



Evaluation of phytochemical changes in the vegetative and flowering stages of dragonhead (*Dracocephalum kotschy* Boiss) under drought stress conditions

Kiani Soghra¹, Ahmadi Jafar^{2*} , Shiran Behroz³, Fabriki-Ourang Sedigheh⁴, Fallahi Hossein⁵

¹Assistant Professor, Dept. of Agriculture, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran

²Professor, Dept. of Genetics and Plant Breeding, Faculty of Agriculture & Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

³Professor, Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

⁴Associate Professor, Dept. of Genetics and Plant Breeding, Faculty of Agriculture & Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

⁵Associate Professor, Dept. of Biology, School of Sciences, Razi University, Bagh-e-Abrisham Kermanshah, Iran

ABSTRACT INFO

Research Paper

Received: 20 Oct 2025

Accepted: 29 Nov 2025

ABSTRACT

Dragonhead (*Dracocephalum kotschy* Boiss.) is an important medicinal plant native to Iran, which essential oil contains high levels of terpenoid compounds. The biosynthesis of secondary metabolites in medicinal plants is strongly influenced by environmental conditions and abiotic stresses. Among these, drought stress is a key factor that induces biochemical responses and enhances the concentration of various secondary metabolites such as phenolic compounds, terpenes, and nitrogen-containing substances, thereby improving the quality of medicinal plants. This study aimed to evaluate the active components of the essential oil of *D. kotschy* essential oil and to investigate changes in its phytochemical properties under drought stress during two growth stages: vegetative and flowering stages. The experiment was conducted using four irrigation levels (25%, 50%, 75%, and 100% of field capacity) in a factorial arrangement based on a completely randomized design with three replications. Analysis of the essential oil revealed three major compounds R- α -pinene, limonene, and myrcene present in significant amounts at both growth stages. Additionally, four key oxygenated monoterpenes, namely geranyl acetate, geranial, methyl geranate, and neral, were identified in notable quantities. Limonene, one of the major compounds, showed an increase under drought stress during the vegetative stage and a decrease during flowering. Phytochemical analyses indicated that *D. kotschy* produces higher amounts of hydrocarbon monoterpenes during the vegetative stage and oxygenated monoterpenes during the flowering stage. Drought stress resulted in a reduction of hydrocarbon monoterpenes and an increase in oxygenated monoterpenes.

Key words: Limonene, Medicinal plant, Monoterpene, Secondary metabolites.

How to cite this article:

Kiani S, Ahmadi J, Shiran B, Fabriki-Ourang S, Fallahi H. 2025. Evaluation of phytochemical changes in the vegetative and flowering stages of dragonhead (*Dracocephalum kotschy* Boiss) under drought stress conditions. Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants 2 (3): 45-56. (In Farsi)

DOI: 10.30479/armp.2025.22921.1051

©The Author(s).



Publisher: Imam Khomeini International University

ARMP is an open access journal under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

*Corresponding Author Email: j.ahmadi@eng.ikiu.ac.ir



ارزیابی تغییرات فیتوشیمیایی در مراحل رویشی و گلدهی زین گیاه (*Dracocephalum kotschy Boiss.*) تحت شرایط تنش خشکی

صغری کیانی^۱، جعفر احمدی^{۲*} ID، بهروز شیران^۳، صدیقه فابریکی-اورنگ^۴، حسین فلاحي^۵

^۱استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران

^۲استاد، گروه ژنتیک و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین

^۳استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

^۴دانشیار، گروه ژنتیک و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین

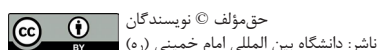
^۵دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، باغ ابریشم کرمانشاه

اطلاعات مقاله	چکیده
علمی-پژوهشی	
دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۲۸	زین گیاه (<i>Dracocephalum kotschy Boiss.</i>) از گیاهان دارویی مهم بومی ایران بوده و اسانس آن حاوی مقادیر زیادی ترکیبات ترپنوئیدی است. بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی به شدت تحت تأثیر فاکتورهای محیطی و تنش‌های غیر زیستی قرار می‌گیرند. تنش خشکی یکی از تنش‌های مهمی است که باعث القا در پاسخ‌های بیوشیمیایی و افزایش غلظت انواع مختلف متابولیت‌های ثانویه، از قبیل ترکیبات فنلی، انواع مختلف ترپن‌ها و مواد حاوی نیتروژن و در نتیجه، افزایش کیفیت گیاهان دارویی می‌شود. این مطالعه با هدف ارزیابی اسانس و بررسی ویژگی‌های فیتوشیمیایی زین گیاه تحت تأثیر تنش خشکی در دو مرحله گلدهی و رویشی انجام شد. آزمایش در چهار سطح آبیاری ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و طی دو مرحله گلدهی و رویشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در آنالیز اسانس زین گیاه از مونوترپن‌های هیدروکربنه، سه ترکیب اصلی و مهم آر-آلفا-پینن، لیمونن و میرسن به مقدار قابل توجهی در هر دو مرحله رشدی شناسایی شدند. از مونوترپن‌های اکسیژنه، چهار ترکیب مهم ژرانیل استات، ژرانیل، متیل‌ژرانات و نرال به مقدار قابل توجهی شناسایی شدند. یکی از ترکیبات مهم شناسایی شده در زین گیاه، لیمونن بود که کاهش میزان آن در مرحله گلدهی و افزایش میزان آن در مرحله رشد رویشی تحت اثر تنش خشکی مشاهده شد. بررسی‌های فیتوشیمیایی نشان داد زین گیاه در مرحله رشد رویشی میزان بیشتری مونوترپن‌های هیدروکربنه و در مرحله گلدهی، مقدار بیشتری مونوترپن‌های اکسیژنه تولید می‌کند و تنش خشکی باعث کاهش مونوترپن‌های هیدروکربنه و افزایش میزان مونوترپن‌های اکسیژنه می‌شود.
پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۰۸	کلمات کلیدی: گیاه دارویی، لیمونن، متابولیت‌های ثانویه، مونوترپن.

استناد به این مقاله

Kiani S, Ahmadi J, Shiran B, Fabriki-Ourang S, Fallahi H. 2025. Evaluation of phytochemical changes in the vegetative and flowering stages of dragonhead (*Dracocephalum kotschy Boiss*) under drought stress conditions. Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants 2 (3): 45-56. (In Farsi)

DOI: 10.30479/armp.2025.22921.1051



مقدمه

بادرنجبویه دنیایی یا زرین گیاه با نام علمی *Dracocephalum kotschyi* Boiss از گیاهان خانواده نعنائیان (Lamiace)، با فرمول ژنومی $2n=2x=20$ گیاهی دارویی، علفی، چند ساله و معطر است که بومی ایران بوده و در رویشگاه‌های طبیعی کوهستانی در ارتفاعات ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ متری رشته‌کوه‌های البرز و زاگرس یافت می‌شود (Asadi and Khoshnoud, 2010; Fattahi et al., 2013; Salehi et al., 2015). این گیاه به علت دارا بودن اسانس زیاد به‌عنوان گیاه دارویی مورد توجه است؛ اما به دلیل محدود بودن نواحی انتشار، برداشت بی‌رویه و وجود نداشتن گیاهان اهلی و زراعی، از گونه‌های در حال انقراض است. با توجه به تعداد کم این گونه گیاهی و در معرض انقراض بودن آن در زیستگاه‌های طبیعی، حفاظت این گیاه، اصلاح و اهلی کردن آن ضروری است. قسمت‌های هوایی این گیاه در طب سنتی استفاده می‌شود و چاشنی مناسبی برای عطر و طعم چای و لبنیات است. مطالعات فارماکولوژی، خواص دارویی این گیاه را تأیید کرده است. به‌تازگی گزارش‌هایی در مورد جلوگیری از رشد تومورها و تنظیم سیستم ایمنی بدن برای این گونه گیاهی گزارش شده است (Fattahi et al., 2016). اندام‌های هوایی این گیاه منبع فلاونوئیدهای ارزشمند و اسانس است و بذر آن غنی از اسیدهای لینولئیک، اولئیک و لینولئیک است (Salehi et al., 2015). انواع مختلفی از متابولیت‌های ثانویه شامل مونوترپن‌ها، ترپنوئیدها و فلاونوئیدها همراه با ترکیبات فنلی و رزمارینیک اسید، از اندام‌های هوایی آن استخراج شده است. میزان اسانس و ترکیبات فلاونوئیدی در مراحل فنولوژیکی مختلف این گیاه متفاوت است. این گیاه بیشترین مقدار اسانس را در مرحله گلدهی و حداکثر مقدار فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنلی را در مرحله میوه‌دهی دارا است. در ضمن، گیاهانی که رشد کمتری دارند، سطح بالاتری از فلاونوئیدها را دارا هستند. ژنوتیپ‌هایی از این گیاه که در مناطق نیمه‌خشک رشد می‌کنند دارای شاخص‌های رشد پایین و محدودتری بوده و با این وجود، میزان رزمارینیک اسید و فلاونوئیدهای آن‌ها بیشتر است (Fattahi et al., 2013; Fattahi et al., 2016). وجود ترکیب فلاونوئیدی به نام زانتومیکرول^۱ در برگ‌های زرین گیاه گزارش شده است که این ترکیب مسئول اصلی خاصیت ضد سرطانی در این گیاه است. ترکیب اصلی دیگر شناخته‌شده در این گیاه،

