

بررسی تغییرات عملکرد و ترکیبات اسانس گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) در واکنش به تیمارهای مختلف مس و روی

جواد هادیان^۱، حمایت عسگری لجایر^۲، بابک متشعزاده^۳ و منصور قربانپور^۴ *
^۱ گروه مهندسی کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
^۲ گروه مهندسی خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
^۳ گروه مهندسی خاک‌شناسی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
^۴ گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، ۳۸۱۵۶-۸۳۴۹۸، اراک، ایران

چکیده

مس و روی از عناصر کم مصرف ضروری برای گیاه است که نقش‌های ساختاری و عملکردی متعددی در فرآیندهای متابولیکی گیاهان دارند. در این مطالعه، با توجه به اهمیت زیاد گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) در زمینه‌های دارویی و صنعتی، اثر سطوح مختلف عناصر مس و روی بر تغییرات محتوا، عملکرد و ترکیبات شیمیایی اسانس این گیاه بررسی شد. تیمارهای آزمایش شامل مقادیر مختلف مس (۰، ۵ و ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم از منبع سولفات مس) و روی (۰، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از منبع سولفات روی) و ترکیبی از تمام سطوح عناصر بودند. نمونه‌های اسانس پس از استخراج، با دستگاه‌های GC و GC/MS تحلیل شدند. در تحقیق حاضر، بیشترین محتوا و عملکرد اسانس در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سولفات مس و سولفات روی و کمترین محتوا و عملکرد اسانس در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سولفات مس و سولفات روی به دست آمد. آنالیز اسانس گیاه نشان داد که ترکیبات کارواکرول، گاما ترپینن، پاراسیمین و دلتا تری کارن از ترکیبات عمده اسانس هستند که به ترتیب در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سولفات مس و ۰، ۵، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سولفات روی مشاهده شدند. مقایسه محتوا، عملکرد و ترکیبات اسانس در گیاهان تحت تیمارهای مختلف با گیاهان شاهد نشان داد که مقدار این شاخص‌ها و به ویژه مونوترپن‌های اکسیژنه با کاربرد سطوح اندک مس و روی افزایش و با کاربرد سطوح بالاتر همین عناصر از مقدار آنها کاسته شد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، سز کوئی‌ترین، روی، مس، مرزه، مونوترپن

مقدمه

دارویی و معطر مهمی است که به طور گسترده در ایران

کشت می‌شود (Ghannadi, 2002). این گونه به همراه

مرزه تابستانه (*Satureja hortensis* L.) از گیاهان

نوکلئیک اسیدها و چربی‌ها، فتوسنتز گیاه و بیوسنتز اکسین به عنوان یک هورمون محرک رشد نقش دارد (Figueiredo *et al.*, 2012). مس نیز یک عنصر انتقالی است و در فرآیندهای ساخت پروتئین و کربوهیدرات نقش مهمی دارد (Marschner, 1986). در یک مطالعه، Zheljzakov و همکاران (۲۰۰۶) تأثیر کادمیوم، سرب و مس را بر رشد و محتوای اسانس سه گیاه دارویی ریحان، شوید و نعنا فلفلی بررسی و گزارش کردند که عملکرد نعنا فلفلی و ریحان با تیمارهای فلزات سنگین تحت تأثیر قرار نگرفت و همچنین کادمیوم و سرب عملکرد شوید را تحت تأثیر قرار ندادند، اما مس در غلظت‌های زیاد (۶۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر) عملکرد و ارتفاع گیاه شوید را کاهش داد و همچنین تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر مس به ظهور علایم سمیت و بازدارندگی رشد در گیاه شوید منجر شد. تیمار فلزات سنگین در ترکیب شیمیایی اسانس ریحان و شوید تغییر اندکی ایجاد کرد اما این تغییرات از روند مشخصی تبعیت نمی‌کرد. مقدار اسانس نعنا فلفلی و شوید در تأثیر تیمارها کاهش معنی‌داری نداشت و فقط کاربرد مس به مقدار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر مقدار اسانس را به طور معنی‌داری کاهش داد (Zheljzakov *et al.*, 2006). با کاربرد فلزات سنگین به عنوان الیسیاتور می‌توان تولید متابولیت ثانویه در گیاه را افزایش داد. در پژوهش Soltaninejad و همکاران (۲۰۱۳) تأثیر غلظت‌های ۱ و ۱۰ میکرومولار اکسید مس و روی بر تغییرات میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه شیرین بیان بررسی شد. بر اساس نتایج این محققان غلظت‌های ۱ و ۱۰ میکرومولار اکسید مس، میزان گلیسیریزین، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها به طور قابل توجهی افزایش داشت در حالی

مرزه زمستانه تنها گونه‌های این جنس هستند که به عنوان سیزی، ادویه یا گیاه دارویی کشت می‌شوند (Gulluce *et al.*, 2003). گیاه مرزه به طور سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف نظیر: گرفتگی عضلات، دردهای عضلانی، تهوع، سوء هاضمه، اسهال و بیماری‌های عفونی کاربرد دارد (Hajhashemi *et al.*, 2002). خواص ضد اسپاسم، آنتی‌اکسیدان، آرام‌بخش و ضد میکروبی این گیاه نیز اثبات شده است (Gulluce *et al.*, 2003). اسانس گیاه مرزه به طور گسترده به عنوان آنتی‌اکسیدان و عامل ضد میکروبی در صنایع غذایی و دارویی استفاده می‌شود (Hadian *et al.*, 2010). ترکیب کارواکرول، گاما ترپین و پاراسیمن ترکیبات عمده گیاه مرزه گزارش شده است (Gulluce *et al.*, 2003)؛ Hadian *et al.*, 2010). تأثیر عناصر کم مصرف در گیاهان دارویی و معطر به خوبی شناخته نشده است (Abugassa *et al.*, 2008). در حال حاضر ثابت شده است که عناصر کم مصرف نقش مهمی در تشکیل ترکیبات شیمیایی فعال موجود در گیاهان دارویی دارند (Murch *et al.*, 2003). مس و روی از عناصر کم مصرف ضروری هستند که جزو فلزات سنگین نیز طبقه‌بندی می‌شوند و نقش‌های ساختاری و عملکردی فراوانی در فرآیندهای متابولیکی گیاهان دارند، اما هم کمبود و هم مقدار اضافی آنها در خاک به عنوان عامل محدود کننده رشد برای گیاهان محسوب می‌شود (Grejtovsky *et al.*, 2006).

