تاثیر کمبود فسفر بر شاخص‌های رشدی و محتوای اسانس مریم‌گلی باغی (*Salvia officinalis* L.) و پونه آبی (*Mentha aquatica* L.)

معصومه خوارزمی[1]، نیر محمدخانی[2]*، مسلم ثروتی[2]

[1]دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[2]استادیار مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۴

Proof Article

چکیده

هدف نهایی در زراعت گیاهان دارویی دستیابی به متابولیت‌های ثانویه می‌باشد، بنابراین شناخت عوامل مؤثر بر رشد و عملکرد آن ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. فسفر یکی از عناصر پرمصرف بوده و در رشد گیاه و بیوسنتز اسانس نقش اساسی دارد. بمنظور بررسی تاثیر کمبود فسفر بر فاکتورهای رشدی و کیفیت اسانس مریم‌گلی باغی (*Salvia officinalis* L.) و پونه آبی (*Mentha aquatica* L.) آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار با تیمار فسفر در دو سطح شاهد و کمبود فسفر بر روی دو گیاه مریم‌گلی باغی و پونه آبی اجرا شد. کمبود فسفر باعث کاهش فاکتورهای رشدی در هر دو گیاه شد. مقایسات میانگین نشان داد طول و وزن خشک ریشه و اندام هوایی همچنین محتوای نسبی آب برگ و سطح برگ در اثر کمبود فسفر در هر دو گیاه کاهش پیدا کرد، میزان کاهش در مریم‌گلی باغی بیشتر بود. کمبود فسفر باعث افزایش محتوای ترکیبات آلفا- و بتا- پینن، ۱و۸ سینئول و آلفا- توژان در اسانس مریم‌گلی باغی و ترکیبات پولگون، لیمونن و لاواندولیل استات در اسانس پونه شد. همچنین باعث سنتز ترکیبات جدید مثل ۳- اکتانول در اسانس پونه آبی و سابینن در مریم‌گلی باغی و حذف برخی از ترکیبات مانند لینالول در پونه آبی و لیدن در مریم‌گلی باغی شد. در هر دو گیاه کمبود فسفر باعث افزایش اسانس نسبت به شاهد شد. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد کمبود فسفر در حد کنترل شده می‌تواند باعث افزایش درصد اسانس از طریق افزایش محتوای برخی از اجزا اسانس در گیاهان دارویی مریم‌گلی باغی و پونه آبی شود.

واژه های کلیدی: آلفا-توژان، پولگون، پونه آبی، خانواده نعناعیان، عناصر پرمصرف، کمبود فسفر، مریم‌گلی باغی.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۴۲۰۲۶۰۰، پست الکترونیکی: n.mohammadkhani@urmia.ac.ir

مقدمه

مریم‌گلی باغی گیاهی است چند ساله و علفی، منشأ آن نواحی شمالی مدیترانه و شمال آفریقا گزارش شده است. این گیاه از راسته لب‌گلی‌ها[1] و تیره نعناعیان[2] است. دارای ریشه راست و دارای انشعابات فراوان ساقه راست و ارتفاع آن بین ۵۰-۸۰ سانتی‌متر می‌باشد. ترکیبات اصلی اسانس این گیاه ۳۵ تا ۶۰ درصد توژان[3] و بقیه را سینئول[4]، بورنئول[5] و بورنئول استات[6]

1- Lamiales
2-Lamiaceae

3- Thujone
4- Cineole
5- Borneol

تشکیل می‌دهند (۴۴). ترکیبات شیمیایی اسانس مریم گلی باغی شامل فلاون‌ها، اسید فنولیک، گلیکوزیدهای فنیل پروپانوئید، تری ترپنوئیدها و دی ترپن‌ها از جمله فنولیک و کوئینوایدال می‌باشد (۱۰) علاوه بر آن لینالول[7]، بورنئول و آلفا و بتا-کاریوفیلین نیز در اسانس مریم‌گلی موجود است (۳۶) در صنایع غذایی به عنوان چاشنی و طعم دهنده و از گل‌های آن به عنوان دمنوش و در صنایع دارویی خاصیت کرم کشی، ضد اسپاسم، ضد عفونی کننده، آنتی بیوتیک و به عنوان آرام بخش، محرک کبد و بهبود دهنده عمل هضم استفاده فراوان می‌شود (۲۳). گونه های مختلف جنس مریم‌گلی دارای خواص ضد باکتری، ضد قارچی، ضد توموری، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی بوده و علاوه بر آن در صنایع عطر سازی و آرایشی کاربرد فراوانی دارند (۳۲).

پونه آبی با نام علمی *Mentha aquatica* L. گیاهی است از خانواده نعناعیان و دارای ویژگی‌های گیاه شناسی چند ساله، دارای ساقه‌های زیر زمینی بوده، دارای ساقه‌های هوایی به ارتفاع ۲۰-۹۰ سانتی متر، افراشته یا خیزان و به صورت کرکدار است (۲۷). مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه پونه آبی بر طبق تحقیقات انجام شده عبارتند از: بتا-کاریوفیلن، ویریدیفلورول، ۱و ۸-سینئول و پیپریتنون اکساید، پولگون(۲۱). پونه از لحاظ دارویی دارای اهمیت فراوان بوده و در درمان بیماری‌هایی از جمله آسم برونشیال، کولیت، رینیت آلرژیک، یبوست و سوء هاضمه مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۹). مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه پونه آبی برطبق تحقیقات انجام شده عبارتند از: بتا-کاریوفیلن، ویریدیفلورول، ۱،۸-سینئول و پیپریتنون اکساید (۲۱) و منتوفوران و ترانس کاریوفیلن (۲۸).

فسفر یکی از عناصر مورد نیاز گیاهان است که به دلیل حضور در ساختمان آدنوزین‌تری فسفات (ATP) نقش زیادی در متابولیسم و رشد گیاه دارد. به دلیل تثبیت توسط یون‌های معدنی نظیر آلومینیوم و آهن در خاک‌های اسیدی و کلسیم و منیزیم در خاک‌های قلیایی، قابلیت جذب آن توسط گیاه به شدت کاهش می‌یابد (۴۹). کمبود فسفر یکی از عوامل محدود کننده رشد گیاهان در اغلب خاک‌ها است که این کمبود از رسوب، تبادل و تغییر شکل فسفر ناشی می‌شود. با توجه به این که خاک‌های اکثر مناطق دیم ایران آهکی بوده و آهکی بودن خاک‌ها یکی از عوامل محدود کننده جذب بسیاری از عناصر غذایی از جمله فسفر می‌باشد و از سوی دیگر بالا بودن pH خاک، تثبیت و تغییر شکل فسفر و اشکال قابل جذب آن را برای گیاهان کاهش می‌دهد (۴۶).

به علت نقش‌های فسفر در متابولیسم گیاهان، کمبود این عنصر باعث کاهش بسیاری از فرایندهای متابولیسمی، شامل تقسیم و رشد سلول، تنفس و فتوسنتز می‌شود. رشد بخش هوایی و ریشه گیاهان با کمبود فسفر کند می‌شود و برگ‌ها کوتاه، نازک و باریک می‌شوند. در شرایط کمبود فسفر، جلوگیری از رشد سلول برگ، به ویژه هنگام روز، مشاهده می‌شود که به علت کاهش میزان هدایت آب در ریشه گیاهان مبتلا به کمبود فسفر است (۵۵). همچنین اثر برخی از تنش‌های محیطی، از جمله کمبود فسفر، منجر به کاهش انرژی در دسترس گیاه و تغییر در مسیرهای بیوسنتز این ترکیبات فرار می‌شود (۱۸).