رزمارینیک اسید^۲ است که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان، ضد ویروس، ضد التهاب و ضد تومور است (Kamali et al., 2016). شناسایی منطقه کشت مناسب و ارزیابی تأثیر عوامل محیطی می‌تواند به انتخاب بهترین شرایط برای تولید تجاری این گیاه کمک کند (Zamani et al., 2025). بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی و معطر به‌طور معمول تحت تأثیر ژنوتیپ آن‌ها است؛ ولی این ترکیبات به‌شدت تحت تأثیر فاکتورهای محیطی نیز قرار می‌گیرند و تنش‌های زیستی و غیر زیستی، پارامترهای رشد، میزان اسانس و ترکیبات آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Khorasaninejad et al., 2011). در تنش‌های غیر زیستی، تنش خشکی یکی از تنش‌های مهمی است که به‌طور دوره‌ای در بعضی از مراحل رشد یا به‌طور دائمی در تمامی مراحل رشد گیاه اتفاق افتاده و رشد و تولید گیاهان را محدود می‌کند. تنش خشکی به‌طور معمول زمانی اتفاق می‌افتد که آب قابل استفاده در خاک کاهش می‌یابد و شرایط اتمسفری باعث از دست دادن آب از طریق تبخیر می‌شود (Jaleel et al., 2009). دوره زمانی و تعداد دفعاتی که تنش خشکی اتفاق می‌افتد، خصوصیات خاک و بسیاری از فاکتورهای دیگر تحمل گیاه را به خشکی تحت تأثیر قرار می‌دهند و ژنوتیپ‌های مختلف ممکن است پاسخ متفاوتی به تنش خشکی داشته باشند (Saeedfar et al., 2015). تنش خشکی باعث القای تعدادی از پاسخ‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی، از قبیل کاهش اندازه برگ، رشد ساقه، افزایش رشد ریشه، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش نرخ رشد، تجمع ترکیبات محلول و آنتی‌اکسیدان‌ها و فعال کردن تعدادی از آنزیم‌ها می‌شود (Hughes et al., 1989). در شرایط کمبود آب و شدت نور زیاد، روزنه‌های گیاهان بسته شده و میزان CO_2 در گیاه کاهش می‌یابد. در نتیجه، تثبیت CO_2 از طریق چرخه کالوین کم می‌شود. کاهش تثبیت CO_2 منجر به کاهش مصرف و افزایش بیش از حد NADPH شده و در نتیجه، همه فرایندهای متابولیکی گیاه به سمت ساختن ترکیباتی که عمدتاً کاهش یافته‌اند، مانند ایزوپروپونوئیدها، فنل‌ها و آلکالوئیدها، هدایت می‌شوند و همین امر منجر به تقویت کیفیت تولیدات گیاهی و دارویی می‌شود (Selmar et al., 2013a; Selmar et al., 2013b)؛ بنابراین، با وجود اینکه تنش خشکی عموماً به‌عنوان فاکتوری منفی مسئول کاهش شدید محصولات کشاورزی است، در گیاهان دارویی و ادویه‌ای وضعیت متفاوت است. در این گیاهان، خشکی

^۱ Xanthomicrol^۲ Rosmarinic acid

مناطق زیادی از ایران در اقلیم خشک و نیمه‌خشک و نقش مهم تنش خشکی در سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی، این تحقیق به منظور مطالعه تغییرات خصوصیات فیتوشیمیایی در زربین گیاه تحت تأثیر تنش خشکی طی دو مرحله گلدهی (زایشی) و رویشی و به منظور بهره‌برداری از شرایط تنش خشکی و کمبود آب جهت افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه این گیاه انجام شده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی، نحوه اجرای طرح آزمایش و تیمارهای تنش

در این مطالعه، بذره‌های یک توده محلی از زربین گیاه از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد. این بذرها از منطقه حنای سمیرم اصفهان جمع‌آوری شده بودند و در چهار سطح آبیاری در دو مرحله رشدی مورد مطالعه قرار گرفتند. آزمایش درون‌گلدان در گلخانه دانشگاه شهرکرد به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل دو مرحله رشدی رویشی و زایشی و فاکتور دوم، چهار تیمار آبیاری شامل آبیاری بدون اعمال تنش (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی)، تنش ملایم (۷۵٪ ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰٪ ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۵٪ ظرفیت زراعی) خشکی بودند. شرایط گلخانه دارای دمای روزانه/ شبانه $18 \pm 1/25 \pm 1$ درجه سلسیوس و رطوبت هوای ۷۰٪ بود.

نمونه‌گیری و آنالیز ترکیبات فرار اسانس زربین گیاه

در این مطالعه، ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس زربین گیاه و مقدار آن‌ها در دو مرحله رشدی رویشی و زایشی و چگونگی تغییر ترکیبات اسانس در شرایط رطوبتی شاهد و سطوح مختلف تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، نمونه‌برداری از بافت برگ گیاهان به سه روش مختلف انجام شد. در هر سه روش یک هفته پس از اعمال تنش، در مرحله رویشی و زایشی نمونه‌برداری از برگ‌های گیاهان انجام شد. در روش اول پس از نمونه‌برداری، نمونه‌های تهیه‌شده بلافاصله درون نیتروژن مایع به آزمایشگاه منتقل شده و درون یخچال -80°C درجه سلسیوس نگهداری و سپس آنالیز ترکیبات اسانس در این نمونه‌های تازه به روش فضای فوقانی با استفاده از دستگاه GC/MS انجام شد. در روش دوم پس از اعمال تنش و نمونه‌گیری از گیاهان، نمونه‌های تهیه‌شده در سایه و دمای اتاق خشک و در پاکت‌های کاغذی نگهداری شده و آنالیز

به صورت کمبود آب به طور مستقیم یا غیر مستقیم از طریق القای تنش با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد، موجب افزایش غلظت انواع مختلف متابولیت‌های ثانویه، از قبیل ترکیبات فنلی، انواع مختلف ترپن‌ها و مواد حاوی نیتروژن از قبیل آلکالوئیدها، سیانوزنیک گلائیکوزیدها و گلوکوسینولیت‌ها و در نتیجه، افزایش کیفیت این محصولات شده است (Kleinwächter *et al.*, 2015) و البته در مواردی نیز می‌تواند باعث کاهش تولید آن‌ها شود (Khorasaninejad *et al.*, 2011). با این حال، با توجه به اینکه تنش خشکی موجب کاهش تولید بیوماس گیاهان دارویی و ادویه‌ای می‌شود، تأکید ویژه‌ای بر تداخل این دو تأثیر مرتبط با تنش خشکی وجود دارد (Kleinwächter *et al.*, 2015). با توجه به این موضوع که گیاهان دارویی مناطق نیمه‌خشک به طور معمول نسبت به گونه‌هایی که در شرایط آب و هوایی معتدل زندگی می‌کنند، غلظت بالاتری از ترکیبات ثانویه و مواد فرار دارند، امروزه اطلاعات کمی در زمینه‌های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی این پدیده وجود دارد (Akula *et al.*, 2011; Selmar *et al.*, 2013a; Selmar *et al.*, 2013b; Kleinwächter *et al.*, 2014)؛ بنابراین، بررسی‌های فیتوشیمیایی بیشتر در مورد مکانیسم افزایش و یا کاهش ترکیبات فرار و متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر تنش خشکی ضرورت دارد.

