۹۴	۴/۰۴
۱۸	γ -Muurolene	۱۴۷۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۸	-
۱۹	γ -Curcumene	۱۴۸۱	۰/۷۴	۰/۵۹	-	-
۲۰	β -selinene	۱۴۸۶	t	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۱۶
۲۱	Viridiflorene	۱۴۹۵	۰/۵۶	۰/۷۹	۰/۶	۰/۵۶
۲۲	(E,E) - α -Farnesene	۱۵۰۴	۰/۲۵	۰/۳۳	-	۰/۳
۲۳	γ -Cadinene	۱۵۱۳	۰/۱۳	۰/۲۲	۰/۲۷	۰/۲۴
۲۴	δ -Cadinene	۱۵۲۲	۰/۲۴	۰/۳۲	۰/۴۳	۰/۴۱
۲۵	α -Cadinene	۱۵۳۶	-	t	t	t
۲۶	(E) -Nerolidol	۱۵۶۱	۰/۲۵	۰/۴۵	۰/۵۳	۰/۳۳
۲۷	Spathulenol	۱۵۷۸	۰/۳۳	۰/۴۶	۰/۴۲	۰/۴۷
۲۸	Caryophyllene oxide	۱۵۸۴	t	t	-	t
۲۹	α -Bisabolol oxide B	۱۶۵۸	۳/۳۴	۷/۹۵	۵/۳	۶/۸۶
۳۰	α -Bisabolone oxide A	۱۶۸۵	۷/۸۲	۷/۳۳	۱۱/۵۴	۱۲/۲۷
۳۱	Chamazulene	۱۷۳۲	۱۸/۶۴	۲۳/۷۷	۱۶/۰۵	۳۰/۹۵
۳۲	α - Bisabolol oxide A	۱۷۴۹	۴۳/۷۸	۳۸/۰۹	۴۴/۰۹	۳۷/۶۸
۳۳	En-in-dicycloether	۱۸۷۳	۱۴/۸۹	۱۱/۹۲	۱۱/۵۲	۱۴/۲۲

t: کمتر از یک دهم

مورد ارزیابی قرار گرفت. از این ۱۶ پلی‌فنل، ۸ ترکیب در هیچ یک از تیمارها مشاهده نشد و بر اساس نتایج حاصل، پلی‌فنل‌های کلروژنیک اسید، کافئیک اسید، کاتیکین، سیناپیک اسید، هسپریدین، الاژیک اسید، کوئرستین و ائوژنول در عصاره گیاه بابونه شناسایی شدند. بیشترین میزان کلروژنیک اسید، کافئیک اسید و کاتیکین در تیمار سطوح شوری ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. مقدار پلی‌فنل‌های الاژیک اسید و سیناپیک اسید در شوری ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، نسبت به سایر تیمارهای شوری بالاتر بود. با توجه به نتایج آنالیز میزان کوئرستین و ائوژنول نیز در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سایر تیمارها بیشتر بودند. به طور کلی در تمام گیاهان تحت تیمار مقدار پلی‌فنل‌های سیناپیک اسید و ائوژنول نسبت به سایر پلی‌فنل‌ها بیشتر بود (جدول ۴).

بحث

در پژوهش حاضر اثر تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل a و b در سطوح شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر گردید. این با نتایج برخی پژوهشگران که نشان دادند که تنش شوری باعث کاهش مقدار رنگیزه‌های کلروفیل a و b در گیاهان آفتابگردان (۷) و گندم نان شده است (۳۶) مطابقت دارد. افزایش سطوح شوری میزان کلروفیل a، b را در گیاهان *Thymus vulgaris*، *Teucrium polium*، *Ziziphora clinopodioides*، *Zataria multiflora* (۲۸) و *Satureja hortensis* (۳۲) کاهش داده است.



نمودار ۱- اثر سطوح مختلف شوری بر محتوای اسانس گیاه بابونه * میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف یکسانی می‌باشند، در سطح احتمال ۵٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

اثر تنش شوری بر کلرفیل (a و b): نتایج حاصل از آنالیز آماری میانگین‌ها در هر دو رنگیزه کلروفیل a، b نشان داد تنش ملایم (۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) منجر به افزایش محتوای رنگیزه‌ها گردیده که این افزایش در سطح کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار می‌باشد. با افزایش تنش شوری کاهش در مقدار هر سه نوع رنگیزه مشاهده شد.