عنصر روی به عنوان فعال کننده و کوفاکتور برخی آنزیم‌های حیاتی گیاه از جمله کربنیک‌انیدرازها، دهیدروژنازها، آلکالین فسفاتازها، فسفولیپازها و RNA پلی‌مرازها در ساخت و ساز پروتئین‌ها، قندها،

که اکسید روی تأثیر در خور توجهی بر میزان این متابولیت‌ها نداشت. گزارش شده است که کمبود مس به عنوان یک نارسایی تغذیه‌ای در گیاهان مناطق خشک و نیمه خشک و در خاک‌های قلیایی متداول است. این عنصر همچنین به عنوان یک ریزمغذی ضروری برای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) عمل می‌کند. علاوه بر این، مس نقش کلیدی در سنتز متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنلی داشته، کمبود آن می‌تواند باعث کاهش سطح ترکیبات فنلی در گیاهان شود (Dicko *et al.*, 2006).

پژوهش‌های فراوانی پیرامون تأثیر عوامل محیطی بر مقدار و نوع متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی انجام شده است. اگرچه مطالعاتی در مورد تأثیر عناصر پر مصرف بر ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه مرزه انجام شده است اما در مورد تأثیر عناصر کم مصرف و فلزات سنگین بر این گیاه هنوز اطلاعات کافی وجود ندارد. لذا در پژوهش حاضر، با توجه به اهمیت عناصر روی و مس در مسیرهای متابولیسمی سنتز ترکیبات دارویی، تأثیر سطوح مختلف این عناصر و آثار متقابل آنها بر تغییرات محتوا، عملکرد و ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) بررسی شد.

مواد و روش‌ها

کشت گلدانی: تحقیق حاضر به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، در بهار سال ۱۳۹۱ در گلخانه گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران انجام شد. از آنجا که می‌بایست نمونه خاک مورد استفاده از نظر مس و روی در حد پایینی باشد، از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری مناطق

مختلف نمونه‌های خاک جمع‌آوری و پس از تجزیه برای انجام آزمایش به گلخانه آورده شد و پس از خشک کردن در هوای آزاد و عبور از الک ۲ میلی‌متری، برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن از جمله بافت خاک با روش هیدرومتری (Bouyoucos, 1962)، رطوبت ظرفیت مزرعه (FC) با صفحه فشاری (Page, 1982)، اسیدیته و هدایت الکتریکی در عصاره اشباع (Haluschak, 2006)، ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) خاک با روش باور (Page, 1982)، درصد کربن آلی با روش Walkley و Black (۱۹۳۴)، درصد آهک با روش حجم‌سنجی (Gupta, 1999)، نیتروژن کل خاک با روش هضم کج‌لدال (Bremner and Mulvaney, 1982)، فسفر قابل استخراج با بی‌کربنات سدیم ۰/۵ مولار با روش اولسن (Sparks *et al.*, 1996)، پتاسیم قابل جذب با روش استخراج با استات آمونیوم نرمال و مقدار قابل جذب روی، مس، آهن و منگنز با روش استخراج با DTPA (Sparks *et al.*, 1996) تعیین شد (جدول ۱). تیمارهای آزمایش شامل سطوح مختلف مس (صفر، ۵ و ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) از منبع سولفات مس ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) و سطوح مختلف روی (صفر، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) از منبع سولفات روی ($\text{ZnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) و اثر متقابل آنها بودند. برای اعمال تیمارها، عناصر مس و روی به صورت نمک‌های محلول در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و به طور یکنواخت و به صورت لایه لایه به سطح خاک افشانه شد تا مخلوط یکدست و یکنواخت حاصل شود و در هر مرحله خاک هر گلدان به صورت جداگانه مخلوط و یکنواخت شد. پس از اعمال تیمارهای مس و روی

در گلدان و رساندن رطوبت آن به حد ۰/۷ ظرفیت مزرعه‌ای (FC) به منظور حصول تعادل عناصر مس و روی با خاک گلدان‌ها، به مدت دو ماه انکوباسیون شد. همچنین پیش از کشت و برای جلوگیری از بروز علائم کمبود سایر عناصر در گیاه و بر اساس نتایج آزمون خاک عناصر پتاسیم به میزان ۷۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک از منبع سولفات پتاسیم، فسفر به میزان ۴ میلی گرم در کیلوگرم خاک از منبع سوپر فسفات تریپل پیش از کشت اضافه شد. همچنین عنصر نیتروژن در چهار مرحله و هر مرحله ۶۰ میلی گرم نیتروژن از منبع اوره همراه با آب آبیاری به هر گلدان اضافه گردید. برای

کشت از گلدان‌های پلاستیکی ۴ کیلوگرمی استفاده گردید. بذر مرزه تابستانه از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی (کد بذر بانک بذر: MPIS-۷۴۱) تهیه شد، سپس در خزانه کشت و پس از رسیدن به مرحله سه برگی به تعداد ۴ عدد گیاهچه یکنواخت به هر گلدان منتقل شد. آبیاری گلدان‌ها تا پایان آزمایش با آب مقطر تا رسیدن به دامنه ۰/۷ تا ۰/۸ ظرفیت زراعی با روش وزنی صورت گرفت. گلدان‌ها هر هفته به طور تصادفی روی سینک گلخانه جابه‌جا شدند. در هفته دوازدهم پس از کاشت و رسیدن به مرحله گلدهی کامل، گیاهان از محل طوقه قطع شدند.

جدول ۱- نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک استفاده شده در کشت گلخانه‌ای پیش از اعمال تیمارهای مس و روی. *: DTPA-Extractable

ویژگی خاک	مقدار	ویژگی خاک	مقدار
رس (%)	۱۷/۴۶	مینزیم (meq l^{-1})	۲/۶
سیلت (%)	۱۸/۰۰	ظرفیت تبادل کاتیونی (Cmolckg^{-1})	۱۰/۷۷
شن (%)	۶۴/۵۶	نیتروژن کل (%)	۰/۰۴۴
بافت خاک	لوم شنی	فسفر قابل جذب (mgkg^{-1})	۸/۷۹
اسیدیته	۷/۴	پتاسیم قابل جذب (mgkg^{-1})	۱۸۰
هدایت الکتریکی (dSm^{-1})	۱/۲۸	آهن (mgkg^{-1}) *	۱۲/۳
کربنات کلسیم (%)	۶/۷۷	منگنز (mgkg^{-1}) *	۹/۳۲
کربن آلی (%)	۰/۶۳	مس (mgkg^{-1}) *	۰/۶۳
درصد اشباع	۲۹/۱	روی (mgkg^{-1}) *	۰/۷۱
سدیم (meq l^{-1})	۲/۴۶	کربنات هیدروژن (meq l^{-1})	۴/۱
کلسیم (meq l^{-1})	۸/۴	کلر (meq l^{-1})	۳/۸

استخراج اسانس: به منظور تعیین مقدار اسانس اندام هوایی، در مرحله گل دهی کامل (هفته دوازدهم از زمان کاشت) از نیمی از گیاهان هر گلدان پس از آسیاب نمودن، به مدت ۳ ساعت با روش تقطیر با آب به وسیله دستگاه کلونجر اسانس گیری به عمل آمد (British Pharmacopoeia, 1993). مقدار محتوای

(درصد) اسانس، پس از رطوبت‌زدایی توسط سولفات سدیم خشک نسبت به وزن خشک گیاه محاسبه شد و تا زمان آنالیز دورن یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. پس از تعیین درصد اسانس، عملکرد آن نیز از حاصلضرب وزن خشک گیاه و درصد اسانس به دست آمد.