برای ارزیابی مواد مؤثر و اسانس گیاهان دارویی از روش‌های کروماتوگرافی استفاده می‌شود. یکی از روش‌های کروماتوگرافی، کروماتوگرافی گازی^۳ است که برای بررسی و جداسازی مواد فرار بدون تجزیه شدن آن‌ها به کار می‌رود (Ghoreishi and Golestaneh, 2014). با وجود مطالعات متعددی که با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی به منظور شناسایی ترکیبات فرار و متابولیت‌های ثانویه طی شرایط تنش خشکی در گیاهان دارویی مختلف از جمله نعنا (Khorasaninejad *et al.*, 2011)، مرزه، نعنا فلفلی، بادرنجبویه و آویشن (Nemeth-Zambori *et al.*, 2016)، انجام شده است و همچنین با وجود ترکیبات فرار و متابولیت‌های ثانویه مهم موجود در زربین گیاه (Fattahi *et al.*, 2016; Golparvar *et al.*, 2016; Ashrafi *et al.*, 2017; Samadi *et al.*, 2018)، هنوز مطالعه جامعی به منظور شناسایی ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه این گیاه تحت تأثیر شرایط تنش خشکی انجام نشده است.

با توجه به تأثیر بسیار زیاد تنش خشکی بر گیاهان و قرارگیری

³ Gas chromatography

و ترجیحاً برای نمونه‌هایی که نمی‌توان به‌طور مستقیم به دستگاه تزریق کرد، از این روش استفاده می‌شود (Baser and Buchbauer, 2015). به‌منظور شناسایی ترکیبات حاصل از تجزیه ترکیبات توسط دستگاه GC/MS، نیاز به محاسبه شاخص بازداری کوآتس است که از رابطه ۱ استفاده شد (Rezaei and Jaymand, 2006).

$$I = 100 \times \left[n + \frac{tr(un\ known - tr(n))}{tr(N) - tr(n)} \right] \quad (1)$$

که در آن:

I: شاخص بازداری کوآتس

n: تعداد کربن در آلکان کوچک‌تر

N: تعداد کربن در آلکان بزرگ‌تر

tr: زمان بازداری، تجزیه و تحلیل‌های آماری است.

برای تجزیه و تحلیل‌های آماری و رسم نمودارها، از نرم‌افزارهای SAS Ver 9.2، Minitab 16 و Excel 2000 استفاده و مقایسه میانگین‌ها به روش توکی انجام شد.

نتایج و بحث

مقایسه ترکیبات فرار زرین‌گیا در دو مرحله زایشی و رویشی

آنالیز ترکیبات فرار (اسانس) زرین‌گیا توسط دستگاه GC/MS به روش فضای فوقانی، ۲۳ ترکیب در این گیاه را شناسایی کرد (جدول ۱) که از این تعداد، ۱۴ ترکیب در هر دو دوره رشدی وجود داشتند؛ اما مقدار این ترکیبات در دو دوره رشدی رویشی و زایشی متفاوت بودند (جدول ۲). بیشترین ترکیبات شناسایی‌شده در این بررسی در هر دو مرحله رشدی از دسته ترکیبات مونوترپن بودند (جدول ۱). در دوره رشد رویشی، ۸۳٪ درصد مونوترپن‌های هیدروکربنه، ۱۳٪ درصد مونوترپن‌های اکسیژنه و ۳٪ درصد سایر ترکیبات و در دوره گلدهی، ۷۰٪ درصد مونوترپن‌های هیدروکربنه، ۲۲٪ درصد مونوترپن‌های اکسیژنه و ۶٪ درصد سایر ترکیبات، مشاهده شد (جدول ۲). در توافق با نتایج این تحقیق، Jalali و همکاران (۲۰۱۵) نیز مهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در زرین‌گیا را مونوترپن‌های هیدروکربنه و اکسیژنه گزارش کرده بودند. در این رابطه، Ashrafi و همکاران (۲۰۱۷) بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه را به‌دلیل حضور ترکیبات مونوترپنه گزارش کردند.

ترکیبات اسانس در این نمونه‌های خشک‌شده به روش فضای فوقانی توسط دستگاه GC/MS انجام شد. در روش سوم، ابتدا از نمونه‌های خشک‌شده در سایه توسط دستگاه کلونجر اسانس استخراج و سپس آنالیز اسانس با تزریق اسانس به دستگاه GC/MS انجام شد. در نهایت، روش تزریق نمونه تازه به دستگاه GC/MS و آنالیز اسانس به روش فضای فوقانی که بیشترین تعداد ترکیبات را با درصد بیشتر شناسایی کرده بود، انتخاب و آنالیز ترکیبات اسانس سایر تیمارهای آزمایش به این روش انجام شد.

آنالیز ترکیبات اسانس در این مطالعه در پژوهشگاه دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان (واحد خوراسگان) توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) اجیلنت ۷۸۹۰ و طیف‌سنج جرمی (MS) اجیلنت ۵۷۶۳ انجام شد. ستون HP-5MS (پنج درصد قطبی) به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر برای جداسازی استفاده شد. دمای آون با سه دقیقه توقف در ۴۰ درجه سلسیوس تا ۷۰ درجه سلسیوس با سرعت ۷ درجه سلسیوس در دقیقه، با ۵ دقیقه توقف تا ۲۰۰ درجه سلسیوس با سرعت ۷ درجه سلسیوس در دقیقه و در نهایت تا ۲۹۰ درجه سلسیوس با سرعت ۴۰ درجه سلسیوس در دقیقه با ده دقیقه توقف، برنامه‌ریزی شد. دمای اتاق تزریق، ۲۹۰ درجه سلسیوس و از گاز هلیوم با سرعت جریان ۱/۲ میلی‌لیتر بر دقیقه به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. ولتاژ منبع یونیزاسیون طیف‌سنج جرمی ۷۰ الکترون ولت، دمای منبع یونیزاسیون ۲۳۰ درجه سلسیوس و دمای چهار قطبی ۱۵۰ درجه سلسیوس تنظیم و روش یونیزاسیون EI انتخاب شد. محدوده اسکن طیف‌ها از ۵۰ تا ۵۵۰ دالتون تنظیم شد. جهت شناسایی و تأیید طیف‌ها، شاخص بازداری (RI) آن‌ها با استفاده از طیف‌های جرمی مخلوط الکان‌های نرمال محاسبه (Kovats, 1958) و شاخص‌های موجود در کتاب‌های مرجع (Adams, 2007) و اطلاعات موجود در کتابخانه‌های Weilly و NIST، مورد استفاده قرار گرفت. درصد هر یک از ترکیبات نیز با توجه به سطح زیر منحنی طیف کروماتوگرام به‌دست آمده از دستگاه GC/MS محاسبه شد.