با در نظر گرفتن شرایط طبیعی و پتانسیل زیاد تولید گیاهان دارویی در کشور و توجیه اقتصادی آن، توجه به تغذیه عناصر غذایی و نیاز گیاهان دارویی (با توجه به شرایط رشد متفاوت آن‌ها با گیاهان زراعی) بسیار ضروری است. بررسی منابع نشان داد که تحقیقات بر روی کمبود فسفر و تاثیر آن بر مواد موثره گیاهان به خصوص پونه و مریم گلی انجام نشده است. همچنین با توجه به عکس العمل های متفاوت گیاهان به خصوص گیاهان دارویی به کمبود فسفر و تاثیر کمبود آن بر افزایش ترکیبات

6- borneol-asetate

7- Linalool

Preproof Article

اسانس گیاهان دارویی این مطالعه با هدف بررسی تاثیر کمبود فسفر بر رشد و اجزای تشکیل دهنده اسانس مریم گلی و پونه انجام شد.

مواد و روشها

به منظور ارزیابی اثر کمبود فسفر بر شاخص های رشدی و کمیت و کیفیت اسانس گیاهان پونه آبی و مریم گلی باغی آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار در گلخانه به اجرا در آمد. برای این منظور، نشاء پونه و مریم‌گلی از شرکت زرین گیاه تهیه و در گلدان‌هایی با عمق و قطر ۱۸ سانتی‌متر کاشته شد. بافت خاک مورد استفاده خاک لوم شنی (۷۷/۵ درصد شن، ۷/۵ درصد سیلت و ۱۵ درصد رس) بود. حدود بحرانی فسفر ۹/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک اندازه‌گیری شده است. مشخصات خاک اولیه در جدول ۱ آمده است. نشاءهای کاشته شده ابتدا با محلول غذایی هوگلند $\frac{1}{4}$، سپس با $\frac{1}{2}$ و نهایتا با محلول تمام قدرت آبیاری شدند. کمبود فسفر بر گیاهان سه ماهه اعمال شد به این صورت که ابتدا فسفر محلول غذایی به نصف و پس از ۱۵ روز به $\frac{1}{4}$ و در نهایت به صفر کاهش یافت. بعد از بروز علائم کمبود، اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان برداشت شدند. بلافاصله بعد از برداشت فاکتورهای رشدی (طول ریشه و اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، محتوای آب نسبی برگ و سطح برگ) اندازه گیری شدند.

به منظور اندازه گیری محتوای آب نسبی از برگ تمامی تیمارهای آزمایشی نمونه برداری شده و بلافاصله در یخ قرار گرفته و وزن تر آن‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتالی دارای دقت ۰/۰۰۱ اندازه گیری گردید، سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر قرار داده و به مدت ۶ ساعت در یخچال در دمای چهار درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از آن وزن اشباع برگ‌ها اندازه-گیری و برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار داده و وزن خشک هر کدام اندازه گیری شد. با قرار دادن اعداد حاصل از توزین طبق رابطه زیر درصد محتوای نسبی آب برگ محاسبه گردید. این رابطه طبق روش (۵۲) محاسبه شده است.

$$RWC\ (\%) = (FW-DW/TW-DW) \times 100$$

FW: وزن تر، DW: وزن خشک، TW: وزن تورژسانس

برای اندازه‌گیری سطح برگ، نمونه‌های برگی از گیاهان تیمار و شاهد جدا شده و از آنها اسکن تهیه شده و سپس از طریق نرم افزار CompuEye اندازه گیری شد (۵).

سپس اندام هوایی گیاهان که در سایه خشک شده بود، برای اسانس‌گیری آماده شدند. اسانس گیری به روش تقطیر با آب و با دستگاه کلونجر انجام شد. سپس آنالیز GC/MS ترکیبات اسانس با دستگاه کروماتوگراف گازی Thermo Finnigan که با سیستم طیف سنجی جرمی (model GC TRACE; TRACE MS plus) جفت شده بود، انجام شد. ستون غیرقطبی HP-5MS (30 m X 0.250 mm, 0.25 µm film thickness) استفاده شد. پروفیل دمایی به صورت زیر بود: ابتدا دما به مدت ۲ دقیقه روی ۴۰°C تنظیم شد و سپس تا ۱۶۰°C با سرعت ۳ °C/min افزایش یافت و در نهایت دما با سرعت ۵ °C/min به ۲۸۰°C افزایش یافت و ۲ دقیقه در این دما ماند. گاز حامل هلیم و سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه بود و انرژی یونیزاسیون ۷۰ev بود. بعد از تزریق اسانس به دست آمده به دستگاه کروماتوگرافی گازی– طیف‌سنجی جرمی، با توجه به الگوی خروج آلکان-های نرمال، شاخص بازداری (Retention Index) برای ترکیبات محاسبه و در نهایت مقایسه آنها با شاخص‌های مرجع، ترکیبات عمده تشکیل دهنده اسانس، شناسایی شدند.

جدول ۱. مشخصات خاک اولیه

بافت			کربنات کلسیم معادل (٪)	ماده آلی (٪)	هدایت الکتریکی(دسی زیمنس بر متر)	واکنش خاک	محتوای فسفر (mg/kg)	نیتروژن کل(٪)
شن	سیلت	رس						
۷۷/۵	۷/۵	۱۵	۱۷	۲/۳۸	۲/۷۱	۷/۴۴	۵/۸۸	۰/۰۳۸

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار (SPSS نسخه ۲۴) انجام و تفاوت بین تیمارها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) و دوطرفه (GLM) تعیین شد. برای تعیین اختلاف بین میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

طبق جدول آنالیز واریانس (GLM) تفاوت بین گیاهان در همه فاکتورهای رشدی و محتوای فسفر برگ بر طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ معنی دار بود. از نظر طول ریشه و اندام هوایی بین تیمار کمبود و از نظر طول ریشه، طول اندام هوایی و محتوای فسفر برگ اثر متقابل کمبود × گیاه اختلاف معنی داری مشاهده نشد. همچنین اثر متقابل کمبود × گیاه بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی، محتوای نسبی آب برگ و سطح برگ در سطح احتمال ۵٪ معنی دار بود (جدول۲).

جدول ۲. جدول آنالیز واریانس مربوط به صفات اندازه گیری شده گیاهان مریم گلی باغی و پونه آبی تحت کمبود فسفر

منبع تغییرات	درجه آزادی	طول ریشه	طول اندام هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	محتوای نسبی آب برگ	سطح برگ	محتوای فسفر برگ
گیاه	۱	۱۱۳۵ /۸۸۰**	۱۲۰۵ /۸۴۱**	۳ /۳۴۵**	۲۳۱ /۴۳۳**	۱۶۲۷ /۰۶۸**	۴۸۴/۵۹۴ **	۰/۵۴۳*
کمبود (فسفر)	۱	۱۲/۵۰۵ ns	۱۹/۵۰۸ ns	۲ /۲۴۳**	۹ /۳۵۸**	۲۰۶ /۱۱۳**	۹۷/۲۸۲ **	۲/۹۹**
گیاه × کمبود	۱	ns ۱/۸۸۰	ns ۰/۶۰۸	۶ /۰۷۲**	۰ /۲۹۶**	۳۴۶ /۴۱۱**	۷۶/۴۹۲ **	ns ۰/۲۳
خطا	۶	۱۱/۰۹۹	۹/۲۴۹	۰/۰۷۹	۰/۰۴۱	۳/۴۸۷	۲/۶۰۹	۰/۱۰۱
ضریب تغییرات (CV)		۲۱/۸۱	۱۵/۴۲	۱۸/۹۲	۱۷/۴۹	۱۹/۳۵	۲۲/۰۸	۱۳/۵۲

ns غیر معنی دار بودن، *معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد و **معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۳ اثر کمبود فسفر بر طول و وزن خشک ریشه و اندام هوایی، محتوای نسبی آب برگ و سطح برگ نشان می‌دهد. کمبود فسفر باعث کاهش معنی‌دار سطح برگ و محتوای فسفر برگ در هر دو گیاه شده است، که اثر کمبود بر محتوای فسفر برگ گیاه پونه نسبت به مریم‌گلی بیشتر است. در گیاه مریم گلی کمبود فسفر باعث افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی شد ولی محتوای آب نسبی برگ به طور چشم‌گیری کاهش پیدا کرد. در گیاه پونه اثر کمبود فسفر باعث کاهش طول اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی نسبت به شاهد شد.