آشکارساز ۳۰۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد.

کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج

جرمی (GC/MS): برای طیف GC/MS از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی (مدل 5970، شرکت Agilent، آمریکا) و مجهز به آشکارساز FID و ستون مویی DB-5 به طول ستون ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر با ۰/۲۵ میکرومتر با گاز حامل هلیوم و ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد. همچنین، دمای خط انتقال ۲۵۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد. دمای کوره با دمای ذکر شده در مورد دستگاه GC یکسان بود.

تحلیل آماری:

برای تحلیل داده‌های آماری حاصل از اندازه‌گیری صفات، تعیین انحراف استاندارد ($\pm SD$) از نرم‌افزار SAS استفاده شد. مقایسه میانگین صفات مورد نظر با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج

محتوای و عملکرد اسانس: نتایج تأثیر تیمارهای

مختلف مس و روی بر محتوای اسانس (درصد) گیاه مرزه در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود تغییرات قابل ملاحظه‌ای در نتیجه استفاده از این عناصر در محتوای اسانس گیاه حاصل نشد، اما بیشترین و کمترین درصد اسانس (۱/۱۸ و ۰/۹۶ درصد) به ترتیب در تیمارهای Cu_5Zn_{10} و $Cu_{25}Zn_{50}$ به دست آمد. همچنین، نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهم‌کنش مس و روی بر عملکرد اسانس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۲). مقایسه میانگین مربوط به

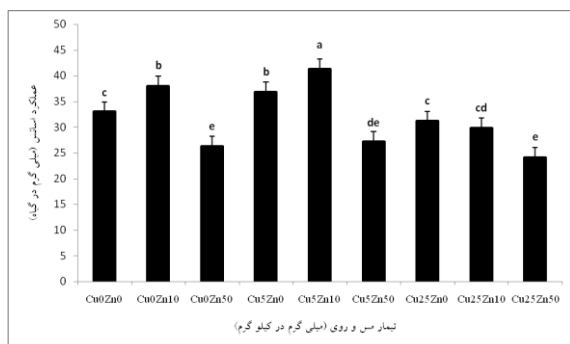
شناسایی ترکیبات اسانس: برای تجزیه و شناسایی

ترکیبات تشکیل دهنده اسانس از دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گاز متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص بازدارگی کواتس (RI) که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C_6-C_{24}) در شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها انجام شد و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده بود، مقایسه شد. بررسی طیف‌های جرمی نیز برای شناسایی ترکیب‌ها انجام گردید و شناسایی‌های انجام شده، با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه‌های مختلف تأیید گردید. درصد نسبی هر کدام از ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس‌ها با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام به دست آمد و با مقادیر گزارش شده در منابع مختلف با در نظر گرفتن اندیس کواتس مقایسه گردید (Adams, 2001).

کروماتوگراف گازی (GC): برای کروماتوگرافی

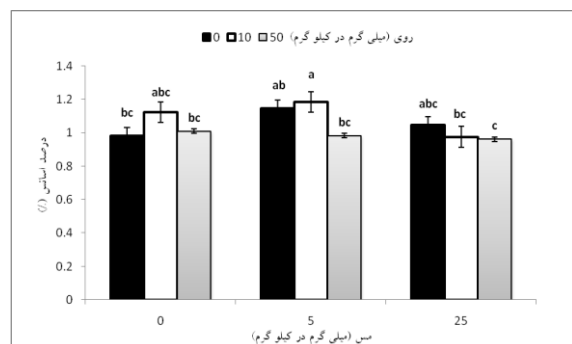
گازی، از دستگاه GC (مدل 6980، شرکت Agilent، آمریکا) مجهز به آشکارساز FID (یونیزاسیون شعله هیدروژن) با ستون از نوع DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر با ۰/۲۵ میکرومتر با گاز حامل نیتروژن استفاده شد. سرعت گاز حامل برابر با ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه و برنامه دمایی دستگاه به صورت زیر تنظیم شد: ابتدا دما از ۶۰ درجه سانتیگراد آغاز و در هر دقیقه چهار درجه سانتیگراد به آن افزوده شد تا به دمای ۲۵۰ درجه سانتیگراد رسید و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما باقی ماند. دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتیگراد و دمای

اسانس با کاربرد ۵ میلی گرم بر کیلوگرم مس حاصل شد و کاربرد بیشتر مس در خاک (۲۵ میلی گرم مس بر کیلوگرم) تأثیر معنی داری بر عملکرد اسانس گیاه مرزه ندارد. بیشترین و کمترین عملکرد اسانس (۴۱/۳۴ و ۲۴/۱۳ میلی گرم در گیاه) نیز به ترتیب در تیمارهای $Cu_{25}Zn_{50}$ و Cu_5Zn_{10} به دست آمد (شکل ۲).



شکل ۲- تأثیر تیمارهای مختلف مس و روی بر عملکرد اسانس (میلی گرم در گیاه) مرزه تیمارهای آزمایش شامل سطوح مس (صفر، ۵ و ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم) و روی (صفر، ۱۰ و ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم). مقادیر میانگین \pm SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است.

تأثیر مس و روی بر عملکرد اسانس در شکل ۲ ارایه شده است. عملکرد اسانس با کاربرد ۱۰ میلی گرم روی بر کیلوگرم خاک موجب افزایش ۱۵/۲۵ درصدی و با کاربرد ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم همین عنصر، کاهش ۲۶/۸۳ درصدی را نسبت به شاهد نشان داد. همچنین، نتایج نشان داد که افزایش ۱۱/۶۱ درصدی عملکرد



شکل ۱- تأثیر تیمارهای مختلف مس و روی بر درصد اسانس گیاه مرزه. تیمارهای آزمایش شامل سطوح مس (صفر، ۵ و ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم) و روی (صفر، ۱۰ و ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم). مقادیر میانگین \pm SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (ANOVA) اثر تیمارهای مختلف مس و روی بر ترکیبات عمده و عملکرد اسانس گیاه دارویی مرزه. *، ** و ns به ترتیب از نظر آماری دارای اختلاف معنی دار در سطح ۱ و ۵ درصد و عدم اختلاف معنی دار