یکی از روش‌های بسیار پرکاربرد برای آنالیز ترکیب‌های اسانس توسط GC/MS، به‌خصوص برای گیاهانی که ترکیبات بسیار سبک و فرار در آن‌ها فراوان است، روش فضای فوقانی (Head space) است. در این روش، ترکیب‌های فرار از ماده جامد یا مایع به‌وسیله کروماتوگرافی گازی جداسازی می‌شوند

جدول ۱- آنالیز ترکیبات فرار زربین گیاه توسط دستگاه GC/MS به روش فضای فوقانی

KI Cal.	KI internet	RT	زیرگروه شیمیایی	فرمول شیمیایی	ترکیب
۹۳۸	۹۳۷	۱۵٫۹	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	R- α -pinene
۹۵۶	۹۵۶	۱۶٫۵	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	camphene
۹۵۷	۹۵۷	۱۶٫۶	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	α -pinene
۹۷۹	۹۷۸	۱۷٫۴	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	sabinene
۹۸۵	۹۸۵	۱۷٫۶	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	β -pinene
۹۹۲	۹۹۲	۱۷٫۹	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	Myrcene
۱۰۱۵	۱۰۱۶	۱۸٫۶	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	α -phellandrene
۹۲۵	۹۲۵	۱۸٫۷	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	α -Thujene
۱۰۴۰	۱۰۴۰	۱۹٫۵	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	Limonene
۱۰۴۳	۱۰۴۳	۱۹٫۶	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	β -phellandrene
۱۰۵۰	۱۰۵۰	۱۹٫۸	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	(E)- β -Ocimene
۱۰۵۶	۱۰۵۶	۲۰٫۴	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	α -terpinene
۱۰۶۹	۱۰۶۹	۲۰٫۴	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	γ -Terpinene
۱۰۹۷	۱۰۹۷	۲۱٫۴	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	Terpinolene
۱۱۲۴	۱۱۲۴	۲۲٫۳	Monoterpene Hydrocarbons	C ₁₀ H ₁₆	Allo-Ocimene
۱۱۲۲	۱۱۲۲	۲۲٫۲	Oxygenated Monoterpenes	C ₁₀ H ₁₈ O	Linalool
۱۲۵۴	۱۲۵۴	۲۶٫۳	Oxygenated Monoterpenes	C ₁₀ H ₁₈ O	nerol
۱۲۵۶	۱۲۵۶	۲۶٫۳	Oxygenated Monoterpenes	C ₁₀ H ₁₆ O	Neral
۱۲۸۰	۱۲۸۰	۲۷٫۱	—	—	Isoborneol acetate
۱۲۸۵	۱۲۸۷	۲۷٫۲	Oxygenated Monoterpenes	C ₁₀ H ₁₆ O	Geranial
۱۳۳۱	۱۳۳۱	۲۸٫۵	Oxygenated Monoterpenes	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	Methyl geranate
۱۳۶۱	۱۳۶۲	۲۹٫۴	Oxygenated Monoterpenes	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	cis- Geranyl acetate
۱۳۸۲	۱۳۸۲	۲۹٫۹	Oxygenated Monoterpenes	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	Geranyl acetate

مهم‌ترین ترکیبات شناسایی شده در این گیاه، در هر دو دوره رشدی آر-آلفا-پینن ((R)- α -pinene) با ۵۱٫۹۳ درصد در دوره رشد رویشی و ۴۳٫۸۵ درصد در دوره زایشی و لیمونن (Limonene) با ۲۰٫۵۷ درصد در دوره رشد رویشی و ۱۳٫۴۱ درصد در دوره گلدهی بودند؛ البته مقدار هر دوی این ترکیبات در دوره رشد رویشی بیشتر از دوره گلدهی بود. در بررسی‌های انجام شده توسط Sonboli و همکاران (۲۰۱۸)، Ashrafi و همکاران (۲۰۱۷)، Samadi و همکاران (۲۰۱۸)، Golparvar و همکاران (۲۰۱۶)، مفاخری و همکاران (۱۳۹۷)، Jalaei و همکاران (۲۰۱۵)، قوامی و همکاران (۲۰۲۱) و آروین و فیروزه (۱۴۰۲)، لیمونن یکی از مهم‌ترین ترکیبات شناسایی شده در این گیاه گزارش شده است. لیمونن یکی از مهم‌ترین مونوترپن‌های حلقوی است که در تعداد زیادی از گیاهان مانند نعنا، پرتقال و

لیمو شناسایی شده است و حتی با استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک نیز این ترکیب مهم به دلیل استفاده‌های صنعتی زیادی که دارد، در میکرو ارگانیسم‌ها تولید می‌شود (Jongedijk, 2016). Jalaei و همکاران (۲۰۱۵) نیز جمعیتی از زربین گیاه را از مرکز ایران (منطقه خوانسار اصفهان) مورد مطالعه قرار دادند که در آن ترکیبات لیمونن و لیمونن ۱۰-ال به مقدار فراوانی یافت شد که در مطالعات قبلی، حضور این ترکیبات با این درصد بالا گزارش نشده بود. جمعیت‌هایی که قبلاً مورد مطالعه قرار گرفته بودند، از نواحی شمال و شمال شرق ایران بودند. در مطالعه حاضر نیز جمعیت مورد مطالعه از نواحی مرکز ایران (سمیرم اصفهان) جمع‌آوری شدند که دارای درصد بالایی از لیمونن و آر-آلفا-پینن بودند. تفاوت در ترکیبات فرار در زربین گیاه می‌تواند به دلیل تفاوت‌های ژنتیکی، شرایط آب و هوایی،

جدول ۲- مقایسه ترکیبات فرار زرین‌گیا تحت تنش خشکی در دو مرحله رشد رویشی و گلدهی

ترکیب	مرحله گلدهی	مرحله رشد رویشی
Allo-Ocimene	±0d	±0e
α-phellandrene	0.16±0.16d	0.42±0.14e
α-pinene	0.16±0.16d	±0e
α-terpinene	±0d	±0e
α-Thujene	0.11±0.11d	±0e
β-phellandrene	3.7±2.7cd	±0e
β-pinene	0.78±0.26d	0.65±0.05e
camphene	±0d	0.41±0.08e
cis-Geranyl acetate	0.27±0.27d	0.07±0.07e
(E)-β-Ocimene	±0d	0.12±0.12e
Geranial	8.07±3.44bc	3.45±0.26cde
Geranyl acetate	8.1±4.8bc	6.13±0.7cd
γ-Terpinene	0.29±0.11d	0.18±0.1e
Isoborneol acetate	±0d	±0e
Limonene	13.45±0.47b	20.57±4.9b
Linalool	0.61±0.08d	0.56±0.02e
Methyl geranate	3.18±1.33cd	2±0.16e
Myrcene	6.61±1.37cd	6.99±0.51c
Neral	5.63±1.88cd	2.71±0.17de
nerol	±0d	±0e
(R)-α-pinene	43.85±0.9a	51.93±4.47a
sabinene-(β-Thujene)	1.57±0.53d	1.08±0.11e
Terpinolene	0.59±0.21d	0.84±0.09e
Unknown	2.13±0.87cd	0.41±0.41e
Unknown	0.53±0.22d	0.87±0.09e
Unknown	0.28±0.16d	0.45±0.09e
Unknown	0.07±0.07d	±0e
Unknown	±0d	±0e
Unknown	±0d	0.05±0.05e
Unknown	±0d	0.1±0.1e
Hydrocarbon Monoterpenes	70.84%	83.01%
Monoterpenes Oxygenated	22.7%	13.03%
others	6.46	3.95

میانگین‌های با حروف یکسان در هر ستون، اختلاف آماری معنی‌داری باهم ندارند.