Proof Article

جدول ۳. اثر کمبود فسفر بر فاکتورهای رشدی گیاهان مریم گلی و پونه

گیاه	تیمار	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	محتوای نسبی آب برگ (٪)	سطح برگ (سانتی‌متر مربع)	محتوای فسفر برگ
مریم گلی	شاهد	۲/۷۱ ± ۰/۲۲b	۴/۳۴ ± ۰/۶۳b	۷۰/۳۷ ± ۱/۹۲a	۲۳/۷۰ ± ۰/۸۴a	۴/۹۲ ± ۰/۱۸a
	کمبود	۵/۰۱ ± ۰/۱۹a	۶/۴۲ ± ۰/۱۹a	۵۱/۸۱ ± ۰/۴۷b	۱۲/۹۶ ± ۰/۴۶b	۴/۱۹ ± ۰/۱۹b
پونه	شاهد	۵/۱۹۷ ± ۰/۰۲a	۱۳/۴۴ ± ۰/۰۰a	۸۳/۳۹ ± ۰/۶۴a	۵/۹۴ ± ۰/۴۹a	۵/۶۲ ± ۰/۱۹a
	کمبود	۴/۶۴ ± ۰/۱۵a	۱۴/۸۹ ± ۰/۱۱b	۸۵/۳۷ ± ۰/۵۶a	۵/۲۹ ± ۰/۳۳b	۴/۳۴ ± ۰/۱۶b

همبستگی مثبت معنی داری بین سطح برگ با طول اندام هوایی (r =۰/۷۹۳) و بین وزن خشک اندام هوایی با سطح برگ (r =۰/۹۱۴) و محتوای نسبی آب برگ (r =۰/۹۷۲) طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد. همچنین همبستگی مثبت معنی داری بین طول اندام هوایی با وزن خشک اندام هوایی (P<۰/۰۱، r =۰/۸۷۵) و محتوای نسبی آب برگ (P<۰/۰۵، r =۰/۹۷۲) وجود دارد (جدول ۴).

جدول ٤. همبستگی فاکتورهای رشدی گیاهان مریم گلی و پونه تحت کمبود فسفر

	طول اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	محتوای نسبی آب برگ	سطح برگ
طول اندام هوایی	۱			
وزن خشک اندام هوایی	۰/۸۷۵**	۱		
محتوای نسبی آب برگ	۰/۸۴۳*	۰/۹۷۲**	۱	
سطح برگ	۰/۷۹۳**	۰/۹۱۴**	۰/۸۸۴**	۱

ترکیبات اصلی اسانس مریم گلی باغی در این مطالعه شامل آلفا توژان (α-thujone)، کامفور (camphor)، ۱و۸ سینئول (1,8-cineole)، آلفاهومولن (α-humulene)، بتاتوژان (β-thujone)، مانوول (manool) و گایوول (guaiol) هستند (جدول ۵). در گیاه مریم گلی اعمال کمبود فسفر باعث افزایش چشم‌گیر مقدار ترکیبات آلفا–توژان ، کامفن (camphene)، بتا–پینن (β-pinene)، بتا–میرسن (β-myrcene)، ۱و۸ سینئول، آلفا– و بتا–توژان و کاهش مقدار ترکیبات کامفور، بورنئول (borneol)، ترنس کاریوفیلن (trans-caryophyllene)، آرومادندرن (aromadendrene)، آلفا– هومولن ، a-muurolol، مانوول وآلفا–ترپینوئل نسبت به گیاهان شاهد شد.

Preproof Article

ترکیبات آلفا- و بتا- پینن با کمبود فسفر به دو برابر مقدار خود در حالت نرمال افزایش یافتند و مقدار آلفا-توژان از ۳۵/۰۱ درصد در حالت نرمال به ۴۱/۶۱ درصد و بتا توژان از ۶/۵۵ درصد به ۹/۱۷ درصد و ۱و ۸ سینئول از ۸/۸۱ درصد به ۱۳/۳۸ درصد در حالت کمبود افزایش یافت. کاهش بعضی ترکیبات در شرایط کمبود فسفر مثل مانوول (۶/۴۶ به ۰/۷۹) در حد یک هشتم مقدار آن در حالت نرمال بود. مقدار a-muurolol با اعمال کمبود فسفر از ۱/۸۳ درصد در حالت نرمال به ۰/۴۵ درصد در حالت کمبود رسیده است.

ترکیبات سابینن (sabinene)، پارا سیمن (p-cymene) و یک ترکیب جدید که شناسایی نشده در اثر کمبود فسفر ایجاد شدند که در اسانس حاصل از گیاهان شاهد وجود نداشتند. در مقابل ترکیباتی مثل لیدن (ledene)، آرومادندرن (aromadendrene) و هومولن اپوکسید۲ (humulene epoxide II) که در اسانس گیاهان شاهد تشکیل شده بود، با کمبود فسفر حذف شدند. در گیاه مریم گلی با کمبود فسفر مجموع درصد ترکیبات اسانس افزایش یافته به گونه‌ای که از ۹۸/۰۴ درصد به ۹۹/۵ درصد رسیده است (جدول ۵).

جدول ۵. درصد ترکیبات اسانس گیاه مریم گلی تحت کمبود فسفر

شماره	نام ترکیب	RI	R.T	درصد (٪)	
				نرمال	کمبود
۱	α- pinene	۹۳۴	۵/۲۸	۱/۲۵	۲/۶۴
۲	camphene	۹۴۹	۵/۵۷	۱/۲۴	۱/۸۲
۳	sabinene	۹۶۵	۶/۰۴	–	۰/۱۸
۴	β- pinene	۹۷۷	۶/۱۳	۲/۳۶	۵/۵۳
۵	β- myrcene	۹۹۰	۶/۳۸	۰/۵۸	۰/۶۶
۶	α- terpinene	۱۰۱۷	۶/۹۶	۰/۲۷	۰/۲۴
۷	p- cymene	۱۰۲۴	۷/۱۳	–	۰/۲۹
۸	limonene	۱۰۳۰	۷/۲۴	۰/۸۱	۰/۷۷
۹	1,8-cineole	۱۰۳۲	۷/۳۰	۸/۸۱	۱۳/۳۸
۱۰	*cis*- ocimene	۱۰۳۶	۷/۳۷	۰/۳۳	۰/۳۲
۱۱	gamma- terpinene	۱۰۶۰	۷/۹۱	۰/۶۳	۰/۵۹
۱۲	α- terpinolene	۱۰۸۹	۸/۵۷	۰/۳۱	۰/۱۶
۱۳	α- thujone	۱۱۱۱	۹/۰۶	۳۵/۰۱	۴۱/۶۱
۱۴	β- thujone	۱۱۱۹	۹/۲۶	۶/۵۵	۹/۱۷
۱۵	camphor	۱۱۴۸	۹/۹۴	۱۰/۲۷	۸/۱۷
۱۶	borneol	۱۱۶۸	۱۰/۴۰	۱/۰۷	۰/۸۲
۱۷	terpinene-4-ol	۱۱۸۰	۱۰/۶۷	۰/۴۸	۰/۴۹
۱۸	trans- caryophyllene	۱۴۲۵	۱۶/۱۵	۳/۹۱	۲/۴۲
۱۹	aromadendrene	۱۴۴۴	۱۶/۵۶	۰/۶۹	۰/۳۰
۲۰	α- humulene	۱۴۵۹	۱۶/۸۷	۸/۴۱	۵/۵۶
۲۱	ledene	۱۴۹۹	۱۷/۶۹	۰/۴۶	–
۲۲	guaiol	۱۵۹۸	۱۹/۶۶	۵/۹۱	۳/۱۴
۲۳	humulene epoxide II	۱۶۱۶	۱۹/۹۹	۰/۴۰۰	–
۲۴	a- muurolol	۱۶۴۴	۲۰/۵۳	۱/۸۳	۰/۴۵
۲۵	manool	۲۰۶۶	۲۷/۹۱	۶/۴۶	۰/۷۹
	مجموع درصدها			۹۸/۰۴	۹۹/۵