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییر
عملکرد اسانس	<i>delta-3-carene</i>	<i>carvacrol</i>	γ - <i>terpinene</i>	<i>p-cymene</i>		
** ۱۰۳/۸۴	** ۰/۶۷	* ۵۰/۸۱	* ۴۵/۳۸	** ۳/۹۷	۲	مس
** ۲۶۸/۸۵	** ۱/۹۷	* ۴۰/۹۰	** ۴۳/۹۸	** ۸/۸۹	۲	روی
** ۱۶/۸۷	** ۱/۶۹	ns ۱۲/۴۸	** ۱۳/۱۴	* ۱/۴۳	۴	مس \times روی
۳/۷۲	۰/۰۰۹	۹/۵۲	۰/۳۸	۰/۳۲	۱۸	اشتباه آزمایش
۶/۰۳	۱۱/۸۰	۴/۵۵	۷/۲۹	۱۱/۳۶		ضریب تغییرات (درصد)

تشکیل دهنده اسانس نیز حایز اهمیت است. نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که تأثیر مس و روی بر چهار ترکیب عمده اسانس یعنی کواکرول، گاما ترپینن،

تغییرات میزان ترکیبات اسانس در نسبت‌های مختلف مس و روی: در کشت و زرع گیاهان دارویی، علاوه بر عملکرد اسانس نوع و مقدار ترکیبات

تنهایی تأثیر معنی داری بر مقدار کارواکرول ندارد. کاربرد ۵ میلی گرم مس بر کیلوگرم خاک (Cu₅Zn₀) و ۱۰ میلی گرم روی بر کیلوگرم (Cu₀Zn₁₀) به ترتیب باعث افزایش ۷/۶۳ و ۸/۵۰ درصدی در مقدار کارواکرول شد، در حالی که با کاربرد سطوح بالاتر مس و روی (به ترتیب ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) از مقدار کارواکرول کاسته شد اما همواره بیشتر از مقدار کارواکرول در تیمار شاهد بود.

پاراسیمن و دلتا تری کارن معنی دار است اما اثر متقابل آنها فقط بر کارواکرول معنی دار نشد. با تجزیه اسانس شاخساره گیاه مرزه، حدود ۱۹ ترکیب شناسایی شد که در مجموع ۸۴ تا ۹۵ درصد اسانس را تشکیل می دهد. این تجزیه نشان دهنده اهمیت زیاد کارواکرول و گاما ترپین در اسانس مرزه است که در این آزمایش بیشترین جزء را تشکیل می دهند (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده ها (جدول ۳) نشان داد که افزایش مس و روی به

جدول ۳- مقایسه ترکیبات اسانس گیاه مرزه تحت تأثیر تیمارهای مختلف مس و روی. مقادیر میانگین ۳ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

تیمار									اندیس بازدارنده	نام ترکیب
Cu ₂₅ Zn ₅₀	Cu ₂₅ Zn ₁₀	Cu ₂₅ Zn ₀	Cu ₅ Zn ₅₀	Cu ₅ Zn ₁₀	Cu ₅ Zn ₀	Cu ₀ Zn ₅₀	Cu ₀ Zn ₁₀	Cu ₀ Zn ₀		
۰/۴۸abc	۰/۶۹ab	۰/۸۸a	۰/۵۸abc	۰/۶۷ab	۰/۹۰a	۰/۷۹ab	۰/۶۸ab	۰/۲۸c	۹۳۳	α-pinene
۰/۴۵cd	۰/۷۵a	۰/۷۳a	۰/۵۳bcd	۰/۶۶ab	۰/۷۰ab	۰/۷۰ab	۰/۶۱abc	۰/۴۰d	۹۷۴	β-pinene
۰/۴۷ab	۰/۴۴ab	۰/۴۴ab	۰/۳۱cd	۰/۴۱bc	۰/۳۷bc	۰/۴۰bc	۰/۵۱a	۰/۲۶d	۹۸۱	Myrcene
۰/۵۳e	۰/۸۶cd	۱/۲۱ab	۰/۹۹bc	۰/۶۸de	۱/۴۱a	۱/۰۴bc	۰/۹۰bcd	-	۹۹۹	α-phelandrene
۰/۱۷f	۰/۴۳e	۱/۵۰b	۰/۲۱f	۰/۹۴d	۲/۲۸a	۱/۱۴c	۰/۴۹e	۰/۳۲ef	۱۰۰۷	delta-3-carene
۵/۲۹bcd	۶/۴۹a	۵/۵۵abc	۳/۸۶ef	۵/۹۴ab	۴/۳۰de	۴/۷۳cde	۶/۰۶ab	۲/۹۷f	۱۰۱۴	p-cymene
۲۲/۲۱a	۲۰/۲۱ab	۲۱/۴۸a	۲۰/۹۰a	۱۲/۴۱d	۱۷/۹۲bc	۲۰/۰۴ab	۱۷/۳۱c	۱۶/۲۴c	۱۰۸۰	γ-terpinene
۰/۲۰ab	۰/۱۳ab	-	۰/۲۸a	۰/۰۹ab	-	-	۰/۱۷ab	-	۱۱۶۳	cis-sabinene hydrate
۰/۲۱b	۰/۳۴a	-	۰/۳۳a	-	-	-	۰/۱۷b	-	۱۱۷۵	linalool
-	۰/۱۳b	-	۰/۲۴a	۰/۲۵a	-	-	-	-	۱۲۲۵	thymyl methyl ether
۰/۱۷bc	۰/۲۱ab	۰/۲۰abc	۰/۱۴c	۰/۲۶a	-	-	۰/۲۰abc	۰/۲۲ab	۱۲۶۶	thymol
۶۵/۳۴b	۶۶/۰۲b	۶۶/۰۴b	۶۷/۱۶b	۷۴/۴۹a	۶۹/۵۷ab	۶۶/۵۱b	۷۰/۱۳ab	۶۴/۶۳b	۱۲۸۲	carvacrol
-	۰/۲۶b	۰/۱۴d	۰/۱۸cd	-	-	-	۰/۲۲bc	۰/۶۴a	۱۲۹۶	4- terpinyl acetate
۰/۱۵c	۰/۴۴a	۰/۲۶bc	۰/۲۰bc	۰/۱۴c	۰/۳۰b	-	۰/۱۴c	۰/۴۷a	۱۳۴۵	carvacryl acetate
-	۰/۱۲c	-	۰/۱۱c	-	۰/۳۸b	۰/۴۳b	-	۰/۶۱a	۱۴۲۴	β-caryophyllene
۰/۳۷abc	۰/۳۰c	۰/۴۳ab	۰/۴۶a	۰/۳۲bc	-	-	۰/۴۹a	-	۱۴۲۷	α-humulene
۰/۴۷b	۰/۳۰c	۰/۲۸cd	۰/۱۲de	۰/۷۳a	-	۰/۳۲bc	۰/۴۸b	-	۱۵۰۱	β-bisabolene
۰/۱۵c	۰/۲۴b	-	۰/۱۱c	۰/۶۴a	-	-	۰/۱۵c	-	۱۵۷۶	spathulenol
-	۰/۲۱a	-	۰/۱۹a	-	-	-	-	-	۱۵۸۰	caryophyllene oxide
۹۶/۷۲	۹۸/۶۴	۹۹/۲۰	۹۷/۲۴	۹۸/۶۹	۹۸/۱۶	۹۶/۱۱	۹۸/۷۲	۸۷/۰۷		Total identified

روی (Cu₅Zn₁₀) به میزان ۷۴/۴۹ درصد و کمترین مقدار آن در شاهد مشاهده شد. گاما ترپین دومین

بیشترین مقدار کارواکرول در تیمار ترکیبی ۵ میلی گرم بر کیلوگرم مس و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم

میلی گرم مس بر کیلوگرم نیز درصد افزایش نسبت به شاهد به ۳۶۸/۷۵ درصد کاهش یافت. کمترین مقدار این ترکیب نیز در تیمار ۲۵ میلی گرم مس بر کیلوگرم و ۵۰ میلی گرم روی بر کیلوگرم به دست آمد.