شرایط اکولوژیکی، زمان برداشت گیاه و مرحله نموی گیاه باشد (Jalaei et al., 2015; Sonboli et al., 2018). دیگر ترکیبات مهم شناسایی‌شده در این گیاه در هر دو دوره رشدی عبارت بودند از: میرسن (Myccene) با ۶.۹۹٪ در دوره رشد رویشی و ۶.۶۱٪ در دوره گلدهی، ژرانیل استات (Geranyl acetate) با ۶.۱٪ در دوره رشد رویشی و ۸.۱٪ در دوره گلدهی، ژرانیل (Geranial) با ۳.۴۵٪ در دوره رشد رویشی و ۸.۰۷٪ در دوره گلدهی، نرال (Neral) با ۲.۷۱٪ در دوره رشد رویشی و ۵.۶۳٪ در دوره گلدهی، متیل ژرانات (Methyl geranate) با ۲٪ در دوره رشد رویشی و ۳.۱۸٪ در دوره گلدهی و سابینن (β-sabinene) با ۱.۰۸٪ در دوره رشد رویشی و ۱.۵۷٪ در دوره گلدهی. همان‌طور که مشاهده می‌شود، مقدار این ترکیبات در دوره گلدهی بیشتر از دوره زایشی بود. در توافق با نتایج این تحقیق، Fattahi و همکاران (۲۰۱۶) نیز متیل ژرانات را یکی از مهم‌ترین ترکیبات موجود در دوره گلدهی گزارش کرده بودند. ترکیبات مهم دیگری مانند آلفا-پنین (α-pinene) با ۰.۱۶٪، آلفا توجون (α-Thujene) با ۰.۱۱٪ و بتا-فلاندرن (β-phellandrene) با ۳.۶۶٪ فقط در دوره گلدهی و کامفن (camphene) با ۰.۴۱٪ و ای‌بتا-اسیمن (E)-β-Ocimene) با ۰.۱۲٪ فقط در دوره رشد رویشی، مشاهده شدند. در این مطالعه، در دوره گلدهی، ۹۶.۹۹٪ و در دوره رشد رویشی، ۹۸.۱۱٪ ترکیبات شناسایی شدند. غلظت ترکیبات ناشناخته در دوره گلدهی، ۳.۰۱٪ و در دوره زایشی، ۱.۸۸٪ و تعداد ترکیبات شناسایی‌شده در دوره گلدهی، ۱۷ ترکیب و در دوره رشد رویشی، ۱۶ ترکیب بود.

نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت ترکیبات شناسایی‌نشده در دوره گلدهی بیشتر از دوره رشد رویشی است؛ اما از نظر تعداد ترکیبات شناسایی‌شده، تعداد ترکیبات شناسایی‌شده در دوره گلدهی بیشتر از دوره رشد زایشی بود (جدول ۲). افزایش تعداد ترکیبات و غلظت تعدادی از آن‌ها در دوره گلدهی در گیاهان معطر و به‌خصوص گیاهانی که دگر گرده‌افشان هستند، می‌تواند به دلیل جذب گرده‌افشان‌ها به‌منظور جذب گرده در این دوره رشدی و همچنین افزایش بیوسنتز این ترکیبات، عاملی دفاعی در برابر علف‌خواران باشد (Fattahi et al., 2016). کاهش تعداد ترکیبات شناسایی‌شده و غلظت تعدادی از آن‌ها در دوره رشد رویشی می‌تواند به دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های بیوسنتز این ترکیبات در این دوره رشدی باشد (Sellami et al., 2009). معمولاً سن برگ تأثیر معنی‌داری بر محتوای اسانس دارد (James and Bell, 1995). تولید و تجمع اسانس به مقدار

زیادی تحت تأثیر فیزیولوژی گیاه قرار دارد و بنابراین، به مرحله نمو آن وابسته است (Sangwan *et al.*, 2001)؛ علاوه بر این، متابولیت‌های ثانویه گوناگونی در طول فرایند رشد یا در اندام‌های مختلف و یا در همان اندام در مراحل مختلف رشدی، سنتز می‌شوند (Kanerla *et al.*, 2012). برخی گزارش‌ها نشان می‌دهد که تفاوت در ترکیب اسانس با سن برگ در ارتباط است (Gershenzon *et al.* 2000; Santos-Gomes *et al.*, 2005). Argypoulou و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده کردند که مراحل مختلف رشدی به‌لیمو (*Lippia citridora*) به‌طور معنی‌داری بر درصد ژرانیال، نرال و لیمون برگ‌ها مؤثر بوده است. Li و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که برای به‌دست آوردن اسانس با کیفیت بالا در گیاه دارچین (*Cinnamomum verum*)، پوست شاخه‌های یک و دو ساله باید به‌عنوان ماده خام مورد استفاده قرار بگیرد. در این بررسی مشخص شده است که مراحل فنولوژیکی تأثیر قابل توجهی بر پروفایل ترکیبات فرار و فنلی این گیاه دارد. در بررسی‌های انجام‌شده توسط Fattahi و همکاران (۲۰۱۶)، تأثیر مراحل فنولوژیکی مختلف بر میزان اسانس در زردین گیاه مشخص شده است. در این بررسی مشخص شده است که مراحل فنولوژیکی تأثیر قابل توجهی بر پروفایل ترکیبات فرار این گیاه دارد. در این مطالعه، آنالیز GC-MS، ۱۵ ترکیب مختلف را در ترکیبات فرار این گیاه مشخص کرده است. مهم‌ترین ترکیب شناسایی‌شده در بررسی Fattahi و همکاران (۲۰۱۶)، ای-بتا-اسیمن بود که مقدار آن در مراحل فنولوژیکی مختلف متفاوت بود و دیگر ترکیبات مهم شناسایی‌شده در این گیاه در مراحل فنولوژیکی مختلف شامل نرال در مرحله رشد رویشی و ژرانیال، متیل‌ژرانات و ژرانیول در مرحله گلدهی و آلفا-پینن، ژرانیال و ژرانیول در مرحله میوه‌دهی بودند. کاظم‌پور و همکاران (۲۰۲۴) در برگ‌ها و گل‌های زردین گیاه، به‌ترتیب ۶ و ۱۹ ترکیب شیمیایی مختلف را شناسایی کردند که در این مطالعه، لیمون به‌عنوان یکی از ترکیبات اصلی در برگ و گل این گیاه گزارش شد. آن‌ها همچنین بیان کردند با وجود برخی شباهت‌ها در ترکیبات گزارش‌شده در تجزیه و تحلیل‌های مختلف، نمونه‌های به‌دست آمده از مناطق مختلف ایران، تفاوت‌های کیفی و کمی قابل توجهی را نشان می‌دهند.

مقایسه ترکیبات فرار زردین گیاه در شرایط رطوبتی نرمال و سطوح مختلف تنش خشکی

همان‌طور که نتایج این تحقیق نشان داد، مهم‌ترین ترکیبات شناسایی‌شده در زردین گیاه در هر دو مرحله رشدی رویشی و

گلدهی، دو ترکیب آر-آلفا-پینن و لیمون بودند. با توجه به نتایج جدول ۳، میزان ترکیب آر-آلفا-پینن تحت شرایط تنش ملایم خشکی (۷۵٪FC) نسبت به گیاهان شاهد (۱۰۰٪FC)، افزایش بسیار کمی (حدود ۱/۱۲ درصد) نشان داده است. با افزایش شدت تنش در حد تنش متوسط (۵۰٪FC)، میزان این ترکیب نسبت به گیاهان شاهد به مقدار ۴/۵۱ درصد افزایش نشان داد؛ اما میزان این ترکیب در شرایط تنش خشکی شدید (۲۵٪FC) به مقدار ۱۸/۰۶ درصد کاهش نشان داده است. دومین ترکیب مهم شناسایی‌شده در این گیاه در هر دو دوره رشدی، لیمون بود. میزان ترکیب لیمون تحت شرایط تنش ملایم خشکی (۷۵٪FC) نسبت به گیاهان شاهد (۱۰۰٪FC) به میزان ۱/۷۵٪ افزایش نشان داد. با افزایش شدت تنش در حد تنش متوسط (۵۰٪FC)، میزان این ترکیب نسبت به گیاهان شاهد ۰/۳۸٪ کاهش و با افزایش شدت تنش خشکی در شرایط تنش خشکی شدید (۲۵٪FC) میزان لیمون به مقدار ۲/۱۶٪ کاهش نشان داد (جدول ۳). از دیگر ترکیبات مهم شناسایی‌شده در این گیاه در هر دو دوره رشدی می‌توان به میرسن اشاره کرد. میزان میرسن تحت شرایط تنش ملایم خشکی (۷۵٪FC) نسبت به گیاهان شاهد (۱۰۰٪FC) به میزان ۰/۶۵٪ کاهش نشان داد. با افزایش شدت تنش در حد تنش متوسط (۵۰٪FC)، میزان این ترکیب نسبت به گیاهان شاهد به مقدار ۰/۱۳٪ افزایش داشته است که این تغییرات چندان قابل توجه نیست؛ اما با افزایش شدت تنش خشکی در شرایط تنش خشکی شدید (۲۵٪FC)، میزان این ترکیب به مقدار ۳/۸۳٪ کاهش نشان داد. لیمون، آر-آلفا-پینن و میرسن، هر سه از دسته ترکیبات مونوترپن هیدروکربنه بوده و همان‌طور که مشاهده شد، تنش خشکی شدید (۲۵٪FC) باعث کاهش هر سه ترکیب مهم در این گیاه شده است؛ بنابراین، به‌منظور کاهش نداشتن این ترکیبات برای بهره‌برداری دارویی از آن‌ها و صرفه‌جویی در مصرف آب، آبیاری این گیاه در حد ۵۰٪ ظرفیت زراعی مطلوب است. در بررسی‌های انجام‌شده توسط مفاخری و همکاران (۱۳۹۷) نیز تنش خشکی در حد ۶۰ درصد ظرفیت زراعی باعث افزایش لیمون در این گیاه شده است.

