

# تأثیر تنش خشکی بر ویژگی‌های رشدی، بیوشیمیایی و اسانس برخی اکوتیپ‌های کاکوتی کوهی

(*Ziziphora clinopodioides* Lam.)

## چکیده

تغییر اقلیم و دوره‌های طولانی خشکی سبب شده است تا بسیاری از تحقیقات بر گیاهان مقاوم به تنش خشکی متمرکز شوند. کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) از تیره نعنا (Lamiaceae) یکی از گیاهان دارویی مهم در طب گیاهی و درمان بیماری‌های تنفسی به شمار می‌رود که علاوه بر پراکندگی جغرافیایی وسیع در ایران، دارای تنوع چشمگیر مورفولوژیک و فیتوشیمیایی نیز می‌باشد. به منظور بررسی تأثیر تنش خشکی بر خصوصیات رشدی و بیوشیمیایی کاکوتی کوهی، آزمایشی به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. سطوح مختلف آبیاری به عنوان عامل اصلی شامل آبیاری در سطح ۹۰-۱۰۰ درصد آب قابل دسترس ریشه گیاه (آبیاری نرمال)، قطع آبیاری در مرحله رویشی (دو ماه بعد از انتقال به زمین اصلی) و قطع آبیاری در مرحله شروع غنچه‌دهی بود و نوع اکوتیپ به عنوان عامل فرعی شامل اکوتیپ‌های گلوگاه، طالقان، کبودرآهنگ، شازند و ولیان در نظر گرفته شد. برداشت گیاهان در مرحله ۵۰ درصد گل‌دهی به منظور اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه انجام گرفت. همچنین، اسانس گیاهان با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج و نوع و مقدار اجزای آن با استفاده از دستگاه GC-MS تعیین و اندازه‌گیری شد. قطع آبیاری در هر دو مرحله رویشی و زایشی سبب کاهش وزن خشک برگ گردید. اما سطح برگ تنها با تنش مرحله رویشی کاهش یافت. مقادیر کلروفیل a و b و کلروفیل کل، کاروتنوئید، نشت یونی و محتوای نسبی آب برگ تحت تأثیر تنش قرار نگرفت، درحالی‌که محتوای فنل کل با اعمال تنش در مرحله رویشی افزایش یافت. علاوه بر این درصد اسانس در هر دو مرحله اعمال تنش افزایش داشت. بیشترین درصد اسانس در اکوتیپ‌های طالقان، گلوگاه و ولیان مشاهده شد. ترکیب پولگون ترکیب غالب اسانس اکثر تیمارها بود و بیشترین میزان آن (۳۹/۹ درصد) در گیاهان اکوتیپ طالقان که در مرحله رویشی تحت تنش خشکی بودند مشاهده شد. با در نظر گرفتن این نکته که بسیاری از شاخص‌های مورد بررسی تحت تأثیر تنش قرار نگرفتند، همچنین افزایش مشاهده شده در شاخص‌های مقدار فنل کل و درصد اسانس، می‌توان در مناطقی که با کمبود آب مواجه هستند با اعمال قطع آبیاری در هر یک از مراحل رویشی و زایشی با استفاده از اکوتیپ‌های گلوگاه و طالقان به بالاترین مقادیر اسانس و ترکیب پولگون دست یافت.

کلمات کلیدی: اسانس، اکوتیپ، پولگون، گیاه دارویی، GC-MS

## مقدمه

گیاهان تیره نعنا (Lamiaceae) از دیرباز به عنوان گیاهان دارویی در ایران مورد استفاده قرار می‌گرفته‌اند. جنس *Ziziphora* در بازار گیاهان دارویی ایران دو گونه پرمصرف دارد که شامل گونه چندساله *Z. clinopodioides* با نام کاکوتی کوهی و گونه یکساله *Z. tenuior* با نام کاکوتی می‌باشد. کاکوتی کوهی گستردگی جغرافیایی وسیعی در مناطق کوهستانی، دامنه‌های صخره‌ای و واریزه‌ای<sup>۱</sup> و مناطق استپی ارتفاعات مناطق خزری و ایرانی تورانی ایران دارد. از این رو، تنوع مورفولوژیکی فراوانی نیز در رویشگاه‌های مختلف نشان می‌دهد؛ به‌طوری‌که رشینگر<sup>۲</sup> (به نقل از Jamzad, 2012) ۹ زیرگونه از آن را در فلورا ایرانیکا معرفی کرده است. از مهم‌ترین ترکیبات اسانس کاکوتی کوهی می‌توان به پولگون، ایزومنتون، سینیول و پیپریتون اشاره کرد (Sajjadi et al., 2006). این گیاه بیشتر برای ناراحتی‌های قلبی، فشار خون بالا، برونشیت، تپش قلب غیر طبیعی، آسم و آبسه ریه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Tian et al., 2011).