اثر تنش شوری بر فعالیت پاد اکسایشی: فعالیت پاد اکسایشی گیاه *M. chamomilla* به وسیله اثر عصاره برگ بر خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت. افزایش سطوح شوری منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت پاد اکسایشی (کاهش عددی) نسبت به گیاهان شاهد گردید (جدول ۳). عصاره برگ بابونه بیشترین فعالیت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد DPPH را به ترتیب در شوری ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نشان داد.

اثر تنش شوری بر میزان ترکیبات پلی‌فنلی ۱۶ پلی‌فنل عمومی با تزریق استاندارد از شرکت سیگما و عصاره گیاه

جدول ۳- مقایسه میانگین پرولین، کلروفیل a و b در سطوح مختلف شوری

شوری (میلی‌گرم بر لیتر)	فعالیت پاد اکسایشی IC ₅₀ (μg ml ⁻¹) ⁺⁻	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) ⁺⁻	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) ⁺⁻	پرولین (μgr g ⁻¹ FW) ⁺⁻
شاهد	۲۳۰۹/۱۳ ^a	۰/۵۶۰ ^a	۱/۱۷۷ ^{ab}	۸۴/۱۸ ^{b*}
۵۰	۱۷۰۶/۶۰ ^c	۰/۶۳۳ ^a	۱/۳۹ ^a	۹۱/۶۶ ^b
۱۰۰	۱۵۸۴/۷ ^d	۰/۵۳۳ ^b	۰/۸۴۰ ^b	۱۱۲/۸۶ ^a
۱۵۰	۲۰۱۷/۵۱ ^b	۰/۵۴۷ ^b	۰/۸۳۳ ^b	۱۰۸/۱۰ ^a

* میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف یکسانی می‌باشند، در سطح احتمال ۵٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

جدول ۴- میزان و نوع ترکیبات پلی‌فنل در عصاره متانولی بابونه

شوری (میلی‌گرم بر لیتر)	فعالیت پاد اکسایشی IC ₅₀ (μg ml ⁻¹) [±]	کروفیل a (میلی‌گرم برگرم وزن تر) [±]	کروفیل b (میلی‌گرم برگرم وزن تر) [±]	پرولین (μg g ⁻¹ FW) [±]
شاهد	۲۳۰۹/۱۳ ^a	۰/۵۶۰ ^a	۱/۱۷۷ ^{ab}	۸۴/۱۸ ^{b*}
۵۰	۱۷۰۶/۶۰ ^c	۰/۶۳۳ ^a	۱/۳۹ ^a	۹۱/۶۶ ^b
۱۰۰	۱۵۸۴/۷ ^d	۰/۵۳۳ ^b	۰/۸۴۰ ^b	۱۱۲/۸۶ ^a
۱۵۰	۲۰۱۷/۵۱ ^b	۰/۵۴۷ ^b	۰/۸۳۳ ^b	۱۰۸/۱۰ ^a

ROS ها گروهی از رادیکال‌های آزاد، مولکول‌های واکنش دهنده و یون‌های مشتق شده از مولکول اکسیژن می‌باشند (۴۳) که تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری، سرما، سمیت فلزات، اشعه فرابنفش و پاتوژن‌ها به دلیل از بین بردن شرایط همئوستازی سلول منجر به افزایش تولید آن-ها خواهند شد (۴۲). افزایش مقدار تجمع رادیکال‌های آزاد تحت شرایط تنش شوری می‌تواند به دلیل بسته شدن روزنه‌ها، کاهش مقدار CO₂ قابل دسترس توسط گیاه، کاهش تثبیت دی اکسید کربن در چرخه کلون و در نهایت افزایش سطوح احیایی کلروپلاست باشد (۲۵). در پژوهش حاضر مقدار پاد اکسیدان کل به عنوان یکی از شاخص‌های میزان تحمل سلول در برابر رادیکال‌های آزاد اندازه‌گیری شد. با افزایش تنش میزان ترکیبات پاد اکسیدانی و مهار کننده رادیکال‌های آزاد افزایش یافت. نتایج مشابه با پژوهش حاضر توسط Kibria و همکاران در سال ۲۰۱۷ با مطالعه اثر تنش شوری بر ژنوتیپ‌های متفاوت برنج به دست آمده است (۲۶).