تغییرات میزان ترپن‌های موجود در اسانس در

پاسخ به تیمار مس و روی: مقایسه میزان ترکیبات ترپنی موجود در اسانس در نسبت‌های مختلف مس و روی در جدول ۴ ارائه شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، با کاربرد سطوح ۱۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم روی، مقدار مونوترپن‌های هیدروکربنه و اکسیژنه در هر دو افزایش یافت. به طوری که این افزایش در مورد مونوترپن‌های هیدروکربنه چشمگیر بود و با افزایش کاربرد روی روند صعودی داشت. مونوترپن‌های اکسیژنه، با کاربرد ۱۰ میلی گرم روی بر کیلوگرم افزایش یافت اما با کاربرد سطح ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم از مقدار مونوترپن‌های اکسیژنه کاسته شد اما همواره بیشتر از تیمار شاهد بود. در مورد مس نیز، روند تغییرات در میزان مونوترپن‌های هیدروکربنه و اکسیژنه، با کاربرد سطوح ۵ و ۲۵ میلی گرم مس بر کیلوگرم همانند روند مشاهده شده در مورد کاربرد سطوح روی بود. مقدار کلی مونوترپن‌ها نیز با اعمال تیمارهای مس و روی نسبت به شاهد افزایش داشت. بیشترین مقدار مونوترپن‌های هیدروکربنه به میزان ۳۱/۸۲ درصد در تیمار کاربرد ۲۵ میلی گرم مس بر کیلوگرم و بدون کاربرد روی و مونوترپن اکسیژنه به میزان ۷۵/۲۶ درصد در تیمار کاربرد ۵ میلی گرم بر کیلوگرم مس و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم روی مشاهده شد. همچنین کمترین مقدار آنها نیز در تیمار شاهد به ترتیب به میزان ۲۰/۴۸ و ۶۵/۹۸ درصد بود. مقدار سزکوئی‌ترین‌ها نیز در پاسخ به تیمار مس و روی تغییراتی داشتند. به طوری که

ترکیب مهم گیاه مرزه بود. کاربرد مس و روی در سطوح پایین (به ترتیب ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر گاما ترپینن تأثیر معنی‌داری نداشته است (جدول ۳). اما کاربرد سطوح بالاتر همین عناصر (۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم مس و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم روی) باعث افزایش ۳۲/۲۶ و ۲۳/۳۹ درصد در میزان گاما ترپینن گردید. بیشترین مقدار این ترکیب در تیمار ترکیبی ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم مس و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم روی به میزان ۲۲/۲۱ درصد و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد با ۱۶/۲۴ درصد حاصل شد. روند تغییرات مقدار پاراسیمن در پاسخ به تیمار مس و روی در جدول ۳ آمده است. کاربرد سطوح ۱۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم روی به ترتیب باعث افزایش ۱۰۲ و ۵۹/۲۵ درصدی در میزان این ترکیب گردید. کاربرد سطوح ۵ و ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم مس نیز باعث افزایش ۴۴/۷۸ و ۸۶/۸۶ درصدی آن شد. بیشترین میزان این ترکیب در تیمار $Cu_{25}Zn_{10}$ به میزان ۶/۴۹ درصد و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد به میزان ۲/۹۷ درصد به دست آمد. همان طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، کاربرد ۱۰ میلی گرم روی بر کیلوگرم بر مقدار ترکیب دلتا تری کارن تأثیر معنی‌داری نداشته است.

کاربرد بیشتر روی در خاک موجب افزایش ۲۵۶/۲۵ درصدی در مقدار این ترکیب شد. در ارتباط با تأثیر مس بر مقدار این ترکیب، نتایج نشان داد که اختلاف هر دو سطح مس (۵ و ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بر مقدار این ترکیب معنی‌دار شد، به طوری که سطح ۵ میلی گرم در کیلوگرم مس بیشترین مقدار این ترکیب به میزان ۲/۲۸ درصد و با افزایش ۶۱۲/۵ درصدی نسبت به شاهد را ایجاد کرد اما در سطح ۲۵

در تیمار ترکیبی ۵ میلی گرم بر کیلوگرم مس و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم روی به میزان ۱/۰۵ و کمترین مقدار آن نیز، در تیمار کاربرد ۵ میلی گرم در کیلوگرم مس و عدم کاربرد روی به میزان ۰/۳۸ مشاهده شد. با این که سزکوئیترین های اکسیژنه در تیمار شاهد وجود نداشت اما با کاربرد تیمار مس و روی هر چند به مقدار جزئی در اسانس این گیاه دارویی ظاهر شد. مقدار کلی سزکوئیترین ها نیز به جز در تیمار کاربرد ۵ میلی گرم در کیلوگرم در سایر تیمارها نسبت به شاهد افزایش داشت.

سزکوئیترین های هیدروکربنه با کاربرد سطوح ۱۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم روی بیشتر از شاهد بود. با این که در تیمار ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم روی نسبت به ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم همین عنصر کاهش داشت اما در هر دو تیمار بیشتر از شاهد بود. با کاربرد ۵ میلی گرم بر کیلوگرم مس مقدار سزکوئیترین های هیدروکربنه نسبت به شاهد کاهش اما با کاربرد سطوح بالاتر همین عنصر (۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) افزایش را نسبت به شاهد نشان داد. بیشترین مقدار سزکوئیترین های هیدروکربنه

جدول ۴- مقایسه مونوترین ها و سزکوئیترین های اسانس گیاه مرزه تحت تأثیر تیمارهای مختلف مس و روی