با توجه به روند تغییرات اقلیمی در جهان به عنوان مهم‌ترین تهدید قرن حاضر، پیش‌بینی می‌شود که مدت و تناوب دوره‌های خشکسالی در سال‌های آینده افزایش یابد (Osmolovskaya et al., 2018). خشکسالی طی سال‌های ۱۹۹۸ تا ۲۰۱۷ بیش از ۱۲۰ میلیارد دلار خسارت وارد کرده است و از سال ۲۰۰۰ خشکی و دوره‌های آن تا ۲۹ درصد افزایش یافته است (Yin et al., 2024). در میان تنش‌های غیر زیستی، خشکی از شایع‌ترین، شدیدترین و اجتناب‌ناپذیرترین تنش‌های محیطی است و عاملی محدودکننده برای عملکرد و رشد و نمو گیاهان به شمار می‌رود.

<sup>1</sup> Colluvial Soil

<sup>2</sup> Rechinger

پدیده خشکی با ممانعت از رشد و نمو گیاه و تحت تاثیر قرار دادن تمام فعالیت‌های گیاه می‌تواند خسارات اقتصادی زیادی را به همراه داشته باشد. بنابراین، همانند سایر تنش‌های محیطی تاثیر منفی عمیقی بر ویژگی‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه دارد (Seleiman et al., 2021).

تنش خشکی ناشی از خشکسالی در زنجیره انتقال الکترون اختلال ایجاد می‌کند و منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، اکسیداسیون لیپیدهای غشا و بی‌ثباتی و آسیب به غشای سلولی می‌شود و گاهی ممکن است مرگ سلول‌های گیاهی را نیز به همراه داشته باشد (Chen et al., 2019). بسیاری از ترکیبات فنلی، مانند فلاونوئیدها، می‌توانند اثر گونه‌های فعال اکسیژن را خنثی کنند (González-Orenga et al., 2023). در شرایط کمبود آب، پژمردگی برگ‌ها به دنبال کاهش محتوای رطوبت نسبی برگ، افزایش تبخیر و کاهش جذب آب توسط سیستم ریشه ای گیاه اتفاق می‌افتد (Fathi & Barari Tari, 2016). تنش خشکی مزوفیل برگ را متاثر و از طریق کاهش سنتز آنزیم ریبولوز- بی فسفات و کاهش فعالیت روبیسکو و یا هر دوی آن‌ها ظرفیت فتوسنتزی را کاهش می‌دهد که جلوگیری از رشد، همراه با بسته شدن روزنه‌ها از اولین پاسخ‌های گیاهان به خشکی است (Shafiei et al., 2019).

ارزش تجاری گیاهان دارویی به حضور مواد موثره موجود در آنها وابسته است این مواد معمولاً در شرایط تنش افزایش می‌یابند. با افزایش تقاضا برای استفاده از گیاهان دارویی، توسعه کشت آنها در شرایط نامطلوب محیطی مانند شرایط خشکی سبب حفظ تنوع زیستی آنها و پایداری صنایع دارویی خواهد شد. آب قابل دسترس گیاه از مولفه‌های اصلی تعیین‌کننده میزان اسانس و عملکرد گیاهان است. از آنجا که تنش خشکی از عوامل مهم تاثیرگذار در افزایش میزان اسانس بسیاری از گیاهان دارویی است، بنابراین بررسی حاضر با هدف مقایسه خصوصیات مورفولوژیک، رشدی، فیزیولوژیک، عملکرد و ترکیب‌های اسانس برخی اکوتیپ‌های کاکوتی کوهی تحت شرایط قطع آبیاری در دو مرحله رویشی و زایشی گیاه انجام شد.