در آغاز و ادامه تنش شوری فرآیندهای مهم سلولی از جمله فتوسنتز، سنتز پروتئین، متابولیسم چربی‌ها، انرژی و غیره تحت تاثیر قرار می‌گیرند. به منظور مقابله با اثرات زیانبار تنش، تقلیل اثرات مخرب و برقراری مجدد همئوستازی سلولی، گیاهان همواره استراتژی‌های مختلفی در سطح سلولی و کل گیاه به کار می‌برند. با توجه به اهمیت تولید گیاهان دارویی، شناسایی نوع پاسخ و یا

کاهش در غلظت کلروفیل گیاهان تحت تنش می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده کلروفیل مانند کلروفیلاز و یا کاهش بیوسنتز کلروفیل به دلیل کاهش پیش ساز بیوسنتز کلروفیل (گلوتامات و ۵ آمینو لوولنیک اسید) در شرایط تنش بوده که نشان دهنده اثر مخرب شوری بر بیوسنتز کلروفیل نسبت به تجزیه آن می‌باشد (۳۹). همچنین کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش مربوط به افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن در سلول می‌باشد. این رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه می‌شوند و با کاهش میزان کلروفیل تغییرات زیادی در مقدار تولید در گیاهان به وجود می‌آید. بنابراین کاهش مقدار کلروفیل مشاهده شده در این تحقیق احتمالاً می‌تواند به دلیل اختلال در جذب عناصر غذایی، افزایش تخریب اکسیداتیو کلروفیل و یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز تحت شرایط تنش باشد (۳).

در پژوهش حاضر افزایش سنتز ترکیبات فنلی، ترپنئیدی و افزایش قدرت پاد اکسایشی کل در سطوح شوری بالاتر می‌تواند از دلایل بقای گیاهان فوق‌علیرغم کاهش در مقدار فتوسنتز در این سطوح شوری باشد.

در بسیاری از گونه‌های گیاهان، کاربرد NaCl، حتی در غلظت‌های پایین منجر به تحریک افزایش فعالیت سیستم‌های پاد اکسیدانی گیاه می‌گردد که نشان دهنده نقش تنش شوری در تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد محتوای اسانس در شوری ملایم و شدید الگوی متفاوتی داشته و شوری ملایم (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و متوسط (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) باعث افزایش در مقدار کل روغن‌های اسانسی شده است (نمودار ۱). در بین ترکیبات ترپنی تشکیل دهنده اسانس *M.chamomilla* در گیاهان شاهد α - Bisabolol oxide A، Chamazulene و En-in-dicycloether بیشترین ترکیبات را تشکیل داده اند. بیشترین افزایش در مقدار α -Bisabolone oxide A در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده می‌شود هم‌چنین به نظر می‌رسد که تیمار شوری بر تعداد ترکیبات اثر گذاشته و با افزایش شوری تعداد آن‌ها کاهش می‌یابد. این نتایج با گزارش‌های متعددی مبنی بر افزایش مقدار اسانس کل و تغییر در ترکیبات موجود در اسانس در گیاهان دارویی *Salvia officinalis*. (۲۴) و *Satureja hortensis* L. (۱۳)، *Thymus vulgaris* (۲۱) مطابقت دارد. ولی با نتایج گزارش‌های دیگری در رابطه با اسانس گیاهان *Trachyspermum ammi* (۱۰)، *Mentha piperita* L (۱۱) و *Thymus maroccanus* (۱۶) که با افزایش شوری درصد اسانس کاهش پیدا کرد مطابقت ندارد. افزایش دو برابری ترکیب کامازولن در شوری ۱۵۰ میلی‌مول بر لیتر شوری، با اکثر تحقیقات انجام شده مطابقت دارد (جدول ۲). در تحقیقی اجزای مهم اسانس‌های گیاه *Matricaria recutita* (آلفا بیسابولول اکسید، ترنس بتا فارنسن، کامازولن) تحت تنش شوری افزایش معنی داری نسبت به گیاهان شاهد نشان داد (۱۲). تنوع در پاسخ دهی گیاهان مختلف به ستنز ترکیب خاص در اسانس می‌تواند به دلیل القای آنزیم‌های خاص در گیاه در بیوسنتز ترپنوئیدها در هر مرحله از تنش شوری باشد.