Preproof Article

ترکیبات عمده اسانس پونه آبی در این مطالعه عبارتند از : پولگون (pulegone)، آلفا ترپینوئل (α- terpineol)، لیمونن (limonene)، سیس- دی‌هیدروکارون (*cis*-dihydrocarvone)، پیپریتنون (piperitenone)، که حدود ۷۰ درصد اسانس را پولگون تشکیل داده است. اعمال کمبود فسفر باعث به وجود امدن ترکیبات دی‌هیدروکارویل استات dihydrocarveyl (acetate)، 3-octanol acetate و ۳- اکتانول (3-octanol) شده است که در حالت نرمال در اسانس پونه وجود ندارد. همچنین کمبود باعث حذف یا تشکیل نشدن ترکیبات لینالول (linalooll)، سیس-پارا- منتان (*cis*-para-menthan-3-one)، آلفاهومولن(α-humulene) و ای- مارول (a-muurolol) در گیاه پونه شده که در حالت نرمال وجود داشتند (جدول ۶).

کمبود فسفر باعث افزایش چشم‌گیر مقدار ترکیبات پولگون ، لیمونن، لاواندیل استات (lavandulyl acetate) و سیس- اوسیمن (*cis*-ocimene) نسبت به شاهد شده است. به گونه ای که درصد پولگون از شاهد با ۶۷/۴۸ درصد به ۷۰/۶۲ درصد در شرایط کمبود فسفر رسیده است و مقدار ترکیب لیمونن از ۵/۶۷ درصد در شاهد به ۷/۵۷ درصد و لاواندیل استات از ۰/۲۹ درصد به ۰/۶۴ درصد و اوسیمن از ۰/۶۸ درصد به ۰/۷۸ درصد در حالت کمبود افزایش یافته است. همچنین کمبود فسفر باعث کاهش مقدار ترکیبات پیپریتون (piperitone)، پیپریتنون، ترنس کاریوفیلن (trans-caryophyllene)، جرماکرن (germacrene-d) و آلفا- ترپینوئل نسبت به گیاهان شاهد شد. به طوری‌که مقدار پیپریتون به نصف و مقدار پیپریتنون، ترنس کاریوفیلن و جرماکرن به یک سوم مقدار آنها در حالت کمبود کاهش یافته است (جدول ۶). طبق جدول ۵ در گیاه پونه نیز مانند مریم گلی مجموع درصد ترکیبات اسانس با اعمال تیمار کمبود فسفر افزایش یافته و مقدار آن از ۹۶/۳۸ درصد در حالت نرمال به ۹۹/۵۷ درصد در حالت کمبود رسیده است.

جدول ٦. درصد ترکیبات اسانس گیاه پونه تحت کمبود فسفر

شماره	نام ترکیب	RI	R.T	درصد (٪)	
				نرمال	کمبود
۱	α- pinene	۹۳۴	۵/۲۸	۰/۳۸	۰/۴۱
۲	sabinene	۹۷۰	۶/۰۵	۰/۱۵	۰/۱۷
۳	β- pinene	۹۷۸	۶/۱۴	۰/۴۶	۰/۴۶
۴	β- myrcene	۹۹۰	۶/۳۸	۰/۳۴	۰/۳۶
۵	3-octanol	۹۹۳	۶/۴۳	–	۰/۰۸
۶	limonene	۱۰۳۰	۷/۲۴	۵/۶۷	۷/۵۷
۷	*cis*- ocimene	۱۰۳۶	۷/۳۸	۰/۶۸	۰/۷۸
۸	linalooll	۱۰۹۹	۸/۸۰	۰/۲۱	–
۹	3- octanol acetate	۱۱۲۲	۹/۳۳	–	۰/۲۶
۱۰	*cis*-para-menthan-3-one	۱۱۶۷	۱۰/۳۸	۰/۲۶	–
۱۱	α- terpineol	۱۱۹۳	۱۱/۰۵	۶/۴۸	۶/۰۲
۱۲	*cis*-dihydrocarvone	۱۲۰۰	۱۱/۱۱	۶/۲۱	۶/۰۸
۱۳	pulegone	۱۲۴۲	۱۲/۱۸	۶۷/۴۸	۷۰/۶۲
۱۴	piperitone	۱۲۵۷	۱۲/۴۵	۰/۱۸	۰/۰۸
۱۵	lavandulyl acetate	۱۲۵۹	۱۳/۳۱	۰/۲۹	۰/۶۴
۱۶	dihydrocarveyl acetate	۱۳۲۸	۱۴/۰۵	–	۴/۲۵
۱۷	piperitenone	۱۳۴۴	۱۴/۳۹	۴/۸۵	۱/۰۷
۱۸	trans-caryophyllene	۱۴۲۵	۱۶/۱۵	۱/۱۶	۰/۴۳

Preproof Article

۱۹	α- humulene	۱۴۵۸	۱۶/۸۵	۰/۱۹	–
۲۰	germacrene-d	۱۴۸۵	۱۷/۴۱	۰/۸۰	۰/۲۹
۲۱	a- muurolol	۱۵۸۹	۲۰/۵۳	۰/۵۹	–
	مجموع درصدها			۹۶/۳۸	۹۹/۵۷

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه اسانس دو گیاه مریم گلی و پونه (جدول۵ و۶) ترکیباتی مثل آلفا- هومولن (α - humulene) و a- muurolol با کمبود فسفر در گیاه مریم گلی کاهش و در گیاه پونه حذف شده است. و ترکیباتی مثل سابینن (sabinene) در پونه افزایش و در مریم گلی که در حالت نرمال وجود نداشت باکمبود در اسانس تشکیل شده است. با اعمال کمبود فسفر آلفاپینن (α - pinene) و بتامیرسن (β - myrcene) در هر دو گیاه افزایش پیدا کرد در مقابل ترکیباتی مثل ترنس- کاریو فیلن (trans- caryophyllene) در هردو گیاه با کمبود فسفر کاهش یافته است (جدول۵ و۶).

بحث و نتیجه گیری

گیاهان نسبت به کمبود فسفر قابل جذب در خاک عکس العمل‌های متفاوتی نشان می‌دهند. به طور کلی گیاهان جوان به فسفر بیشتری نسبت به گیاهان مسن نیاز دارند. به علاوه، توسعه ریشه در مراحل اولیه رشد محدودتر است و مقدار فسفر قابل جذب بیشتری در ناحیه توزیع ریشه ضرورت دارد. گیاهان ظرفیت زیادی برای جذب و ذخیرهٔ فسفر دارند (۳۹).

گیاهان زراعی ذاتا وابستگی بیشتری به کود فسفر دارند و اکثر آن‌ها بدون کود نمی‌توانند به رشد مطلوب خود برسند. این توانایی ویژه در گیاهان غیر زراعی که به صورت وحشی در طبیعت رشد می‌کنند برای همه عناصر بخصوص فسفر قطعا بیشتر است؛ آن‌ها قادرند بخوبی چرخه رشد و نمو خود را در خاک‌های با فسفر قابل استفاده کم، کامل کنند. بنابراین آن‌ها دارای مکانیسم‌های کارا و فعالتری در استفاده از فسفر خاک، نسبت به گیاهان زراعی هستند. گیاهان دارویی که در سال‌های اخیر در دنیا مورد توجه ویژه قرار گرفته‌اند، جزء گیاهان غیر زراعی با توانایی زیاد در استفاده از عناصر خاک محسوب می‌شوند که با گذشت زمان بصورت زراعی درآمده‌اند و تولید آن‌ها در شرایط زراعی نیز دارای توجیه اقتصادی می‌باشد. کاربرد صحیح و مناسب عناصر غذایی در طول دوره رشد گیاهان دارویی، نه تنها نقش عمده‌ای در افزایش عملکرد دارد بلکه در کمیت و کیفیت مواد موثره آن‌ها نیز نقش مهمی را ایفا می‌کند (۸).