## پیشینه پژوهش

تنش خشکی عامل مهمی در افزایش بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در بسیاری از گیاهان می‌باشد. گونه‌های مختلف گیاهی نیز تحت سطوح مختلف آبیاری واکنش‌های متفاوتی نشان می‌دهند. در گیاه دارویی آویشن، تغییری در عملکرد اسانس گونه *Thymus hyemalis* تحت چهار سطح مختلف آبیاری مشاهده نشد (Jordan et al., 2003). درحالی‌که، در گونه *T. zygis* بیشترین میزان ماده خشک و عملکرد اسانس در سطح آبیاری متوسط به‌دست آمد (Sotomayer et al., 2004). تاثیر تنش خشکی بر رشد و عملکرد گیاهان دارویی مختلف از قبیل آویشن قره باغی<sup>۱</sup> (Sodaiizadeh et al., 2017)، مرزه سهندی<sup>۲</sup> (Zakerian. et al., 2020)، ریحان<sup>۳</sup> (Musie Mulugeta & Radácsi 2022)، آویشن باغی<sup>۴</sup> (Nasri et al., 2022) و نعنای فلفلی<sup>۵</sup> (Ostadi et al., 2023) مورد ارزیابی قرار گرفته است. نتایج این پژوهش‌ها نشان داد که تنش خشکی در این گیاهان به طور کلی باعث کاهش صفات رشدی، میزان رطوبت نسبی آب برگ و افزایش نشت یونی بجز آویشن قره باغی شد که نشان از تحمل نسبی خوب این گیاه نسبت به تنش می‌باشد. کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل a در گیاه آویشن باغی تحت شرایط خشکی (Nasri et al., 2022) و افزایش مقدار آن در آویشن قره باغی (Sodaiizadeh et al., 2017) نیز گزارش شده است، اما این شاخص در مرزه سهندی (Zakerian et al., 2020) تحت تاثیر قرار نگرفت. همچنین، کاهش مقدار کلروفیل b تحت تنش خشکی در

<sup>1</sup> *Thymus fedtschenkoi* Ronn.

<sup>2</sup> *Satureja sahendica* Bornm.

<sup>3</sup> *Ocimum species*

<sup>4</sup> *Thymus vulgaris* L.

<sup>5</sup> *Mentha piperita* L.

مرزه سهندی (Zakerian et al., 2020) و آویشن باغی (Nasri et al., 2022) و افزایش مقدار آن در آویشن باغی (Nasri et al., 2022) گزارش شده است. تنش خشکی در گیاهان آویشن دناپی (Bahreininejad et al., 2013)، مرزه سهندی (Zakerian et al., 2020)، ریحان (Musie Mulugeta & Radácsi 2022)، آویشن باغی (Rahimi et al., 2022) و نناع فلفلی (Ostadi et al., 2023) باعث افزایش میزان فنل کل، فعالیت آنتی اکسیدانی، بازده و عملکرد اسانس شد.

پاسخ اکوتیپ های مختلف یک گونه به شرایط کشت می تواند متفاوت باشد. بررسی اکوتیپ های مختلف آویشن دناپی تحت شرایط تنش خشکی نشان داد که اکوتیپ های مختلف از نظر درصد اسانس، میزان ماده خشک، کلروفیل، کاروتن، پرولین و فعالیت آنزیم های کاتالاز، آسکورات پراکسیداز، گلوکاتایون پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، واکنش متفاوتی به تیمارهای اعمال شده داشتند (Khorshidi et al., 2018).

پژوهش های پیشین در ارتباط با اثر تنش خشکی روی کاکوتی کوهی بسیار محدود است. مقایسه گیاه کاکوتی کوهی با سه گیاه دارویی آویشن شیرازی، آویشن باغی و کلپوره، مقاومت بیشتر گیاه کاکوتی کوهی به تنش خشکی را نسبت به سه گیاه دارویی آویشن شیرازی، آویشن باغی و کلپوره نشان داد. تنش خشکی سبب افزایش عدد کلروفیل متر و وزن ویژه برگ در گیاه کاکوتی کوهی گردید. در این بررسی کاکوتی کوهی و آویشن باغی جهت کشت در مناطق خشک و نیمه خشک توصیه شد (Koocheki et al., 1383). اعمال تنش خشکی در کاکوتی کوهی سبب کاهش وزن خشک بوته، برگ و ساقه و مقادیر کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و عملکرد اسانس شد و استفاده از سالیسیلیک اسید مقادیر این صفات را افزایش داد (Heidarzadeh et al., 2021). در پژوهشی دیگر اثرات نامطلوب تنش خشکی با کاربرد دو نوع قارچ میکوریز (*Glomus intraradices* و *G. versiforme*) کاهش یافت و میزان استقرار گیاه، ارتفاع گیاه و وزن خشک گیاه بهبود پیدا کرد (Azimi et al., 2018).