بیوسنتز ترکیبات مشتق شده از مسیر فنیل پروپانوئید در طی تنش‌های محیطی یکی از راهکارهای تکاملی گیاهان برای مقابله با شرایط تنش زا تلقی می‌شود. فلاونوئیدها، فنولیک اسیدها، تانن‌ها، فنولیک دی‌ترپن‌ها و لیگنین

مکانیسم‌هایی که این گیاهان در تحمل و اجتناب از شرایط تنش‌زا به کار می‌گیرند، به منظور به‌نژادی و یا حداکثر تولید ترکیبات دارویی در این شرایط، ضروری به نظر می‌رسد. یکی از مهمترین پاسخ‌هایی که گیاهان قرار گرفته در معرض تنش شوری به منظور سازگاری با تنش اسمزی ایجاد شده نشان می‌دهند برقراری تعادل اسمزی در سلول باشد (۳۱). تجمع اسید آمینه پرولین در طول تنش شوری به عنوان یکی از تنظیم کننده‌های تعادل اسمزی محسوب می‌شود. علاوه بر نقش مهم پرولین در برقراری تعادل اسمزی، تجمع پرولین تحت شرایط تنش در برقراری و ثبات ساختارهای سلولی، حذف‌های آزاد، بافری نمودن پتانسیل احیایی سلول، انتقال پیام درون سلول و تامین منبع ذخیره کربن و نیتروژن موثر می‌باشد (۱۹). نتایج به دست آمده از سنجش مقدار پرولین در گیاه *Matricaria chamomilla* (مطابق جدول ۳) نشان می‌دهد تنش شوری تا سطح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر شوری منجر به افزایش معنی دار پرولین در بافت‌های برگ گیاهان فوق می‌گردد. با این وجود تنش شوری ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر منجر به کاهش معنی دار مقدار پرولین در گیاه *Matricaria chamomilla* شده است. در اغلب گیاهان تجمع پرولین تحت شرایط تنش شوری منجر به افزایش تحمل گیاهان به تنش شده و افزایش مقدار پرولین در این شرایط به عنوان یکی از فاکتورهای تحمل به تنش در نظر گرفته می‌شود. به طوری که علی و همکاران (۵) در مطالعات خود روی گیاه *Bacopa monnieri* به این نتیجه رسیدند که پرولین به مانند یک مولکول تنظیمی و علامت دهنده است که قادر خواهد بود موقعی که گیاه در معرض تنش شوری قرار دارد مقاومت گیاه به شوری را افزایش دهد. افزایش پرولین نشان دهنده نقش این اسید آمینه در تنظیم اسمزی از طریق کاهش پتانسیل اسمزی در اثر تجمع مواد محلول در شرایط شوری می‌باشد و شدت انجام آن به سرعت و میزان توسعه تنش، نوع و سن اندام و تنوع ژنتیکی درون و بین گونه ای بستگی دارد (۴).

با توجه به بررسی متابولیت‌های ثانویه گیاهی در برگ گیاهان *Matricaria chamomilla* تحت تنش شوری پیشنهاد می‌شود تنش شوری ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌تواند به عنوان القا کننده سنتز ترکیبات مهم صنعتی و دارویی در گیاهان *Matricaria chamomilla* مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه گیری

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که تنش شوری در گیاه بابونه باعث افزایش بیوسنتز ترکیبات فنلی و برخی ترکیبات مهم دارویی از جمله کامازولن شده و اکثر پلی-فنل‌ها در تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش نشان دادند. در حالی که رنگیزه‌های فتوسنتزی در تیمار شوری ۵۰ میلی‌گرم در لیتر کاهش معنی داری را نشان نمی‌دهد، غلظت‌های زیاد کلرید سدیم مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی را کاهش داد. با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان گفت افزایش در مقدار فعالیت پاد اکسیدانی، ترکیبات فنلی و پرولین می‌تواند از جمله راهکارهای تحمل به تنش شوری در این گیاهان باشد. در مجموع طبق نتایج حاصل از این پژوهش و با توجه به بحران آب و وسعت زیاد خاک‌های شور ایران و پتانسیل خوب ایران برای کشت بابونه به عنوان یک گیاه دارویی با ارزش که دارای بازار جهانی می‌باشد، انجام تحقیقات بیشتر در بررسی مکانیسم ملکولی و بیان ژن‌های مسئول در افزایش ترکیبات دارویی و تحمل گیاه بابونه به تنش شوری برای ادامه این تحقیق، بسیار مفید می‌باشد.