گیاهانی که تحت شرایط کمبود فسفات قرار می‌گیرند نشاسته و سایر متابولیت‌های ثانویه را که به بازیافت فسفات معدنی از پیش سازهای فسفریله شده کمک می‌نمایند در درون اندامک‌های خود انباشته می‌کنند (۵۳).

بر اساس مطالعه Hajiboland و همکاران (۲۵) وزن خشک ریشه در اثر کمبود فسفر در هر دو رقم گیاه گوجه فرنگی نسبت به شاهد کاهش یافت که میزان کاهش در دو رقم متفاوت بود. تنش کمبود فسفر باعث کاهش معنی دار وزن خشک اندام هوایی و ریشه در گیاه کلزا شد (۳۵). در مطالعه حاضر نیزکمبود فسفر وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه پونه را نسبت به شاهد کاهش داد ولی عکس آن در گیاه مریم‌گلی مشاهده شد، علت آن می‌تواند به توانایی بالای جذب فسفر در گیاه مریم گلی مرتبط باشد (جدول ۳). در تحقیقی دیگر استفاده از سطح ۸۰ میکرومولار فسفر در گیاه کلزا باعث افزایش طول ریشه نسبت به شاهد شد (۵۶). همچنین نتایج حاضر نشان داد که کمبود فسفر باعث کاهش سطح برگ مریم گلی باغی و پونه آبی و محتوای آب نسبی برگ در گیاه پونه آبی نسبت به شاهد شد که با مطالعه Akhtar و همکاران (۲) همخوانی داشت. تنش کمبود فسفر از طریق کاهش تقسیم سلولی در منطقه مریستم اندام هوایی بر سطح برگ موثر بوده و از گسترش

Proof of Article

سطح برگ ممانعت می‌نماید. همچنین این تاثیر از طریق کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه نیز اعمال می‌گردد (۲). یکی دیگر از مهم‌ترین نتایج کمبود فسفر در گیاهان، کاهش گسترش سلول، جلوگیری از رشد برگ‌ها و کوتاهی قد گیاهان است. این عوارض به دلیل کاهش هدایت هیدرولیک ریشه در شرایط کمبود فسفر است. بنابراین در دسترس نبودن آب کافی برای گسترش سلول‌ها در اندام هوایی، موجب کوچک ماندن برگ‌ها و جلوگیری از رشد اندام هوایی است (۱۱).

همچنین فسفر باعث افزایش کربوهیدرات‌ها، قندهای محلول و ترکیب‌های معدنی در شاخساره، گل و ریشه بابونه آلمانی شده است و در نتیجه افزایش فسفر در گیاه افزایش وزن تر و خشک اندام‌های مختلف گیاه را سبب شد (۱). در تحقیقی که بر روی گیاه دارویی بابونه آلمانی صورت گرفت، مشخص شد که تعداد گل و وزن تر و خشک گل این گیاه با افزایش غلظت کود فسفر افزایش یافت (۳۴). در مطالعه حاضر کمبود فسفر کاهش فاکتورهای رشدی را در گیاه پونه آبی سبب شده است.

یکی از عناصر مهم در افزایش رشد رویشی و زایشی گیاه به دلیل نقش‌های کلیدی که در گیاه به ویژه انتقال انرژی دارد، فسفر است و در نتیجه منطقی است که با افزایش مقدار کودهای شیمیایی فسفر ارتفاع بوته ریحان افزایش پیدا کند (۵۳). خراسانی و همکاران در بررسی خود بر جذب فسفر روی سه گیاه مریم‌گلی، بومادران و کاکوتی تحت شرایط کمبود فسفر دریافتند که زیاد بودن کارایی جذب فسفر در شرایط کمبود فسفر خاک در مریم گلی بیشتر در ارتباط با گسترش زیاد ریشه و در نتیجه افزایش سطح جذب بود (۳۳). در مطالعه حاظر نیز تاثیر کمبود فسفر بر گیاه پونه بارزتر است.

عوامل گوناگون می توانند بر کیفیت و ترکیب اسانس به عنوان محصول نهایی تأثیر بگذارند، به عنوان مثال، عوامل بیولوژیکی و غیر زنده، شرایط خشک، دوره نگهداری، شناسایی گونه ها، مقدار مواد مغذی موجود در خاک، کاشت، برداشت و فرآیند های پزشکی آماده سازی یا استخراج گیاه در آزمایشگاه (۵۰)

ترکیبات اصلی اسانس مریم گلی باغی در این مطالعه شامل آلفا توژان (α-thujone)، کامفور (camphor)، ۱و۸ سینئول (1,8-cineole)، آلفاهومولن (α-humulene)، بتاتوژان (β-thujone)، مانوول (manool) و گایوول (guaiol) هستند (جدول ۵). اجزای متعددی از جمله مونوترپن ها (۱۴)، دی ترپنوئیدها و تری ترپنوئیدها (۱۳) از مریم گلی جدا شده اند و ۱و۸-سینئول، کامفور، آلفا-پینن، بتا-پینن، آلفا-توجون و بتا-توجون گزارش شده که از اجزای اصلی اسانس آن هستند (۹). که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. محتوا و ترکیبات اسانس در گیاهان دارویی از شرایط محیطی شامل حاصلخیزی خاک و عناصر معدنی تاثیر می پذیرد (۵۱). ترکیبات عمده اسانس پونه آبی در این مطالعه عبارتند از : پولگون (pulegone)، آلفا ترپینوئل (α- terpineol)، لیمونن (limonene)، سیس- دی‌هیدروکارون (*cis*-dihydrocarvone)، پیپریتنون (piperitenone)، که حدود ۷۰ درصد اسانس را پولگون تشکیل داده است (جدول ۶). براساس نتایج Mahmodi و همکاران (1390) عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس پونه پولگون، ۱و ۸-سینئول، منتوفوران و سیس ایزوپولگون می‌باشد (۳۷). در مطالعه‌ای دیگر مهم ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس این گیاه منتوفوران، ۱و ۸-سینئول، منتول، لیمونن، منتون، بتا-سیس-اوسیمن، لدول، آلفا ترپینن، کاریوفیلن و ویریدیفلورول می‌باشند (۲۹). مطالعه انجام شده روی پونه آبی (*Mentha aquatica* L.) نشان داد بیشترین میزان ترکیب آلفا-پینن در منطقه ساری که میزان فسفر خاک آن پایین تر از مناطق دیگر است به دست آمد. و بالعکس ترکیب آلفا-هومولن در مناطق با فسفر پایین وجود ندارد و با افزایش فسفر افزایش می‌یابد، در مطالعه حاضر نیز محتوای آلفا-پینن با اعمال کمبود فسفر افزایش پیدا کرده است و ترکیب آلفا-هومولن حذف شده است (۴۰).