پاسخ اکوتیپ های مختلف کاکوتی کوهی به تنش خشکی تاکنون بررسی نشده است، لذا در بررسی حاضر تغییرات صفات رشدی، بیوشیمیایی و اسانس چند اکوتیپ کاکوتی کوهی تحت تنش قطع آبیاری بررسی شد.

## روش شناسی پژوهش

این تحقیق در سال های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰، در ایستگاه تحقیقات گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران واقع در محمد شهر کرج و به منظور بررسی اثر قطع آبیاری در دو مرحله رشدی روی اکوتیپ های مختلف کاکوتی کوهی انجام شد. نمونه های بذر از رویشگاه های طبیعی گیاه جمع آوری شد. اطلاعات کلیماتولوژی رویشگاه ها بر اساس اعلام سازمان هواشناسی کل کشور در جدول ۱ آمده است. آزمایش به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار طراحی و اجرا گردید. سطوح عامل اصلی شامل شاهد (آبیاری به میزان ۹۰-۱۰۰ درصد آب قابل دسترس گیاه)، قطع آبیاری در مرحله رویشی (در زمان استقرار کامل گیاه، دو ماه بعد از انتقال به زمین اصلی) و قطع آبیاری در مرحله زایشی (شروع غنچه دهی) و عامل فرعی شامل پنج اکوتیپ کاکوتی کوهی (ولیان، طالقان، گلوگاه، کبودرآهنگ و شازند) بود.

به منظور تعیین دور آبیاری، ابتدا ویژگی های خاک مزرعه از طریق نمونه برداری از عمق ۳۰ سانتی متری خاک مزرعه تعیین شد. بر این اساس، بافت خاک از نوع لومی (شامل ۱۹ درصد رس، ۴۸ درصد سیلت و ۲۳ درصد شن)، ضریب خاک ۱/۳، نقطه پژمردگی دائم ۱۶/۲۰ درصد و ظرفیت مزرعه ای خاک ۲۳/۶۹ درصد تعیین شد. سپس میزان آب قابل دسترس ریشه گیاه براساس رابطه ۱ به دست آمد (Nogozhi & Edgo, 2006).

$$TAW = DRZ(FC - PWP) / 100$$

در این رابطه TAW، آب قابل دسترس گیاه برحسب میلی متر؛ DRZ<sup>۲</sup>، عمق منطقه توسعه ریشه بر حسب متر؛ FC، ظرفیت زراعی بر اساس ضریب خاک و PWP، نقطه پژمردگی دائم براساس ضریب خاک بر حسب متر مکعب می‌باشند. سپس مقدار و حجم آب آبیاری براساس ۹۰-۱۰۰ درصد آب قابل دسترس گیاه محاسبه و برای تیمار شاهد مورد استفاده قرار گرفت. رطوبت مورد نیاز خاک هر روز با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج TDR اندازه گیری شد و سپس آبیاری به صورت قطره‌ای اعمال شد. بسته به شرایط آب و هوایی، آبیاری به صورت روزانه یا یک روز در میان به مدت تقریبی ۲۱ دقیقه انجام شد.