دیگر ترکیبات مهم شناسایی‌شده در این گیاه، ژرانیل استات، ژرانیال، متیل‌ژرانات و نرال بودند. همه این ترکیبات از دسته ترپن‌های اکسیژنه هستند. تغییرات مقدار هر چهار ترکیب در سطوح مختلف تنش خشکی روند کاملاً مشابهی نشان دادند. میزان ترکیب ژرانیل استات تحت شرایط تنش ملایم خشکی (۷۵٪FC) نسبت به گیاهان شاهد (۱۰۰٪FC)، افزایش بسیار

جدول ۳- مقایسه میانگین به روش توکی ترکیبات فرار زرين گیاه در شرایط رطوبتی نرمال و سطوح مختلف تنش خشکی

ظرفیت زراعی خاک				ترکیب
٪۱۰۰FC	٪۷۵FC	٪۵۰FC	٪۲۵FC	
±۰g	±۰d	±۰g	±۰d	Allo-Ocimene
۰٫۶۱±۰٫۰۳g	۰٫۲۵±۰٫۲۵d	۰٫۳±۰٫۰۳g	±۰d	α-phellandrene
±۰g	±۰d	۰٫۳۳±۰٫۰۳g	±۰d	α-pinene
±۰g	±۰d	±۰g	±۰d	α-terpinene
±۰g	±۰d	۰٫۲۱±۰٫۰۲g	±۰d	α-Thujene
±۰g	۵٫۷۲±۵٫۷۲bcd	±۰g	۱٫۵۹±۱٫۵۹d	β-phellandrene
۰٫۶۵±۰٫۰۱fg	۰٫۹۵±۰٫۰۳d	۰٫۷۸±۰٫۰۱fg	۰٫۲۶±۰٫۰۲d	β-pinene
۰٫۲۱±۰٫۰۲g	۰٫۲۸±۰٫۰۲d	۰٫۲۴±۰٫۰۲g	۰٫۱±۰٫۰۱d	camphene
±۰g	±۰d	±۰g	۰٫۶۹±۰٫۰۴d	cis-Geranyl acetate
۰٫۲۴±۰٫۰۲g	±۰d	±۰g	±۰d	(E)-β-Ocimene
۴٫۲۴±۱٫۱۲de	۵٫۳۱±۱٫۰۹bcd	۲٫۸۱±۰٫۰۳de	۱٫۶۸±۰٫۰۴bcd	Geranial
۴٫۹۸±۰٫۰۲d	۵٫۱۲±۰٫۰۴bcd	۳٫۶۱±۰٫۰۵d	۱٫۴۷±۰٫۰۶bcd	Geranyl acetate
۰٫۳۵±۰٫۰۲g	۰٫۲۵±۰٫۰۲d	۰٫۳۳±۰٫۰۱g	±۰d	γ-Terpinene
±۰g	±۰d	±۰g	±۰d	Isoborneol acetate
۲۰٫۵۸±۲٫۲۳b	۱۸٫۸۳±۲٫۹۴b	۲۰٫۲±۲٫۶۴b	۱۸٫۴۲±۱٫۶۱b	Limonene
۰٫۶۵±۰٫۰۱fg	۰٫۵۶±۰٫۰۲d	۰٫۵۱±۰٫۰۱fg	۰٫۶۳±۰٫۰۹d	Linalool
۱٫۹۱±۰٫۰۴efg	۲٫۶۴±۰٫۰۸cd	۱٫۳۲±۰٫۰۳efg	۴٫۴۹±۲٫۳۱cd	Methyl geranate
۷٫۸۹±۰٫۰۶c	۷٫۲۴±۰٫۰۷bc	۸٫۰۲±۰٫۰۱c	۴٫۰۶±۱٫۰۴bcd	Myrcene
۳٫۲۵±۰٫۰۹def	۴٫۳۲±۱٫۰۹bcd	۲٫۲۸±۰٫۰۲def	۶٫۸۳±۱٫۰۴bcd	Neral
±۰g	±۰d	±۰g	±۰d	nerol
۵۱±۳٫۳۴a	۵۲٫۱۲±۶٫۳۱a	۵۵٫۵۱±۰٫۰۷a	۳۲٫۹۴±۵٫۸۲a	(R)-α-pinene
۱٫۲۱±۰٫۰۱fg	۲٫۰۹±۰٫۰۹cd	۱٫۱۱±۰٫۰۳efg	۰٫۹۱±۰٫۰۷d	sabinene-(β-Thujene)
۰٫۹۱±۰٫۰۹fg	۰٫۷۴±۰٫۰۱d	۰٫۹±۰٫۰۱fg	۰٫۳۱±۰٫۰۳d	Terpinolene
±۰g	۱٫۹۸±۱٫۰۹cd	۰٫۷۷±۰٫۰۷fg	۲٫۳۴±۰٫۰۶d	Unknown
۰٫۴۵±۰٫۰۴g	۰٫۹۹±۰٫۰۸d	۰٫۶±۰٫۰۲fg	۰٫۷۶±۰٫۰۱d	Unknown
۰٫۵۴±۰٫۰۳g	۰٫۶±۰٫۰۳d	۰٫۱۸±۰٫۰۱g	۰٫۱۳±۰٫۰۱d	Unknown
۰٫۱۵±۰٫۰۱g	±۰d	±۰g	±۰d	Unknown
±۰g	±۰d	±۰g	±۰d	Unknown
±۰g	±۰d	±۰g	۰٫۱±۰٫۰۱d	Unknown
۰٫۲±۰٫۰۲g	±۰d	±۰g	±۰d	Unknown

میانگین‌های با حروف یکسان در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری باهم ندارند.

افزایش داد. ترکیب مهم دیگری که در این گیاه شناسایی شد، ژرانیال بود که روند تغییرات این ترکیب در شرایط مختلف تنش خشکی همانند ژرانیل استات است. میزان ترکیب ژرانیال، ۰٫۷۳٪ تحت شرایط تنش ملایم خشکی (۷۵٪FC) نسبت به گیاهان شاهد (۱۰۰٪FC) افزایش نشان داد که تغییر قابل توجهی نیست.

کمی (حدود ۰٫۱۴ درصد) نشان داده است که این تغییر قابل توجهی نیست. با افزایش شدت تنش در حد تنش متوسط (۵۰٪FC)، میزان این ترکیب نسبت به گیاهان شاهد به مقدار ۱٫۳۷٪ کاهش نشان داده است؛ اما تنش خشکی شدید (۲۵٪FC) میزان این ترکیب را به مقدار ۹٫۷۸٪ نسبت به گیاهان شاهد

استاندارد میانگین ترکیبات، می‌توان نتیجه گرفت اکثر ترکیبات در مرحله گلدهی دارای میانگین خطای استاندارد بیشتری بوده و این مطلب نشانگر این موضوع است که زردین گیاه در مرحله گلدهی نسبت به شرایط تنش، واکنش بیشتری نشان داده است و ترکیبات فرار، بیشتر تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته‌اند؛ بنابراین، گیاه در مرحله گلدهی نسبت به تنش حساس‌تر است. همچنین با توجه به نتایج حاصل شده از مقایسه میانگین اجزای تشکیل‌دهنده متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی و میانگین خطای استاندارد ترکیبات، می‌توان نتیجه گرفت اکثر ترکیبات تحت تأثیر تنش خشکی شدید دارای میانگین خطای استاندارد بیشتری بوده و این مطلب نشانگر این موضوع است که تأثیر تنش خشکی شدید در زردین گیاه وابسته به مرحله رشدی گیاه است. با مقایسه نتایج حاصل شده از این تحقیق می‌توان بیان کرد که بیشتر اجزای تشکیل‌دهنده اسانس در زردین گیاه در مرحله گلدهی و تحت تأثیر تنش خشکی شدید (۲۵٪)، تغییرات بیشتری را نشان داده‌اند؛ البته بعضی از ترکیبات مانند آلفا-پینن و آلفا-توجون، تحت تأثیر تنش خشکی ملایم (۵۰٪) و ترکیباتی مانند آلفا-ترپینن و سابینن، در اثر تنش خشکی کم (۷۵٪)، تغییرات بیشتری داشته‌اند.