گروه بزرگی از ترکیبات مشتق شده از این مسیر محسوب می‌شوند. در میان این گروه ترکیبات، فنل‌ها هم از نظرنقشی که در مقاومت گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی ایفا می‌کنند و هم به لحاظ اهمیت ویژه آن‌ها در صنایع داروسازی از اهمیت زیادی برخوردار هستند (۲۹). از آن جایی که در سال‌های اخیر علاقه زیادی برای جایگزینی پاد اکسیدان‌های طبیعی مشتق شده از گیاهان به جای پاد اکسیدان‌های مصنوعی پدیدار شده است، نقش ترکیبات فنلی موجود در گیاهان به دلیل خاصیت پاد اکسایشی قوی آن‌ها پررنگ تر گردیده است. ترکیبات فنلی موجود در گیاهان به عنوان ترکیبات پاد اکسیدان در از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده در تنش‌های اکسیداتیو نقش دارند و افزایش آن‌ها طی تنش از جمله راهکارهای مقاومت گیاه محسوب می‌شود. از این رو گیاهان تحت تنش به عنوان منبع مهمی از تجمع ترکیبات فنلی محسوب شده که علاوه بر افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش، این گیاهان می‌توانند مورد استفاده اقتصادی نیز قرار بگیرند (۲۷). همان گونه که در جدول ۴ نشان داده شده است افزایش تنش شوری منجر به افزایش معنی‌دار محتوای پلی‌فنل‌ها گردیده است. این نتایج پیشنهاد می‌کند افزایش ترکیبات فنلی در گیاه *Matricaria chamomilla* تنش دیده می‌تواند به عنوان یکی از مکانیسم‌های مقاومت به تنش اکسیداتیو محسوب شود. نتایج تحقیقات گذشته نیز افزایش در مقدار ترکیبات فنلی را همزمان با افزایش قدرت پاد اکسایشی گیاهان فلفل قرار گرفته تحت تنش شوری نشان داده اند (۳۹).

منابع

- ۱- حسینی، ع. ۱۳۸۲. اثرات تنش‌های آبی و شوری کلرور سدیم بر برخی از خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ریحان. پایان نامه دکتری، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس. ۱۹۹ص
- ۲- زرگری، ع. ۱۳۶۸. گیاهان دارویی. جلد سوم، انتشارات دانشگاه تهران، ۸۹۴ص.
- ۳- قنبری، فردین، اشرف امیری نژاد، علی، سیاری، محمد، کردی، سجاد. ۱۳۹۵. اثر اسید سالیسیلیک بر مقاومت به تنش‌های شوری و قلبی‌ت گیاه فلفل شیرین (*Capsicum annuum L.*). مجله پژوهش‌های گیاهی. ۲۹(۱): ۱۳۰-۱۴۱
- ۴- کلاگری، محسن، صالحی، شانجانی، پروین، بانج شفیعی، شهرام. ۱۳۹۶. مقایسه رشد دو گونه صنوبر (*Populus alba*) و