بذر اکوتیپ‌های کاکوتی کوهی جمع‌آوری شده از استان های البرز، مازندران، همدان و مرکزی (جدول ۱) در هفته اول اسفند ۱۳۹۹ در سینی نشاء و در بستری شامل ۷۵ درصد کوکوپیت و ۲۵ درصد پرلیت در گلخانه با دمای روزانه ۱۸ تا ۲۵ و شبانه ۱۵-۲۰ درجه سلسیوس و در زیر سیستم مه پاش (میست) کشت و بعد از گذشت سه ماه در اواخر اردیبهشت سال ۱۴۰۰، پس از دو هفته مقاوم سازی گیاهان در محیط بیرون از گلخانه، در مرحله ۵ تا ۶ برگی به زمین اصلی منتقل شدند. تمام عملیات بعد از کاشت تا قبل از اعمال قطع آبیاری به صورت یکسان برای تمام کرت‌ها صورت گرفت. اعمال قطع آبیاری در دو مرحله رویشی (دو ماه پس از کاشت در زمین اصلی و پس از استقرار کامل گیاهان) و زایشی (پس از مشاهده غنچه ها، سه ماه پس از کاشت در زمین اصلی) انجام شد.

جدول ۱. مشخصات جغرافیایی و اقلیمی مناطق جمع آوری بذور اکوتیپ های کاکوتی کوهی

| اکوتیپ | استان    | رویشگاه    | ارتفاع از سطح دریا (متر) | طول جغرافیایی شرقی | عرض جغرافیایی شمالی | میانگین دمای سالیانه (سلسیوس) | میانگین بارش سالیانه (میلی متر) | رطوبت نسبی (درصد) |
|--------|----------|------------|--------------------------|--------------------|---------------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------|
| ۱      | البرز    | ولیان      | ۱۸۳۰                     | ۵۰°۵۰'۳۲/۷"        | ۳۶°۰۱'۰۶/۷"         | ۱۴/۶                          | ۳۱۹/۳                           | ۴۳/۳              |
| ۲      | البرز    | طالقان     | ۲۲۵۵                     | ۵۰°۴۵'۵۰"          | ۳۶°۱۰'۳۳"           | ۱۲/۹۵                         | ۴۱۵/۴                           | ۵۳/۳              |
| ۳      | مازندران | گلوگاه     | ۴۰                       | ۵۳°۴۸'۳۲"          | ۳۶°۴۳'۳۷"           | ۱۷/۶                          | ۵۹۴/۶                           | ۷۱/۲              |
| ۴      | همدان    | کبودر آهنگ | ۱۶۶۶                     | ۴۸°۴۳'۲۵"          | ۳۵°۱۲'۳۴"           | ۱۰/۱                          | ۲۸۹/۲                           | ۴۷/۶۵             |
| ۵      | مرکزی    | شازند      | ۱۹۲۰                     | ۴۹°۲۴'۳۷"          | ۳۳°۵۵'۴۵"           | ۱۲/۵                          | ۴۴۵/۵                           | ۴۳/۷              |

<sup>1</sup> Total available water

<sup>2</sup> direct root-zone irrigation

برداشت گیاهان در زمان مشاهده ۵۰ درصد گلدهی گیاهان در هر ردیف کشت و از فاصله حدود ۱۰ سانتی متری سطح خاک انجام شد. صفات رشدی گیاه شامل ارتفاع گیاه، طول برگ، سطح برگ (با استفاده از دستگاه سطح سنج)، تعداد میانگره ساقه، تعداد گل در گل آذین، وزن خشک گیاه و برگ به روش های معمول اندازه گیری شد. میزان نشت یونی و رطوبت نسبی بلافاصله پس از برداشت نمونه ها اندازه گیری شدند. برای اندازه گیری مقدار رنگیزه های فتوسنتزی و فنل کل نمونه های برگ تهیه و در نیتروژن مایع منجمد (انجماد در ۱۹۶- درجه سلسیوس) و سپس در فریزر ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل و کارتنوئید) به روش Lichtenthaler & Bushman (2001). محتوای رطوبت نسبی برگ به روش (Turner 1981)، نشت یونی با روش (Sairam 2001) و فنل کل به روش Singleton (1965) انجام شد.

## استخراج و تجزیه اسانس

استخراج اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب به مدت سه ساعت انجام شد (Omidbaigi, 2005). آنالیز ترکیب های اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی کوپل شده به طیف سنج جرمی (GC-MS) و با توجه به زمان بازداری، اندیس بازداری و مقایسه طیف های جرمی به دست آمده با طیف های جرمی موجود در کتابخانه دیجیتال دستگاه انجام شد. میزان کمی ترکیب ها نیز با محاسبه سطح زیر پیک هر ترکیب به دست آمد.