نتیجه‌گیری

آنالیز ترکیب‌های فرار و روند تغییرات آن‌ها در مراحل مختلف رشدی و مقایسه شرایط رطوبتی شاهد و سطوح مختلف تنش خشکی نشان داد تعداد و درصد ترکیب‌های شناسایی شده در مراحل مختلف رشدی و تحت شرایط رطوبتی خاک، تغییرات قابل توجهی نشان می‌دهد. در آنالیز اسانس زردین گیاه تعداد زیادی ترکیبات مونوترپنی هیدروکربنه شناسایی شد. از دسته مونوترپن‌های هیدروکربنه سه ترکیب اصلی و مهم آر-آلفا-پینن، لیمونن و میرسن به مقدار قابل توجهی در هر دو مرحله رشدی در این گیاه شناسایی شدند. دسته دیگر ترکیبات شناسایی شده در این گیاه، مونوترپن‌های اکسیژنه بودند. از دسته مونوترپن‌های اکسیژنه چهار ترکیب مهم ژرانیل استات، ژرانیال، متیل‌ژرانات و نرال، به مقدار قابل توجهی شناسایی شدند. بر اساس نتایج حاصل شده از این مطالعه، زردین گیاه در مرحله رشد رویشی میزان بیشتری از مونوترپن‌های هیدروکربنه شامل آر-آلفا-پینن، لیمونن و میرسن داشته و در مرحله گلدهی مقدار بیشتری مونوترپن‌های اکسیژنه شامل ژرانیل استات، ژرانیال، متیل‌ژرانات و نرال، نشان داد؛ علاوه بر این، نتایج نشان داد که

با افزایش شدت تنش در حد تنش متوسط (۵۰٪FC)، میزان این ترکیب نسبت به گیاهان شاهد به مقدار ۱/۴۳٪ کاهش نشان داده است؛ اما تنش خشکی شدید (۲۵٪FC) میزان این ترکیب را به مقدار ۶/۴۴٪ نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد. متیل‌ژرانات ترکیب مهم دیگری است که در این گیاه شناسایی شد. میزان ترکیب متیل‌ژرانات، ۱/۰۷٪ تحت شرایط تنش ملایم خشکی (۷۵٪FC) نسبت به گیاهان شاهد (۱۰۰٪FC) افزایش نشان داد. با افزایش شدت تنش در حد تنش متوسط (۵۰٪FC)، میزان این ترکیب نسبت به گیاهان شاهد به مقدار ۰/۵۹٪ کاهش نشان داد که میزان این تغییرات قابل توجه نیست؛ اما تنش خشکی شدید (۲۵٪FC) میزان این ترکیب را به مقدار ۲/۵۸٪ نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد. نرال ترکیب مهم دیگری است که در این گیاه شناسایی شد. میزان ترکیب نرال، ۱/۰۷٪ تحت شرایط تنش ملایم خشکی (۷۵٪FC) نسبت به گیاهان شاهد (۱۰۰٪FC) افزایش نشان داد. با افزایش شدت تنش در حد تنش متوسط (۵۰٪FC)، میزان این ترکیب نسبت به گیاهان شاهد به مقدار ۰/۹۷ درصد کاهش نشان داد که میزان این تغییرات قابل توجه نیست؛ اما تنش خشکی شدید (۲۵٪FC) میزان این ترکیب را به مقدار ۳/۵۸ درصد نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد. در بررسی‌های انجام شده توسط مفاخری و همکاران (۱۳۹۷) نیز تنش خشکی در حد ۶۰ درصد ظرفیت زراعی باعث افزایش نرال در این گیاه شد. با توجه به میزان تغییرات هر چهار ترکیب می‌توان نتیجه‌گیری کرد که روند تغییرات ترکیبات مهم مونوترپنه اکسیژنه شناسایی شده در این مطالعه، در اثر تیمار تنش خشکی در سطوح مختلف تنش، روند کاملاً یکسانی است و تنش خشکی شدید (۲۵٪FC) باعث افزایش قابل توجهی در میزان این ترکیبات شده است؛ بنابراین، به‌منظور کاهش نداشتن این ترکیبات برای بهره‌برداری دارویی از آن‌ها و صرفه‌جویی در مصرف آب، آبیاری این گیاه در حد ۲۵٪ ظرفیت زراعی مطلوب است.

میزان تغییر ترکیبات فرار زردین گیاه تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی و عدم تنش، در دو مرحله رشد زایشی و رویشی روند مشابهی نشان دادند. لیمونن تنها ترکیبی بود که در زردین گیاه تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی در دو مرحله گلدهی و رویشی روند تغییر یکسانی نشان نداد. این ترکیب در مرحله گلدهی تحت تأثیر تنش خشکی شدید به میزان ۱۷/۸۷٪ کاهش داشت؛ اما در مرحله رشد رویشی به میزان ۱۶/۲۷٪ افزایش نشان داد. با توجه به نتایج حاصل شده از مقایسه میانگین اجزای تشکیل‌دهنده ترکیبات فرار در مراحل مختلف رشدی و خطای

این اساس می‌توان نتیجه گرفت که اگر هدف از کشت این گیاه استفاده از ترکیب بسیار مهم لیمونن باشد، بهتر است در مرحله گلدهی، گیاه تحت تأثیر تنش خشکی قرار نگیرد و تنش خشکی در مرحله رشد رویشی به‌منظور افزایش لیمونن در زرین‌گیاه برای بهره‌برداری از این ترکیب اعمال شود.

تنش خشکی باعث کاهش مونوترپن‌های هیدروکربنه و افزایش میزان مونوترپن‌های اکسیژنه در زرین‌گیاه شد. یکی از ترکیبات مهم شناسایی‌شده در زرین‌گیاه، لیمونن بود. در این بررسی، کاهش میزان لیمونن در مرحله گلدهی و افزایش میزان آن در مرحله رشد رویشی تحت تأثیر تنش خشکی مشاهده شد. بر