غیر شور. مجله پژوهش‌های گیاهی. ۱۳۰(۱): ۱۷۳-۱۸۵

- 5-Abd EL-Azim, W.M., Ahmed, S.T.h. 2009. Effect of salinity and cutting date on growth And chemical constituents of *Achillea fragratissima* Forssk, under Ras Sudr conditions. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. 5(6): 1121-1129.
- 6-Akram, N.A., Ashraf, M. 2011. Improvement in growth, chlorophyll pigments and photosynthetic performance in salt-stressed plants of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by foliar application of 5-aminolevulinic acid. *Agrochimica*. 55: 94-104.
- 7-Al-Amier, H., Craker, L.E. 2007. In-vitro selection for stress tolerant spearmint. Reprinted from: Issues in new crops and new uses. J. Janick and A. Whipkey (eds.). ASHS Press, Alexandria, VA. : 306-10.
- 8-Ali, G., Srivastava, P.S, Iqbal, M. 1999. Proline accumulation, protein pattern and photosynthesis in *Bacopa monniera* regenerants growth under NaCl stress. *Biol. Plantarum*. 42: 89-95.
- 9-Arnon, DI. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24: 1-15.
- 10-Ashraf, M., Orooj, A. 2006. Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant ajwain (*Trachyspermum ammi* [L.] Sprague). *Journal of Arid Environments*. 64(2): 209-20.
- 11-Aziz, E.E., Al-Amier, H., Craker, L.E. 2008. Influence of salt stress on growth and essential oil production in peppermint, pennyroyal, and apple mint. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*. 14: 77-87.
- 12-Baghalian, K., Haghiry, A., Naghavi, M.R., Mohammadi, A. 2008. Effect of saline irrigation water on agronomical and phytochemical characters of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Scientia Horticulture*. 116: 437-41.
- 13-Baher, Z.F., Mirza, M., Ghorbanli, M., Rezaii, M.B. 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. *Flavor and Fragrance Journal*. 17: 275-277.
- 14-Bates, L.S., R.P. Waldren, I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
- 15-Behnke, K., Ghirardo, A., Janz, D., Kanawati, B., Esperschütz, J., Zimmer, I., Schmitt-Kopplin, P., Niinemets, U., Polle, A., Schnitzler, J.P., Rosenkranz, M. 2013. Isoprene function in two contrasting poplars under salt and sun flecks. *Tree Physiology*. 1: 1-17.
- 16-Belaqziz, R., Romane, A., Abbad, A. 2009. Salt stress effects on germination, growth and essential oil content of an endemic thyme species in Morocco (*Thymus maroccanus* Ball.). *Journal of Applied Science Research*. 5(7): 858-863.
- 17-Bourgou, S., Kchouk, M.E., Bellila, A., Marzouk, B. 2010. Effect of salinity on phenolic composition and biological activity of *Nigella sativa*. *Acta Horticulture*. 853: 57-60.
- 18-Bruits M, Asres k, Bucar F, 2001. The antioxidant activity of the essential oils of *Artemisia Afra*, *Artemisia byssinica* and *Juniperus procera*. *Phytotherapy Research*. 15:103- 108.
- 19-Çelik, O., Ünsal, S.G. 2013. Expression analysis of proline metabolism-related genes in salt-tolerant soybean mutant plants. *Plant Omics Journal*. 6(5): 364-370.
- 20-Cik, J.K., Klejdus, B., Hedbavny, J., Bačkor, M. 2009. Salicylic acid alleviates NaCl-induced changes in the metabolism of *Matricaria chamomilla* plants. *Ecotoxicology*. 18(5): 544-554.
- 21-Ezz El-Din, A.A., Aziz, E.E., Hendawy, S.F., Omer, E.A. 2009. Response of *Thymus vulgaris* L. to salt stress and alar (B9) in newly reclaimed soil. *Journal of Applied Science and Research*. 5(12): 2165-2170.
- 22-Hakim, M.A., Juraimi, A.S., Hanafi, M.M., Ismail, M.R., Selamat, A., Rafii, M.Y., Lati, M.A. 2014. Biochemical and Anatomical Changes and Yield Reduction in Rice (*Oryza sativa* L.) under Varied Salinity Regimes. *BioMedical Research International*. 20: 1-11.
- 23-Hendawy, S.F., Khalid, K.H.A. 2005. Response of sage (*Salvia officinalis* L.) plants to zinc application under different salinity levels. *Journal of Applied Science and Research*. 1: 147-55.
- 24-Hernandez, J., Jimenez, A., Mullineaux, P., Sevilla, F. 2000. Tolerance of pea plants (*Pisum sativum*) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defenses. *Plant Cell and Environment*. 23: 853-862.
- 25-Justesen, U., P. Knuthsen and Leth T.1998. "Quantitative analysis of flavonols, flavones,