### مشخصات دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)

دستگاه کروماتوگراف گازی مورد استفاده مدل Agilent متصل به دتکتور FID (آشکار سازی یونیزاسیون شعله ای) بود. ستون دستگاه از نوع کاپیلاری HP-5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۵ میلی متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۵ میکرومتر بود. برنامه دمایی شامل ۵ دقیقه دمای ۶۰ درجه سلیوس بود. سپس با سرعت سه درجه سلسیوس بر دقیقه دما افزایش یافت و به مدت سه دقیقه دمای ثابت ۲۹۵ درجه سلیوس اعمال شد. دمای قسمت تزریق و آشکار ساز به ترتیب ۱۶۰ و ۲۴۰ درجه سلسیوس بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان یک میلی متر بر دقیقه استفاده شد.

### مشخصات دستگاه GC-MS

به منظور شناسایی و تعیین میزان ترکیبات اسانس از کروماتوگراف گازی مدل Agilent 7990B متصل به طیف سنج جرمی با ستون HP-5 (طول ستون ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۵ میلی متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۵) استفاده شد. از هلیوم با سرعت جریان یک میلی متر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. برنامه دمایی آن مشابه با برنامه دمایی GC بود. شناسایی ترکیب ها از طریق شاخص های بازداری و مقایسه طیف های جرمی به دست آمده با طیف های جرمی موجود در کتابخانه دیجیتال دستگاه انجام شد و میزان کمی ترکیب ها نیز با محاسبه سطح زیر پیک مربوط به هر ترکیب به دست آمد.

## تجزیه آماری

تجزیه واریانس داده ها بر اساس طرح کرت های خرد شده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و مقایسه میانگین ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم افزار Minitab 21 انجام شد. رسم نمودارها و جدول ها با نرم افزار اکسل ۲۰۱۶ و تجزیه خوشه ای بر اساس کلیه

ترکیب‌های اسانس به روش UPGMA و معیار فاصله توان دوم اقلیدسی انجام شد. ضرایب همبستگی صفات نیز بر اساس ضریب همبستگی پیرسون و با استفاده از نرم‌افزار SPSS 26 محاسبه گردید.

## یافته های پژوهش

### ویژگی های رشدی گیاه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر مرحله اعمال تنش خشکی بر صفات سطح برگ، وزن خشک بوته و وزن خشک برگ در سطح ۵ درصد معنی دار شدند. همچنین، اثر اکوتیپ بر ارتفاع گیاه، طول برگ و سطح برگ در سطح یک درصد معنی دار شد. اثر متقابل تنش در اکوتیپ تنها بر وزن خشک بوته و در سطح پنج درصد معنی دار شد. (جدول ۲).

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر مرحله تنش خشکی و اکوتیپ بر صفات رشدی کاکوتی کوهی