References

- Adams RP. 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Vol. 456. Carol Stream, IL: Allured Publishing Corporation.
- Akula R, Ravishankar GA. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior* 6 (11): 1720-1731. DOI: <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17613>.
- Argyropoulou C, Daferera D, Tarantilis PA, Fasseas C, Polissiou M. 2007. Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* HBK (Verbenaceae) at two developmental stages. *Biochemical Systematics and Ecology* 35 (12): 831-837. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2007.07.001>.
- Arvin P, Firouzeh R. 2023. Study of some physiological traits, yield and essential oil contents of *Dracocephalum kotschy* Boiss. in natural habitats of Bojnourd. *Journal of Plant Process and Function* 12 (53): 33-49.
- Asadi AM, Khoshnod Yazdi A. 2010. Study of ecological characters of *Dracocephalum kotschy* Boiss. In Bojnourd rangelands. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research* 26 (3): 406-414. (In Farsi)
- Ashrafi B, Ramak P, Ezatpour B, Talei GR. 2017. Investigation on chemical composition, antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic properties of essential oil from *Dracocephalum kotschy* Boiss. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 14 (3): 209-217. DOI: <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i3.23>.
- Baser KHC, Buchbauer G. 2015. Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications. CRC Press.
- Fathi A, Tari DB. 2016. Effect of drought stress and its mechanism in plants. *International Journal of Life Sciences* 10 (1): 1-6. DOI: <https://doi.org/10.3126/ijls.v10i1.14509>.
- Fattahi M, Bonfill M, Fattahi B, Torras-Claveria L, Sefidkon F, Cusido RM, Palazón J. 2016. Secondary metabolites profiling of *Dracocephalum kotschy* Boiss. at three phenological stages using uni- and multivariate methods. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 3 (4): 177-185. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jarmp.2016.04.002>.
- Fattahi M, Nazeri V, Torras-Claveria L, Sefidkon F, Cusido RM, Zamani Z, Palazón J. 2013. Identification and quantification of leaf surface flavonoids in wild-growing populations of *Dracocephalum kotschy* Boiss. by LC-DAD-ESI-MS. *Food Chemistry* 141 (1): 139-146. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.019>.
- Gershenzon J, McConkey ME, Croteau RB. 2000. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. *Plant Physiology* 122 (1): 205-214. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.122.1.205>.
- Ghavam M, Manconi M, Manca ML, Bacchetta G. 2021. Extraction of essential oil from *Dracocephalum kotschy* Boiss. (Lamiaceae), identification of two active compounds and evaluation of the antimicrobial properties. *Journal of Ethnopharmacology* 267: 113513. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113513>.
- Ghoreishi SM, Golestaneh M. 2014. Chromatography methods. Kashan University, Sokhanvaran Publications. (In Farsi)
- Golparvar AR, Hadipanah A, Ghesari MM, Khaliliazar R. 2016. Chemical constituents of essential oil of *Dracocephalum moldavica* L. and *Dracocephalum kotschy* Boiss. from Iran. *Acta Agriculturae Slovenica* 107 (1): 25-31. DOI: <https://doi.org/10.14720/aas.2016.107.1.03>.
- Hosseini SF, Hamzei J. 2025. Intercropping and nitrogen fertilizer enhance essential oil quality in *Dracocephalum kotschy* Boiss. *Industrial Crops and Products* 227: 120818. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.120818>.
- Hughes SG, Bryant JA, Smirnoff N. 1989. Molecular biology: application to studies of stress tolerance. In: Jones HG, Flowers TJ, Jones MB (Eds.) *Plants under Stress: Biochemistry, Physiology and Ecology and their Application to Plant Improvement*. Cambridge University Press, Cambridge, 131-155. DOI: <https://doi.org/10.1017/CBO9780511661587>.
- Jalaei Z, Fattahi M, Aramideh S. 2015. Allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Dracocephalum kotschy* Boiss. from Iran: A new chemotype with highest limonene-10-al and limonene. *Industrial Crops and Products* 73: 109-117. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.04.020>.
- Jaleel CA, Manivannan P, Wahid A, Farooq M, Al-Juburi HJ, Somasundaram R, Panneerselvam R. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigment composition. *International Journal of Agriculture & Biology* 11 (1): 100-105.
- James S, Bell D. 1995. Morphology and anatomy of leaves of *Eucalyptus camaldulensis* clones: variation between geographically separated locations. *Australian Journal of Botany* 43: 415-433.
- Jongedijk E, Cankar K, Buchhaupt M, Schrader J, Bouwmeester H, Beekwilder J. 2016. Biotechnological production of limonene in microorganisms. *Applied*

- Microbiology and Biotechnology 100 (7): 2927-2938. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7337-7>.
- Kamali M, Khosroyar S, Kamali H, Sani TA, Mohammadi A. 2016. Phytochemical screening and evaluation of antioxidant activities of *Dracocephalum kotschy* Boiss. and determination of its luteolin content. Avicenna Journal of Phytomedicine 6 (4): 425-433.
- Kaneria MJ, Bapodara MB, Chanda SV. 2012. Effect of extraction techniques and solvents on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) leaf and stem. Food Analytical Methods 5 (3): 396-404. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-011-9257-6>.
- Kazempour M, Shahangian SS, Sariri R. 2024. *Dracocephalum kotschy*: Inhibition of critical enzyme relevant to type-2 diabetes, essential oil composition, bactericidal and antioxidant activity. Caspian Journal of Environmental Sciences 22 (2): 289-303.
- Khorasaninejad S, Mousavi A, Soltanloo H, Hemmati K, Khalighi A. 2011. The effect of drought stress on growth parameters, essential oil yield and constituents of peppermint (*Mentha piperita* L.). Journal of Medicinal Plants Research 5 (22): 5360-5365.
- Kleinwächter M, Selmar D. 2013. Influencing product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. In: *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment*. Springer, New York, 57-73.
- Kleinwächter M, Selmar D. 2015. New insights explain that drought stress enhances the quality of spice and medicinal plants: potential applications. Agronomy for Sustainable Development 35 (1): 121-131. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0260-3>.
- Kováts VE. 1958. Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil 1: Retentionsindizes aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone. Helvetica Chimica Acta 41 (7): 1915-1932. DOI: <https://doi.org/10.1002/hlca.19580410703>.
- Mafakheri S, Asghari B, Nikjoyan MJ. 2018. Effect of nano zinc chelate on morpho-physiological and phytochemical characteristics of *Dracocephalum kotschy* Boiss. under drought stress condition. Iranian Journal of Horticultural Sciences 49 (3): 755-767. DOI: <https://doi.org/10.22059/IJHS.2017.231417.1230>.
- Németh-Zámbori É, Szabó K, Pluhár Z, Radácsi P, Inotai K. 2016. Changes in biomass and essential oil profile of four Lamiaceae species due to different soil water levels. Journal of Essential Oil Research 28 (5): 391-399. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1176606>.
- Rezaei MB, Jaymand K. 2006. Essential oils, distillations apparatuses, test methods of essential oils and retention indices in essential oil analysis. Tehran, Iran: Iranian Society of Medicinal Plants. (In Farsi)
- Saeedfar S, Negahban M, Soorestani MM. 2015. The effect of drought stress on the essential oil content and some of the biochemical characteristics of anise hyssop (*Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze). European Journal of Molecular Biology 8 (2): 103-114. DOI: <https://doi.org/10.13187/ejmb.2015.8.103>.
- Salehi M, Hejazi SMH, Tabaei R. 2015. Genetic differentiation of two *Dracocephalum* (Lamiaceae) species and populations in Iran by polyacrylamide gel electrophoresis. Biological Forum 7 (2): 300.
- Samadi L, Larijani K, Naghdi Badi H, Mehrafarin A. 2018. Qualitative and quantitative variations of the essential oils of *Dracocephalum kotschy* Boiss. as affected by different drying methods. Journal of Food Processing and Preservation 42 (11): 13816. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpp.13816>.
- Sangwan NS, Farooqi AHA, Shabih F, Sangwan RS. 2001. Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regulation 34 (1): 3-21. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1013386921596>.
- Santos-Gomes PC, Fernandes-Ferreira M, Vicente AM. 2005. Composition of the essential oils from flowers and leaves of vervain (*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton) grown in Portugal. Journal of Essential Oil Research 17 (1): 73-78. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698835>.
- Sellami IH, Maamouri E, Chahed T, Wannes WA, Kchouk ME, Marzouk B. 2009. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). Industrial Crops and Products 30 (3): 395-402. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.07.010>.
- Selmar D, Kleinwächter M. 2013. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. Industrial Crops and Products 42: 558-566. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.020>.
- Selmar D, Kleinwächter M. 2013. Stress enhances the synthesis of secondary plant products: the impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products. Plant and Cell Physiology 54 (6): 817-826. DOI: <https://doi.org/10.1093/pcp/pct054>.
- Sonboli A, Mirzania F, Gholipour A. 2018. Essential oil composition of *Dracocephalum kotschy* Boiss. from Iran. Natural Product Research 33 (14): 2095-2098. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1482550>.
- Zamani S, Bakhshi D, Ebadi MT, Sahraroo A. 2025. Phytochemical profile and antioxidant activity of *Dracocephalum kotschy* Boiss. affected by environmental conditions of cultivation regions. BMC Plant Biology 25 (1): 968. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06949-1>.