- and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection", *J Chromatogr A*, Vol. 799: 101-102
- 26-Kibria M. Gh., Hoque Md. 2017. Antioxidant defense mechanisms of salinity tolerance in rice, *science direct*. 24: 155-162.
- 27-Kim, D.S., Hwang, B.K. 2014. An important role of the pepper phenylalanine ammonia-lyase gene (PAL1) in salicylic acid-dependent signaling of the defense response to microbial pathogens. *J. Exp. Bot.* doi:10.1093/jxb/eru109.
- 28-Koocheki, A., Nassiri-Mahallati, M., Azizi, G. 2008. Effect of drought, salinity, and defoliation on growth characteristics of some medicinal plants of Iran. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*. 14: 37-53.
- 29-Ksouri, R., Megdiche, V., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly, C. 2007. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*. 45: 244-249.
- 30-Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S.K., Becker, D.F. 2013. Proline Mechanisms of Stress Meloni, D.A., Gulotta, M.R., Martinez, C.A., Oliva, M.A. 2004. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 16(1): 39-46.
- 31-Najafi, F., Khavari-Nejad, R.A., Ali, M.S. (2010). The effects of salt stress on certain physiological parameters in summer savory (*Satureja hortensis L.*) plants. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*. 6(1): 13-21.
- 32-Navarro, J.M., Flores, P., Garrido, C., Martinez, V. 2006. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry*. 96: 66-73.
- 33-Neffati, M., Marzouk, B. 2008. Changes in essential oil and fatty acid composition in coriander (*Coriandrum sativum L.*) leaves under saline conditions. *Industrial Crops and Products*. 28: 137-42.
- 34-Parvaiz, A., Satyawati, M. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants- a review. *Plant Soil and Environment*. 54: 89-99.
- 35-Perveen, S., Shahbaz, M., Ashraf, M. 2010. Regulation in gas exchange and quantum yield of photosystem II (PSII) in salt stressed and non-stressed wheat plants raised from seed treated with triacontanol. *Pakistan Journal of Botany*. 42: 3073-3081.
- 36-Pino JA, Bayat F, Marbot R, Aguero J. 2002. Essential oil of *Chamomilla recutita* (L.) Rausch. From Iran. *Journal of Essential Oil Research*. 14: 407-8.
- 37-Pirzad A, Alyari MR, Shaliba S, Zehtab-Salmasi, Moammadi A. 2006. Essential oil content and composition of German chamomile (*Matricaria chamomilla L.*) at different irrigation regimes. *Journal Agronomy*. 5: 451-5.
- 38-Rajakumar, R. 2013. A study on effect of salt stress in the seed germination and biochemical parameters of rice (*Oryza sativa L.*) under in vitro condition. *Asian Journal of Plant Science and Research*. 3(6): 20-25.
- 39-Reddy, M.P., Vora, A.B. 1986. Changes in pigment composition, hill reaction activity and saccharides metabolism in bajra (*Pennisetum typhoides S&H*) leaves under NaCl salinity. *Photosynthetica*. 20:50-55.
- 40-Reiser, L., Fischer, R.L., 1993. The ovule and the embryo sac, *Plant cell*. 1291-1301. Sharma, P., Dubey, R.S. 2007. Involvement of oxidative stress and role of antioxidative defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum. *Plant Cell Reports*. 26(11): 2027-2038.
- 41-Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., Pessarakli, M. 2012. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*. doi:10. 1155/2012/217037. Survival. *Antioxid Redox Signal* 20.19(9): 998-1011.
- 42-Vickers, C.E., Gershenzon, J., Lerdau, M.T., Loreto, F. 2009. A unified mechanism of action for volatile isoprenoids in plant abiotic stress. *Nature Chemical Biology*. 5: 283-291.

Effects of salinity on some of the biochemical and physiological characteristics of *Matricaria chamomilla*

Rasekh F.¹, Rowshan V.², Vaziri A.¹ and Kholdebarin B.³

¹ Dept. Of Biology, Payame Nour University, Tehran, I.R. of Iran

² Dept. of Natural Resources, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, I.R. of Iran

³ Dept. Of Biology, Shiraz University, Shiraz, I.R. of Iran

Abstract

Matricaria chamomilla L. is a medicinal and aromatic species, belonging to the Asteraceae family, which have many pharmaceutical properties. The present study was performed to evaluate the effect of various concentrations of salinity on biochemical and physiological characteristics of *M. chamomilla*. To investigate the effects salinity on biochemical characteristics of *M. chamomilla*, Fourteen weeks old plants were subjected to different levels of salinity [control, 50, 100, and 150 mg l⁻¹]. Our results showed that salinity caused a significant increase in proline content and antioxidant activity in *M. chamomilla*. The proportions of these main compounds of essential oil and polyphenol components were induced by moderate and high salinity. The essential oil components of *M. chamomilla* were identified and analyzed by GC/MS and GC. Polyphenols were identified and analyzed by HPLC method. The main components of essential oil were α -Bisabolol oxide A, Chamazulene, and En-in-dicycloether. The main components of polyphenols were Chlorogenic acid, Caffeic acid, Catechin, Sinapic acid, Hesperidin, Ellagic acid, Quercetin, and Eugenol.

Key words: *Matricaria chamomile*, Antioxidant activity, Essential oil, Proline, Polyphenol