تیمار									طبقه بندی ترکیبات
CU ₂₅ Zn ₅₀	CU ₂₅ Zn ₁₀	CU ₂₅ Zn ₀	CU ₅ Zn ₅₀	CU ₅ Zn ₁₀	CU ₅ Zn ₀	CU ₀ Zn ₅₀	CU ₀ Zn ₁₀	CU ₀ Zn ₀	
۲۹/۶۳	۲۹/۸۹	۳۱/۸۲	۲۷/۴۲	۲۱/۷۳	۲۷/۹۱	۲۸/۸۵	۲۶/۵۳	۲۰/۴۸	مونوترین های هیدروکربنه
۶۶/۰۹	۶۷/۵۶	۶۶/۶۵	۶۸/۵۶	۷۵/۲۶	۶۹/۸۷	۶۶/۵۱	۷۱/۰۶	۶۵/۹۸	مونوترین های اکسیژن دار
۹۵/۷۲	۹۷/۴۵	۹۸/۴۷	۹۵/۹۸	۹۶/۹۹	۹۷/۷۸	۹۵/۳۶	۹۷/۵۹	۸۶/۴۶	مونوترین های کل
۰/۸۵	۰/۷۳	۰/۷۲	۰/۹۶	۱/۰۵	۰/۳۸	۰/۷۵	۰/۹۸	۰/۶۱	سزکوئیترین های هیدروکربنه
۰/۱۵	۰/۴۶	-	۰/۳	۰/۶۴	-	-	۰/۱۵	-	سزکوئیترین های اکسیژن دار
۱	۱/۱۹	۰/۷۲	۱/۲۶	۱/۶۹	۰/۳۸	۰/۷۵	۱/۱۳	۰/۶۱	سزکوئیترین های کل

بحث

نتیجه عملکرد اسانس را، افزایش عملکرد ماده خشک در سطوح کم مس و روی دانست. با توجه به تأثیر عناصر مس و روی بر رشد و نمو گیاه، می توان یکی از دلایل افزایش فعالیت فتوسنتزی را مرتبط با مهم ترین بخش فتوسنتز کننده در گیاه یعنی برگ ها دانست. به طوری که استفاده از عناصر غذایی باعث افزایش سطح برگ می شود که این افزایش به تولید بیشتر غده های ترشح کننده اسانس در برگ منجر می گردد (Sifola and Barbieri, 2006) همچنین با افزایش سطح برگ، تعداد روزنه به عنوان محل ورود دی اکسید کربن و گلوکز به عنوان پیش ماده مناسب در سنتز اسانس ها و به عنوان نتیجه فرآیند فتوسنتز زیاد شده و در نتیجه

افزایش معنی دار عملکرد اسانس در سطوح اندک مس و روی (به ترتیب ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، نشان دهنده اهمیت عناصر ریزمغذی در کشت و زرع گیاه دارویی مرزه است. با مصرف مس و روی در سطوح کم به دلیل تأمین نیازهای تغذیه ای، افزایش کارآیی جذب سایر عناصر غذایی کم مصرف (Pande et al., 2007) و پر مصرف (Khan et al., 2002) فعال سازی آنزیم های مرتبط با تکثیر و طویل شدگی سلول ها (Figueiredo et al., 2012)، فعالیت فتوسنتزی و توسعه پوشش گیاهی افزایش می یابد.

بنابراین می توان یکی از دلایل افزایش محتوا و در

دارویی انجام شده است. حد بحرانی عنصر روی بر تولید منتول در گیاه نعنا ژاپنی بررسی و گزارش شده است که با افزایش روی تا ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر به طور معنی‌داری افزایش و در سطوح بالاتر کاهش معنی‌داری را نشان داد (Misra and Sharma, 1991). همچنین Aziz و همکاران (۲۰۱۰) افزایش ترکیبات اصلی اسانس گیاه علف لیمو را با کاربرد روی و آهن گزارش داده‌اند. بنا به گزارش آنها کاربرد محلول پاشی ۱۰۰ پی‌پی‌ام آهن و ۱۰۰ پی‌پی‌ام روی مؤثرترین تیمار برای افزایش ژرانیول و نرال (عمده‌ترین ترکیبات اسانس علف لیمو) بود. همان طور که مشاهده شد کاربرد مس و روی در سطوح پایین به عنوان عناصر ریز مغذی باعث افزایش ترکیبات عمده اسانس و بهبود کیفیت اسانس شد. همچنین کاربرد سطوح بالای این فلزات نیز نه تنها بر ترکیبات عمده اثر منفی نداشت بلکه اثر مثبت معنی‌داری نیز نداشته است. بنابراین، کشت و زرع این گیاه دارویی می‌تواند در زمین‌های کشاورزی دارای آلودگی متوسط فلزات مس و روی پیشنهاد گردد، بدون این که ترکیب اسانس تغییر قابل توجهی را داشته باشد و بر بازارپسندی آن تأثیر منفی داشته باشد. به هر حال، کاربرد تیمارهای مس و روی موجب افزایش معنی‌دار در مقدار ترکیبات آلفا پینن، بتا پینن و میرسن شد. از سوی دیگر، ترکیبات ۴-ترپینل استات، کارواکریل استات و بتا کاریوفیلن با کاربرد تیمارهای مس و روی کاهش معنی‌داری نشان دادند.

در آزمایش حاضر، تیمارهای مختلف مس و روی بر ترکیب تیمول تأثیر معنی‌داری نداشتند. همچنین ترکیبات آلفا فیلاندرن، سیس ساینین هیدرات، لینالول، تیمول متیل اتر، آلفا هومولن، بتا بیسابولن، اسپاتونول و کاریوفیلن اکسید در تیمار شاهد مشاهده نشدند و با اعمال تیمارهای مس و روی در اسانس پدیدار شدند.

سوبسترای لازم برای سنتز اسانس در گیاه فراهم می‌شود (Sangwan *et al.*, 2001). به این ترتیب می‌توان با کاربرد مس و روی در سطوح پایین، علاوه بر افزایش عملکرد ماده خشک، از عملکرد اسانس قابل توجهی برخوردار بود. پیش از این اثر مثبت عناصر ریز مغذی بر عملکرد اسانس نیز گزارش شده است (Hendawy and Khalid, 2005). در مورد کاهش عملکرد اسانس در غلظت زیاد مس و روی باید اظهار داشت که این امر ممکن است به علت بازدارندگی این عناصر سنگین بر رشد و نمو و کاهش رشد تحت تأثیر فلزات سنگین نسبت داده شود. نتایج تحقیق حاضر مبنی بر کاهش عملکرد اسانس در غلظت زیاد مس و روی با یافته‌های Misra و Sharma (۱۹۹۱) و Elzaawely و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت دارد.