فسفر در گیاه عمدتاً به صورت استرهای فسفات نظیر قندهای فسفری یافت می شود و نقش مهمی را در فتوسنتز و متابولیسم واسطه بازی می کند. در کمبود فسفر، از تشکیل مواد ژنتیکی جدید در هسته و سیتوپلاسم و غشاهای جدید حول سلول جلوگیری می شود و ساخته شدن پروتئین به صورت عادی انجام نمی‌گیرد (۲۶). مریم گلی باغی مونوترپن هایی با طیف

گسترده ای از اسکلت های کربن، از جمله ترکیبات حلقوی، تک حلقه و دو حلقه تولید می کند. سه مونوترپن سنتاز مشخص مسئول اولین مراحل در تشکیل مشخص ترین مونوترپن اسانس مریم گلی باغی هستند. (+)- سابینن سنتاز تولید سابینن را کاتالیز می کند که تحت بازآرایی بیشتر منجر به تولید دو مونوترپن اصلی آلفا و بتا-توجون می شود. ۱و۸-سینئول سنتاز در یک مرحله ۱و۸-سینئول را تولید میکند، سرانجام (+)- بورنیل دی فسفات سنتاز بورنیل دی فسفات تولید میکند، که متعاقبا به بورنئول هیدرولیز شده و سپس به کامفور اکسید می شود (۱۵). با توجه به اینکه تولید کامفور و بورنئول نیازمند فسفر می‌باشد در مطالعه حاضر نیز دو ترکیب مورد نظر در گیاه مریم گلی باغی بر اثر کمبود فسفر کاهش یافته است.

از آنجا که فسفر به عنوان یکی از عناصر مهم در تولید ماده موثره در گیاهان دارویی محسوب می‌شود، لذا شناسایی و بررسی مکانیسم استفاده از فسفر در خاک‌هایی با فسفر قابل استفاده کم بعنوان یک توانایی ویژه در گیاهان دارویی به حساب می‌آید (۸). نتایج حاصل از جدول ۵ و ۶ نشان داد که کمبود فسفر، مجموع درصد اسانس را در هر دو گیاه نسبت به حالت نرمال افزایش داده است که این یافته با مطالعات قبل همخوانی دارد. Chrysargyris و همکاران (۱۲) گزارش کردند که ترکیب اسانس پونه تحت تاثیر سطوح مختلف فسفر قرار می‌گیرد ولی بر عملکرد اسانس تاثیری ندارد.

فسفر یکی از عناصر مهم در افزایش ماده موثره و اسانس در گیاهان دارویی است. Nikolova و همکاران (۴۲) نیز در آزمایش‌های گلدانی با گیاه بابونه مشاهده کردند که فسفر، میزان اسانس گیاه را افزایش داد. Bernath (۶) با تحقیق بر روی نعناع به این نتیجه رسید که تاثیر کمبود فسفر بر میزان اسانس نعناع مهم‌تر از کمبود نیتروژن بوده و افزودن فسفر نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش اسانس نعناع می‌شود. قسمت اعظم اسانس گیاه مرزه را ترکیبات مونوترپنی تشکیل می‌دهد. استفاده از کود فسفر به تنهایی و یا همراه با نیتروژن در مقایسه با تیمارهای فاقد فسفات موجب کاهش مقدار اسانس در گیاه درمنه شیرین شد (۴۵). بیوسنتز ترکیبات ترپنی در مرحله‌ای از مسیر به انرژی حاصل از فرآیند تخمیر نیاز دارد و کاهش در عملکرد میتوکندری و محدودیت فتوسنتز بر اثر برخی از تنش‌های محیطی، از جمله کمبود فسفر، منجر به کاهش انرژی در دسترس گیاه و تغییر در مسیرهای بیوسنتز این ترکیبات فرار می شود (۱۸). نتایج تحقیقی بر روی گیاه گشنیز نشان داد استفاده از کود فسفر باعث افزایش عملکرد بیولوژیکی گیاه شده و درصد اسانس را نیز افزایش داد که در نهایت منجر به افزایش عملکرد اسانس گردید (۳۰). ترکیب اجزای اسانس در شرایط نامساعد محیطی با الگوی بیان ژن و غلظت آنزیم‌های ایزوپیپریتنون دهیدروژناز، پولگون ردوکتاز، منتوفوران سینتاز و منتول_منتون ردوکتاز تاثیر معنی‌داری بر ترکیب اجزای اسانس دارند در حالی که بر عملکرد اسانس تاثیر قابل توجهی ندارند (۴۸).

میزان عناصر غذایی موجود در خاک به خصوص نیتروژن، فسفر، پتاسیم عامل تعیین کننده ای در رشد و نمو گیاه و تولید ترکیبات موثره گیاهان است (۲۲). نیتروژن و فسفر دو ماده اصلی غذایی در کودها و عوامل اصلی کنترل کننده رشد و بهره وری محصولات (۷، ۳۸) و تولید متابولیت های اولیه و ثانویه هستند (۴۳). همچنین نتایج متناقضی از تاثیر فسفر و نیتروژن بر محتوای اسانس گزارش شده است. عدم تاثیر کاربرد فسفر بر تولید اسانس در گیاهان دیگر از جمله مریم گلی گزارش شده است (۴۱). مطابق پژوهش های انجام شده مشخص شد که کود فسفر تأثیر معنی داری بر میزان اسانس گل های بابونه آلمانی داشت. مقایسه میانگین نشان داد که سطح کودی ۶۰ کیلوگرم فسفر در هکتار، بیشترین درصد اسانس و سطح کودی عدم مصرف کود فسفر، کمترین درصد اسانس را داشتند (۱۶). پژوهشگران دیگری نیز گزارش کردند که مقادیر مختلف کود فسفره تأثیری بر درصد کامازولن بابونه آلمانی نداشت و تنها توانست میزان اسانس را از طریق افزایش در مقدار گل تغییر دهد (۳). Emongorو همکاران (۲۰) نیز در پژوهش های خود به این نتیجه رسیده بودند که فسفر باعث افزایش درصد اسانس در هر بوته بابونه آلمانی می‌گردد. همچنین گزارش شده است که مصرف کود سوپر فسفات تریپل باعث افزایش میزان عملکرد گل،

عملکرد اسانس و کامازولن بابونه آلمانی در واحد سطح گردید (۱۶). محتوای اسانس با افزایش غلظت فسفر در گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L) تغییر نکرد (۴). در مقابل، Yesil و Kara (2016) به طور خاص اثر قابل توجهی از میزان نیتروژن و فسفر را در ترکیب اسانس نعناع و ۱،۸- سینئول، ۴- ترپینئول، پولگون، پیپریتون و کارون گزارش کردند. این تفاوت‌ها می‌تواند به دلیل برهم‌کنش بین دوزهای نیتروژن و فسفر و ژنوتیپ‌های نعناع نیز مشاهده شده در آن مطالعه باشد (۵۷).

شرایط محیطی مانند دما ، طول روز ، نور ، کودها و وضعیت آب بر ۱و۸-سینئول، کامفور و ترکیب کمی روغن‌های اساسی تأثیر می گذارد (۱۷). در مریم گلی ، عمده ترین مونوترپن های دو توژون در طی یک چرخه رویشی پویایی مشخصی را نشان می دهند (۲۴). محتوای هر سه ترکیب ۱و۸-سینئول، آلفا و بتا-توژون نیز در اثر اعمال کمبود فسفر افزایش یافته‌اند. تحت تنش‌های محیطی میزان پولگون و منتوفوران افزایش می‌یابند (۴۷). در همین راستا در مطالعه حاضر اعمال کمبود فسفر ترکیب پولگون در پونه را نسبت به اسانس شاهد افزایش داد. Kapoor و همکاران (۳۱) مشاهده کردند تغذیه معدنی به ویژه فسفر بر گیاه رازیانه باعث افزایش تعداد چتر، گل و افزایش اسانس گل گردید.

در مطالعه حاضر کمبود فسفر باعث افزایش درصد اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس مریم گلی و پونه شد، یعنی کمبود فسفر علی‌رغم کاهش فاکتورهای رشدی، کیفیت اسانس را بهبود بخشیده است. کمبود فسفر که اغلب در خاک‌های ایران اتفاق می‌افتد، شاید راهکار مناسبی برای افزایش کیفیت اسانس در گیاهان معطر خانواده نعناع باشد. اما به نظر می‌رسد اگر کمبود شدید باشد کیفیت اسانس نیز کاهش پیدا خواهد کرد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد باغبانی- گیاهان دارویی و معطر مرکز آموزش عالی شهید باکری- دانشگاه ارومیه می‌باشد. نویسندگان از معاونت آموزشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه ارومیه برای حمایت مالی این پژوهش تقدیر و تشکر می‌نمایند.