| میانگین مربعات |             |                          |         |         |                  |                        |                 |                   |                            | منابع<br>تغییرات    |
|----------------|-------------|--------------------------|---------|---------|------------------|------------------------|-----------------|-------------------|----------------------------|---------------------|
| درجه<br>آزادی  | ارتفاع گیاه | تعداد<br>سرشاخه<br>گلدان | طول برگ | سطح برگ | تعداد<br>میانگره | تعداد گل در<br>گل آذین | وزن خشک<br>بوته | وزن<br>خشک<br>برگ | درصد<br>وزن<br>خشک<br>بوته |                     |
| ۲              | ۵۵/۱۳۷      | ۸۸/۱۸۱                   | ۲۱/۲۸۲  | ۵۱۸۴    | ۰/۴۷۷            | ۰/۲۰۷                  | ۶۹۸/۵۸۴         | ۲۷/۴۹             | ۴۴/۰۳۹                     | بلوک                |
| ۲              | ۱۸۳/۰۲۶     | ۵۳۵/۳۳۴                  | ۷/۳۵۹   | ۲۴۵۳۶*  | ۱/۰۰۹            | ۰/۲۰۷                  | ۲۷۷۵/۱۳۳*       | ۶۶۰/۱۶*           | ۸۱/۴۴۹                     | تنش                 |
| ۴              | ۱۹۲/۲۳۸     | ۵۷۹/۷۵۸                  | ۵/۹۶۱   | ۲۵۱۹    | ۰/۰۳۴            | ۰/۰۸۵                  | ۳۸۹/۵۸۳         | ۴۲/۹۶             | ۱۴/۵۲۹                     | خطای اصلی           |
| ۴              | ۳۱۰/۵۳۶**   | ۲۵۴/۰۶۲                  | ۴۰/۷۸** | ۱۰۵۷۶** | ۲/۱۵۰            | ۰/۲۷۸                  | ۱۲۷/۶۵۸         | ۸۰/۳۸             | ۳۴/۳۵۸                     | اکوتیپ              |
| ۸              | ۳۳/۴۹۶      | ۳۴۹/۷۶۸                  | ۶/۵۸۰   | ۴۱۴۹    | ۰/۳۳۱            | ۰/۱۰۴                  | ۶۶۴/۵۲۰*        | ۱۱۸/۷۷            | ۱۵۲/۴۱۶                    | تنش ×<br>اکوتیپ     |
| ۲۴             | ۳۴/۱۷۳      | ۲۴۷/۳۳۲                  | ۴/۰۸۰   | ۲۴۸۶    | ۰/۲۰۷            | ۰/۰۷۹                  | ۲۰۲/۸۹۶         | ۶۲/۰۸             | ۱۱۱/۵۶۷                    | خطای<br>فرعی        |
|                | ۱۳/۹۱       | ۳۵/۶۰                    | ۱۱/۹۱   | ۳۳/۹۹   | ۳۶               | ۷/۳                    | ۲۹/۵۵           | ۴۱/۳۶             | ۲۸/۲۵                      | ضریب<br>تغییرات (%) |

\* و \*\* به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشند.

### اثر تنش خشکی بر وزن خشک برگ و سطح برگ

تنش خشکی وزن خشک برگ یک بوته را کاهش داد. تنش در مرحله رویشی سبب کاهش وزن خشک برگ به میزان ۴۹/۱۷ درصد شد. بیشترین وزن خشک برگ (۲۵/۹۹ گرم در بوته) در تیمار شاهد بدست آمد. با اعمال تنش در مرحله رویشی سطح برگ به میزان ۳۸ درصد کاهش یافت، درحالیکه تنش در مرحله زایشی تأثیری بر این شاخص رشدی نداشت (جدول ۳).

### اثر نوع اکوتیپ بر ارتفاع، طول برگ و سطح برگ

در بین اکوتیپ ها، کمترین ارتفاع گیاه در اکوتیپ گلوگاه (۳۱/۹۴ سانتی متر) مشاهده شد، درحالی که سایر اکوتیپ ها تفاوت معنی داری نشان ندادند. این شاخص از ۴۲/۸۳ تا ۴۷/۴۲ سانتی متر در بین اکوتیپ ها متغیر بود (جدول ۳). اکوتیپ های مورد مطالعه از نظر طول برگ نیز

تفاوت معنی‌داری داشتند. نتایج نشان داد که اکوتیپ های کبودرآهنگ، شازند و ولیان به ترتیب با میانگین‌های ۱۸/۷۷، ۱۸/۶۱ و ۱۷/۷۸ سانتی‌متر بیشترین و اکوتیپ گلوگاه کمترین (میانگین ۱۳/۷۸ سانتی متر) مقادیر طول برگ را دارا بودند (جدول ۴).