ترکیبات اسانس گیاه مرزه تابستانه شامل پاراسیمن، کارواکرول، تیمول و گاماترپین به عنوان ترکیبات اصلی این گیاه در مطالعات زیادی گزارش شده است. در مطالعه‌ای، Baher و همکاران (۲۰۰۰) کارواکرول و گاماترپین را ترکیبات عمده اسانس گیاه مرزه تابستانه معرفی کردند و همچنین کاهش گاماترپین و افزایش کارواکرول تحت تنش خشکی در نتایج آنها به اثبات رسید. همچنین Baser و همکاران (۲۰۰۴) اسانس مرزه تابستانه زراعی و خودرو را از ۲۰ منطقه مختلف در ترکیه بررسی و مشاهده نمودند که در تمامی نمونه‌های زراعی، کارواکرول بیشترین درصد را به خود اختصاص داده بود اما در نمونه‌های خودرو ترکیب تیمول بیشترین درصد را داشت. Hadian و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند که کارواکرول (۴۲-۸۳/۳ درصد)، گاماترپین (۵/۰-۲۸/۵ درصد) و پاراسیمن (۱-۱۷/۱ درصد) ترکیب عمده گیاه مرزه تابستانه بود. مطالعات زیادی پیرامون تأثیر عناصر روی و مس بر ترکیبات اسانس دیگر گیاهان

روی باید اظهار داشت که بیوسنتز اسانس ها در غده‌های ترشحی اتفاق می‌افتد که از لحاظ کربن هتروتروف هستند، بنابراین وجود منبع کربن از جمله ترکیبات فتوسنتزی مانند سوکروز، گلوکز و تثبیت کربن برای بیوسنتز ترکیبات ترپنوئیدی لازم و ضروری است (Mc-Garvey and Croteau, 1995)، بنابراین تغییرات بیوسنتز ترکیبات ترپنوئیدی از جمله مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌ها ممکن است به علت تغییرات بیوانرژی‌تیک سلول‌های گیاهی در پاسخ به فلزات مس و روی باشد و به نظر می‌رسد که یکی از دلایل اختلاف در مقدار و نوع برخی از مواد مؤثره در اسانس گیاه مورد آزمایش، مربوط به اختلاف جایگاه‌های بیوسنتزی ترکیبات از نظر بهره‌گیری از منابع انرژی باشد.

جمع‌بندی

مقایسه عملکرد و ترکیبات اسانس گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) در گیاهان تحت تیمارهای مختلف مس و روی با گیاهان شاهد نشان داد که مقدار این شاخص‌ها و به ویژه مونوترپن‌های اکسیژنه با کاربرد سطوح کم مس و روی افزایش و با کاربرد سطوح بالاتر همین عناصر از مقدار آنها کاسته شد. بنابراین، این گیاه می‌تواند به عنوان یک گیاه جانشین در اراضی کشاورزی حاوی مقادیر اندکی از این عناصر کشت شود بدون آن که فرآورده‌های تجاری و دارویی با ارزش آن آلوده به این عناصر شود.

سپاسگزاری

نگارندگان از اعضا و کارشناسان محترم آزمایشگاه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران به خاطر همکاری صمیمانه در اندازه‌گیری ویژگی‌های خاک قدردانی می‌نمایند.

بررسی‌های دیگری در مورد تغییر ترکیبات اسانس به وسیله مس و سایر آلاینده‌ها گزارش شده است. به طوری که Berta و همکاران (۱۹۹۷) تغییرات در کمیت و کیفیت ترپن‌های موجود در گیاه کاج جنگلی را در دو محیط تمیز و آلوده (شهری) بررسی و گزارش کردند که ده ترکیب ترپن در کاج‌های روئیده در محیط شهری شناسایی شد که نسبت به کاج‌های روئیده در محیط سالم دو عدد بیشتر بود. همچنین در کاج‌های روئیده در محیط آلوده، مقدار سیترال، کامفن، میرسن و به ویژه آلفا پینن، بسیار اندک بود، در حالی که مقدار بتاپینن، پاراسیمین، آلفا بیسابولول، اژونول، کاروون و ترپینول بالاتر از درختان روئیده در محیط سالم بود. همچنین Abdelnaser و همکاران (۲۰۰۷) سمیت سولفات مس را بر گیاه دارویی *Alpinia zerumbet* بررسی و گزارش کردند که سمیت سولفات مس باعث افزایش درصد ترکیبات ۱ و ۸- سینئول، لینالول، کامفور، بورنتول، ۴- ترپین ال، کریپتن، آلفا ترپینل و کومین آلدئید گردید.

در رابطه با تغییر ترکیبات اسانس می‌توان اظهار نمود که با توجه به این که خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات عمده اسانس این گیاه در مطالعات دیگر به اثبات رسیده است (Choi et al., 2000؛ Milos and Makota, 2012)، همچنین افزایش درصد ترکیبات کم یا ظهور ترکیبات جدید در غلظت‌های زیاد مس و روی که خواص آنتی‌اکسیدانی آنها اثبات شده است (Ruberto and Baratta, 2000)، می‌توان گفت که احتمالاً گیاه با افزایش اسانس‌های آنتی‌اکسیدان خود، مقاومت خود را در برابر تنش اکسیداتیو القا شده توسط سطوح بالای مس و روی افزایش می‌دهد و سلول‌های خود را در مقابل شرایط تنش محافظت می‌کند. در خصوص تغییرات میزان ترپنوئیدها تحت تأثیر مس و

منابع

- Abdelnaser, A., Elzaawely, T., Xuan, D. and Shinkichi, T. (2007) Changes in essential oil, kava pyrones and total phenolics of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B. L. Burtt. & R. M. Sm. leaves exposed to copper sulphate. *Environmental and Experimental Botany* 59: 347-353.
- Abugassa, I. O., Bashir, A. T., Doubali, K., Etwir, R. H., Abu-Enawel, M. and Abugassa, S. O. (2008) Characterization of trace elements in medicinal herbs by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 278: 559-563.
- Adams, R. (2001) Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy. 4th edition, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, USA.
- Aziz, E. E., El-Danasoury, M. M. and Craker, L. E. (2010) Impact of sulphur and ammonium sulphate on dragonhead plants grown in newly reclaimed soil. *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants* 16: 126-135.
- Baher, Z., Mirza, M., Ghorbanli, M. and Bagher Rezaii, M. (2000) The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L.. *Flavour and Fragrance Journal* 17: 275-277.
- Baser, K., Ozek, T., Kirimer, N. and Tumen, G. A. (2004) Comparative study of the essential oils of wild and cultivated *Satureja hortensis* L.. *Journal of Essential Oil Research* 16: 422-424.
- Berta, F., Supuka, J. and Chladna, A. (1997) The composition of terpenes in needles of *Pinus sylvestris* in a relatively clear and in a city environment. *Biologia* 52: 71-78.
- Bouyoucos, G. (1962) Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils. *Agronomy Journal* 54: 464-465.
- Bremner, J. M. and Mulvaney, C. S. (1982) Nitrogen-total. Part 2, Chemical and microbiological properties. In: *Methods of soil analysis* (Eds. Page, A. L., Miller, R. H. and Keeney, D. R.) 595-624. 2nd edition, American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.
- British Pharmacopoeia (1993) HMSO Publication, International edition, London.
- Choi, H., Song, H., Ukeda, H. and Sawamura, M. (2000) Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 4156-4161.
- Dicko, H. M., Gruppen, H., Traore, A. S., Voragen, A. G. J. and Berkel, W. J. H. V. (2006) Phenolic compounds and related enzymes as determinants of Sorghum for food use. *Biotechnology and Molecular Biology Review* 1(1): 21-38.
- Elzaawely, A., Xuan, T. and Tawata, S. (2007) Changes in essential oil, kava pyrones and total phenolics of *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burtt. & RM Sm. leaves exposed to copper sulphate. *Environmental and Experimental Botany* 59: 347-353.
- Figueiredo, D. D., Barros, P. M., Cordeiro, A. M., Serra, T. S., Lourenco, T., Chander, S., Oliveira, M. M. and Saibo, N. J. (2012) Seven zinc-finger transcription factors are novel regulators of the stress responsive gene OsDREB1B. *Journal of Experimental Botany* 63: 3643-3656.
- Ghannadi, A. (2002) Composition of the essential oil of *Satureja hortensis* L. seeds from Iran. *Journal of Essential Oil Research* 14: 35-36.
- Grejtovsky, A., Grejtovsky, A., Markusova, K., Eliasova, A. and Safarik, P. J. (2006) The response of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) plants to soil zinc supply. *Plant, Soil and Environment* 52: 1-7.