منابع

1. Ablah, N., Hashim, M.F., Hassan, N.S. and Aboziad, H., 2004. Effect of gamma irradiation and phosphorus on growth and oil production of chamomile (*Chamomilla recutita*). International Journal of Agricultural and Biology, 6: 776-780.
2. Akhtar, M.S., Oki, Y. and Adachi, T., 2007. Genetic diversity in *Brassica* cultivars under deficiently buffered P stress environment: III. Leaf area (LA), P-stress induced percent reductions in LA, P absorption, transport and utilization rates. Journal of American Science, 3(2), 73-82.
3. Alijani, M., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, A.M. and Mohammad Rezaie, S., 2010. The effects of phosphorus and nitrogen contents on yield, yield components and essential oil percentage of German chamomile (*Matricaria recutita* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26 (1): 101-113.
4. Alizadeh, A., Khoshkhui, M., Javidnia, K., Firuzi, O., Tafazoli, E., & Khalighi, A. (2010). Effects of fertilizer on yield, essential oil composition, total phenolic content and antioxidant activity in Satureja hortensis L. (Lamiaceae) cultivated in Iran. Journal of Medicinal Plants Research, 4(1), 33–40
5. Bakr, E.M., 2005. A new software for measuring leaf area, and area damaged by *Tetranychus urticae* Koch. Journal of Applied Entomology, 129 (3): 173-175.
6. Bernath, J., 1993. Wild and cultivated medicinal plants. Mezo, pub, Budapest.
7. Bernstein N, Ioffe M, Luria G, Bruner M, Nishri Y, Philosoph-Hadas S, SalimS, Dori I, Matan E, 2010. Evaluation of a newly

Proof Article

developed potassiumand nitrogen fertilization regime for soil cultivation of Ranunculusasiaticus. Israel Journal of Plant Science 18, 33–41.

8. Bhadoria, P.B.S., Steingrobe, B., Claassen, N. and Leibersbach, H., 2002. Phosphorus efficiency of wheat and sugar beet seedlings grown in soils with mainly calcium, or iron and aluminum phosphate. Plant and Soil, 264: 41-52.
9. Bozin B, Mimica-Duki N, Samojlik I, Jovin E, 2007. Antimicrobial andantioxidant properties of rosemary and sage (Rosmarinus officinalis L.and Salvia officinalis L., Lamiaciae) essential oils. Journal of Agricultureand Food Chemistry 55, 7879–7885.
10. Çadirci, E., Suleyman, H., Gurbuz, P., KruuzumUz, A., Guvenalp, Z., Demirezer, L., 2011.Anti-inflammatory effects of different extracts from three *Salvia* species. Turkish Journal of Biology, 35: 1- 6.
11. Chiera, J., Thomas, J., Rufty, T., 2002. Leaf initiation and development in soybean under phosphorus stress. Journal of Experimental Botany, 53: 473–481.
12. Chrysargyris, A., Petropoulos, S.A., Fernandes, A., Barros, L., Tzortzakis, N. and Ferreira, I.C.F.R., 2019. Effect of phosphorus application rate on *Mentha spicata* L. grown in deep flow technique (DFT). Food Chemistry, 276: 84-92.
13. Coisin M, Necula R, Grigora V, Gille E, Rosenhech E, Zamfirache MM, 2012.Phytochemical evaluation of some Salvia species from Romanian flora. Scientific Annals of Alexandru Ioan Cuza University of Iasi. New Series, Section IIa, Vegetal Biology 58 (1), 35–44.
14. Couladis M, Tzakou O, Mimica-Dulic N, Jancic R, Stojanovic D, 2002. Essen-tial oil of Salvia officinalis L. from Serbia and Montenegro. Flavour andFragrance Journal 17, 119–126.
15. Croteau R, Alonso WR, Koepp AE, Johnson MA, 1994. Biosynthesis ofmonoterpenes: partial purification, characterization, and mechanismof action of 1,8-cineole synthase. Archives of Biochemistry and Bio-physics 309, 184–192.
16. Dadkhah, A., Amini Dahaghi, M. and Kafee, M., 2012. Effect of different levels of nitrogen and phosphorus fertilizers on quantitative and qualitative yield of German chamomile (*Matricaria recutita* L.). Iranian Journal of Field Crops Research, 10 (2): 321-326.
17. Dudai N, 2005. Factors affecting content and composition of essential oilsin aromatic plants. In: Dris R (Ed.), Crops Growth, Quality and Biotech-nology. Part III: Quality Management of Food Crops for ProcessingTechnology. WFL Publisher, Helsinki, Finland, pp. 77–90.
18. Dudareva, N., Picheresky, E. and Gershenzone, J., 2004. Biochemistry of plant volatiles. Plant Physiology 4: 1893-1902.
19. Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.M., Nabavi, S.F. and Eslami, B., 2010. Biological activity of *Mentha aquatica*. L. Pharmacology Online, 2(12): 611-619.
20. Emongor, V.E.J.A. and Munav, R.M., 2006. Effect of nitrogen and phosphorus on the essential oil yield and quality of chamomile (*Matricaria chamomilla*) flowers. A research report. Crop Science Department, university of Nairobi, Kenya.
21. Esmaeili, A., Rustaiyan, A., Masoudi, Sh. and Nadji, K., 2006. Composition of the Essential Oils of *Mentha aquatica* L. and *Nepeta meyeri* Benth. from Iran, Journal of Essential Oil Research, 18(3): 263-265.
22. Figueiredo, A. C., Barroso, J.G., Pedro, L.G. and Scheffer, J.J.C., 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils, Flavour and Fragrance Journal, 23(4): 213-226.
23. Ghasemi, A., 2010. Medicinal and Aromatic herbs (Recognition and evaluation of their effects). Shahrekord Islamic Azad University Publish.
24. Grausgruber-Gröger S, Schmiderer C, Steinborn R, Novak J, 2012. Sea-sonal influence on gene expression of monoterpene synthases in Salviaofficinalis (Lamiaceae). Journal of Plant Physiology 169, 353–359.
25. Hajiboland, R., Radpour, E. and Pasbani, B., 2014. Effect of phosphorus deficiency on drought stress tolerance in two tomato (Solanum lycopersum L.) cultivars. Journal of Plant Research, 6(27): 788-803.
26. Hapkins, W.G., 1999. Introductin to plant physiology. Vol 1 and 2, John wiley and Sons, New York.
27. Jamzadeh, Z., 2012. Flora of Iran (Lamiaceae Family). Research Institute of Forests and Rangelands Publishers, 1066 page.
28. Jerkovic, I. and Mastelic, J., 2001. Composition of Free and Glycosidically Bound Volatiles of *Mentha aquatica* L., Croatica Chemica Acta, 74(2): 431-439.

29. Jerkovic, I., Mastelic, J., 2001, Composition of Free and Glycosidically Bound Volatiles of Mentha aquatica L., Croatica Chemica Acta, 74(2): 431-439.
30. Kapoor, R., Ciri, B. and Mukerji, K.G., 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* mill, on mycorrhizal motutation supplement with p fertilizer. Bio Resource Technology, 93: 307-311.
31. Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K., 2002. Improved growth and essential oil yield and quality in *Feoniculum valgare* mill on mycorrhizal inoculation supplemented with p-fertilizer. Bioresource Technology, 93: 307-311.
32. Kelen, M. and Tepe, B., 2008. Chemical composition, and antimicrobial properties of the essential oils of three Salvia species from Turkish flora. Bioresource Technology, 99: 4096-4104.
33. Khorassani, R., Azizi, M. and Rahmani, B., 2013. Study of phosphorus acquisition ability in medicinal plants of *Salvia virgata*, *Achillea millefolium* and *Ziziphora clinopodioides* lam in low phosphorus soils. Journal of Water and Soil, Vol. 26, No. 6, Jan.-Feb. 2013, p. 1483-1491.
34. Kiani, M., Nabavi, M. and Kelarestaghe, K., 2011. Effect of humic acid and phosphorus on flower yield in *Matricaria chamomila*. 2and3- Assistant Prof. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University- Mashhad Branch.
35. Korkmaz, K. and Altıntaş, Ç., 2016. Phosphorus Use Efficiency in Canola Genotypes. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 4(6), 424-430.
36. La Gow, B., 2005. PDR for herbal medicine. 3rd ed. USA: Thamson, 899-901.
37. Mahmodi, R., Tajik, H., Farshid, A., Ehsani, A., Zaree, P. and Moradi, M., 2012. Phytochemical properties of Mentha longifolia L. Essential oil and ITS antimicrobial effects on Staphylococcus aureus. ARMAGHAN DANESH. 16(5(65)), 400-412.
38. Marschner H, Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London (2002).
39. Mazaheri, D. and Majnoon Hoseini, N., 2001. Basic principles of public agriculture. University of Tehran Publisher, 320p.
40. Mohsenpoor, M., Vafadar, M., Mighani, H. and Vatankhah, E. 2017. The impact of the environmental factors on yield and chemical compositions of essential oil of water mint, Mentha aquatica L. Journal of Plant Research, 2(30): 440-451.
41. Nell M, Votsch M, Vierheilig H, Steinkellner S, Zitterl-Eglseer K, Franz C,Novak J, 2009. Effect of phosphorus uptake on growth and secondarymetabolites of garden sage (Salvia officinalis L.). Journal of the Scienceof Food and Agriculture 89, 1090–1096.
42. Nikolova A., Kozhuharova, K., Zheljazkov, V.D. and Craker, L.E., 1999. Mineral nutrition of chamomile (*Chamomilla recutita* L.) K. in Acta horticulturae, 502: 203-208.
43. Omer EA, Abou Hussein E, Hendawy SF, Ezz El-din Azza A, El-Gendy AG,2014. Effect of nitrogen and potassium fertilizers on growth, yield, essential oil and artemisinin of Artemisia annua L. plant. InternationalResearch Journal of Horticulture 2, 11–20.
44. Omidbeygi, R., 2005. Production and processing of medicinal plants (Volume 3). Astan Qods Razavi Publication, Mashhad, Iran. 397pp.
45. Peyvandi, M., Rafati, A. and Mirza, M., 2009. The effect of nitrogen and phosphorus on yield and essential oil of Artemisia annua L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, Vol. 25, No.1.
46. Purnomo, E. and Black, A.S., 1994. Phosphorus fertilizer as affected by time and method of application in soil with acidic subsurface layer. Fertilizer Research, 39: 77-82.
47. Rios-Estepa R, Lange I, Lee JM and Lange BM. Mathematical Modeling-Guided Evaluation of Biochemical, Developmental, Environmental, and Genotypic Determinants of Essential Oil Composition and Yield in Peppermint Leaves. *Plant Physio*. 2010; 152: 2105 - 2119.
48. Rios-Estepa R, Turner GW, Lee JM, Croteau RB and Lange BM. A systems biology approach identifies the biochemical mechanisms regulating monoterpenoid essential oil composition in peppermint. *PNAS*. 2008; 105 (8): 2818 - 2823.
49. Rudresh, D.L., Shivaprakash, M.K. and Prasad, R.D., 2005. Effect of combined application of Rhizobium, phosphatesolubilizing bacterium and Trichoderma spp. on growth, nutrientuptake and yield of chickpea (*Ciceraritenium*L.). Applied Soil Ecology, 28: 139-146.
50. Sá, R.A., Gazim, Z.C., Laverde Jr., A., Caetano, J., Amorin, A.C., Dragunski,

D.C., 2015. Phytoaccumulation and effect of lead on yield and chemical composition of Mentha crispa essential oil. Desalin. Water Treat, http://dx.doi.org/10.1080/19443994.2013.874716.

51. Schaller RG, Schnitzler WH, 2000. Nitrogen nutrition and flavourcompounds of carrots (Daucus carota L.) cultivated in Mitscher-lich pots. Journal of the Science of Food and Agriculture 80,49–56.
52. Smart, R.E. and Bingham, G.E., 1974. Rapid Estimates of Relative Water Content. Plant Physiology, 53: 258-260.
53. Tahami Zarandi, S.M.K., 2010. Assessment of organic, biologic and chemical fertilizers on yield, yield components and essence of basil. M.Sc. dissertation, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University, Mashahad, Iran.
54. Thomas, D.S., Montagu, K.D. and Conroy, J.P., 2006. Leaf inorganic phosphorus as a potential indicator of phosphorus status, photosynthesis and growth of Eucalyptus grandis seedling. Forest Ecology and Management, 223: 267-274.
55. Ticconi, C. A. and Abel, S., 2004 Short on phosphate: plant surveillance and counter measures. Trends in Plant Science, 9: 548-555.
56. Tohidi, Z., Baghizadeh, A. and Enteshari, S. 2017. The Effects of Aluminum and Phosphorous on some of Morphological Characteristics and the concentration of inorganic ions of Brassica napus. Journal of Plant Research, 3(30): 521-530.
57. Yeşil, M., & Kara, K. (2016). The effects of different nitrogen and phosphorus doses on essential oil components of some Mentha genotypes. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 40, 882–893.

Effect of phosphorus deficiency on growth properties and essential oil of *Salvia officinalis* L. and *Mentha aquatica* L.

Masoumeh Kharazmi[1], Nayer Mohammadkhani[2*] and Moslem Servati[2]

[1]MSc student of Medicinal Plants, Shahid Bakeri High Education Center of Miandoab, Urmia University, Urmia, Iran

[2]Assistant Professor, Shahid Bakeri High Education Center of Miandoab, Urmia University, Urmia, Iran

Abstract

Since the ultimate goal in the cultivation of medicinal plants is to achieve secondary metabolites, therefore, recognizing the factors affecting their growth and yield is of particular importance. Phosphorus is one of the macro nutrients and plays an important role in plant growth and essential oil biosynthesis that its deficiency reduces the growth and function of the plant. In order to evaluate the effect of phosphorus deficiency on growth factors and essential oil quality of *Salvia officinalis* L. and *Mentha aquatica* L. an experiment was conducted in a completely randomized design with three replications including phosphorus treatment at two levels of control and phosphorus deficiency on *Salvia officinalis* L. and *Mentha aquatica* L. plants. Phosphorous deficiency caused decrease in growth factors in both plants. Mean comparisons showed that phosphorus deficiency decreased root and shoot length and dry weights in *Salvia* and *Mentha*. Also, relative water content of leaf and leaf area decreased due to phosphorus deficiency in both plants, the decrease was higher in *Salvia*. Phosphorus deficiency increased the content of compounds Alpha and Beta- pinene, 1,8-cineole and Alpha- thujone in *Salvia officinalis* and compounds Pulegone, Limonene and Lavandulyl acetate in *Mentha aquatica*. Phosphorus deficiency also caused the synthesis of new compounds like 3-octanol in essential oil of *Mentha* and Sabinene in *Salvia* and eliminates some of the compounds like Linalooll in *Mentha* and Ledene in *Salvia*. In both plants, phosphorus deficiency increased the essential oil percentage compared to the control. There was a significant positive correlation between shoot dry weight and shoot length ($P<0.01$, $r= 0.875$) and leaf area ($P<0.01$, $r= 0.914$). Therefore, according to the results it seems that P deficiency in a controlled way can increase the essential oil content by increasing the content of some essential oil components in Salvia and *Mentha*.

Preprint Article

Key words: Alpha- thujone, Lamiaceae family, macronutrients, Mentha, phosphorous deficiency, pulegone, Salvia.

Preproof Article