- Gulluce, M., Sokmen, M., Daferera, D., Agar, G., Ozkan, G., Kartal, N., Polissiou, M., Sokmen, A. and Sahin, F. (2003) *In vitro* antibacterial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L.. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 3958-3965.
- Gupta, P. K. (1999) Soil, plant, water and fertilizer analysis. Agro Botanica Publishers, Bikaner, India.
- Hadian, J., Nejad-Ebrahimi, S. and Salehi, P. (2010) Variability of morphological and phytochemical characteristics among *Satureja hortensis* L. accessions of Iran. Industrial Crops and Products 32: 62-69.
- Hajhashemi, V., Ghannadi, A. and Pezeshkian, S. (2002) Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Satureja hortensis* L. extracts and essential oil. Journal of Ethnopharmacology 82: 83-87.
- Haluschak, P. (2006) Laboratory methods of soil analysis. Manitoba Soil Survey, Canada.
- Hendawy, S. F. and Khalid, A. (2005) Response of sage (*Salvia officinalis* L.) plants to zinc application under different salinity levels. Journal of Applied Sciences Research 1(2): 147-155.
- Khan, M., Qasim, M. and Jamil, M. (2002) Effect of different levels of zinc on the extractable zinc content of soil and chemical composition of rice. Asian Journal of Plant Sciences 1(1): 20-21.
- Marschner, H. (1986) Function of mineral nutrients, Micronutrients. In: Mineral nutrition of higher plants (Ed. Marschner, H.) 269-300. Academic Press, New York.
- Mc-Garvey, D. and Croteau, R. (1995) Terpenoid metabolism. The Plant Cell 7: 1015-1026.
- Milos, M. and Makota, D. (2012) Investigation of antioxidant synergisms and antagonisms among thymol, carvacrol, thymoquinone and p-cymene in a model system using the Briggs-Rauscher oscillating reaction. Food Chemistry 131: 296-299.
- Misra, A. and Sharma, S. (1991) Critical Zn concentration for essential oil yield and menthol concentration of Japanese mint. Fertilizer Research 29: 261-265.
- Murch, S., Kamran, H., Rupasinghe, H. and Saxena, P. (2003) Nickel contamination affects growth and secondary metabolite composition of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). Environmental and Experimental Botany 49: 251-257.
- Page, A. (1982) Methods of soil analysis. Part 2, Chemical and microbiological properties- Agronomy monograph, 2nd edition, Madison, Wisconsin.
- Pande, P., Anwar, M., Chand, S., Yadav, V. K. and Patra, D. D. (2007) Optimal level of iron and zinc in relation to its influence on herb yield and production of essential oil in menthol mint. Communications in Soil Science and Plant Analysis 38: 561-578.
- Ruberto, G. and Baratta, M. (2000) Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. Food Chemistry 69: 167-174.
- Sangwan, N. S., Farooqi, A. H. A., Shabih, F. and Sangwan, R. S. (2001) Regulation of essential oil production in plants. Journal of Plant Growth Regulation 34: 3-21.
- Sifola, M. and Barbieri, G. (2006) Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. Scientia Horticulturae 108: 408-413.
- Soltaninejad, R., Razavizadeh, R. and Oloumi, H. (2013) A study on changes of some metabolites of *Glycyrrhiza glabra* L. seedlings treated with copper oxide and zinc oxide. Iranian Journal of Plant Biology 5(18): 67-80.
- Sparks, D. L., Page, A., Helmke, P. A., Loeppert, R. H., Soltanpour, P. N., Tabatabai, M. A., Johnston, C. T. and Sumner, M. E. (1996) Methods of soil analysis. Part 3, Chemical methods. Soil Science

Society of America Inc., Madison, Wisconsin.

Walkley, A. and Black, A. (1934) An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-38.

Zheljazkov, V. D., Craker, L. E. B. and Xing, B. (2006) Effects of Cd, Pb and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint and basil. *Environmental and Experimental Botany* 58: 9-16.

Evaluation of essential oils content and yield of *Satureja hortensis* in response to different copper and zinc treatments

Javad Hadian ¹, Hemayat Asgari Lajayer ², Babak Motesharezadeh ³
and Mansour Ghorbanpour ^{4*}

¹ Department of Agricultural Engineering, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

² Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

³ Department of Soil Science Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

⁴ Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, 38156-8-8349, Arak, Iran

Abstract

Copper (Cu) and zinc (Zn) are the important trace elements for plant growth, which also play key roles in many structural and biochemical function in plants. In this study, regarding the high importance of the Savory (*Satureja hortensis*) plants in pharmaceuticals and food industries, the effects of different levels of Cu and Zn on essential oils content, yield and composition of reference plant were undertaken to investigate. The employed treatments were considered as Cu (0, 5, 25 mg kg⁻¹ soil from CuSO₄.5H₂O) and Zn (0, 10, 50 mg kg⁻¹ soil from ZnSO₄.2H₂O) as well as their combination. Isolated essential oil (EO) was analyzed using GC and GC-MS apparatus. The results revealed that the highest and the lowest EO content and yield are obtained in Cu₅Zn₁₀ and Cu₂₅Zn₅₀ treatments, respectively. The GC-MS analysis showed that carvacrol, γ -terpinene, p-cymene and delta-3-carene are the main EO constituents and found in Cu₅Zn₁₀, Cu₂₅Zn₅₀, Cu₂₅Zn₁₀ and Cu₅Zn₀ treatments, respectively. The comparison of EO content, yield and compositions of plants treated with different Cu and Zn levels indicated that this characteristics and especially oxygenated monoterpenes value are increased with the low levels of employed elements and subsequently decreased with increasing the elements dosages.

Key words: Essential oils, Sesquiterpenes, Zinc, Copper, *Satureja hortensis*, Monoterpenes