جدول ۳. میانگین (mean±SE) سطح برگ و وزن خشک برگ در مراحل مختلف تنش خشکی

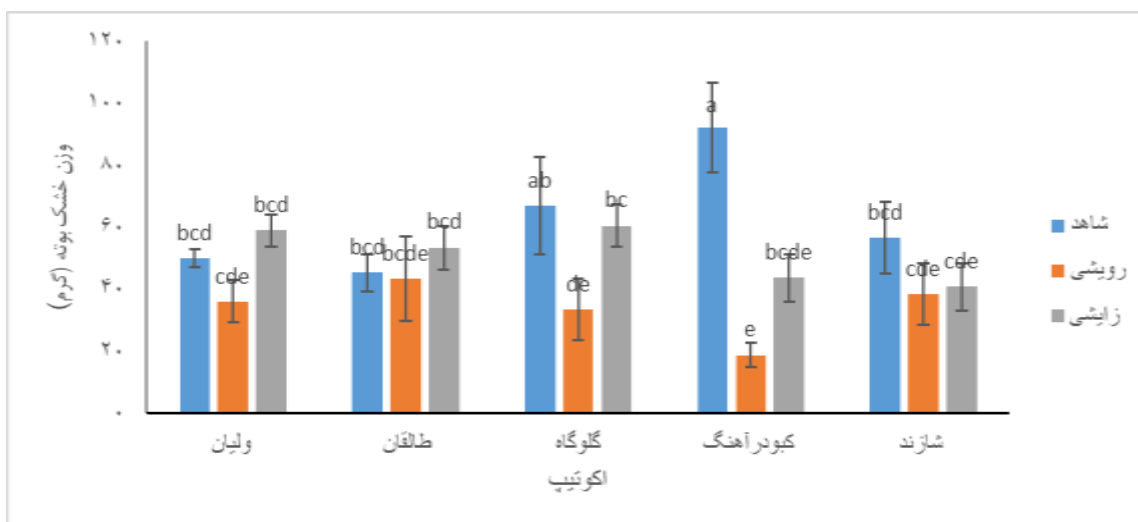
| تیمار                                                                           | سطح برگ (میلی متر مربع)    | وزن خشک برگ (گرم در بوته) |
|---------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------------|
| شاهد                                                                            | ۱۶۲/۴۷ ± ۱۷/۱ <sup>a</sup> | ۲۵/۹۹ ± ۳/۱۳ <sup>a</sup> |
| تنش در مرحله رویشی                                                              | ۱۰۰/۵۰ ± ۸/۰۶ <sup>b</sup> | ۱۲/۷۸ ± ۱/۵۶ <sup>b</sup> |
| تنش در مرحله زایشی                                                              | ۱۷۶/۵۱ ± ۱۹/۶ <sup>a</sup> | ۱۸/۳۵ ± ۱/۴۳ <sup>b</sup> |
| مقادیر ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار براساس آزمون LSD می‌باشند. |                            |                           |

جدول ۴. میانگین (mean±SE) برخی صفات رشدی اکوتیپ‌های کاکوتی کوهی مورد مطالعه

| ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)                                                          | طول برگ (میلی متر)        | سطح برگ (میلی متر مربع)     |
|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| ولیان                                                                            | ۴۳/۰۴ ± ۲/۸۱ <sup>a</sup> | ۱۶۶/۳۸ ± ۲۳/۱ <sup>a</sup>  |
| طالقان                                                                           | ۴۳/۶۳ ± ۳/۱۷ <sup>a</sup> | ۱۷۴/۷۳ ± ۲۰/۴ <sup>a</sup>  |
| گلوگاه                                                                           | ۳۱/۹۴ ± ۱/۲۹ <sup>b</sup> | ۹۱/۶۵ ± ۱۵/۸ <sup>b</sup>   |
| کبودرآهنگ                                                                        | ۴۷/۴۱ ± ۲/۲۱ <sup>a</sup> | ۱۳۴/۴۶ ± ۱۷/۵ <sup>ab</sup> |
| شازند                                                                            | ۴۳/۹۴ ± ۲/۸۲ <sup>a</sup> | ۱۶۵/۲۶ ± ۲۷/۳ <sup>a</sup>  |
| مقادیر ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند. |                           |                             |

اثر متقابل تنش خشکی و اکوتیپ بر وزن خشک بوته

بیشترین وزن خشک بوته در گیاهان تحت آبیاری نرمال اکوتیپ کبودرآهنگ مشاهده شد که با گیاهان اکوتیپ گلوگاه در همین شرایط آبیاری تفاوت معنی‌داری نشان نداد. وزن خشک بوته در هیچکدام از اکوتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری با سایرین نداشت. اگرچه، اکوتیپ کبودرآهنگ کمترین میزان را نشان داد. کاهش مقدار وزن خشک بوته با اعمال تنش در دو اکوتیپ گلوگاه (۵۰/۱۱ درصد نسبت به شاهد) و کبودرآهنگ مشاهده شد (شکل ۱).



شکل ۱. میانگین وزن خشک بوته در اکوتیپ‌های مورد مطالعه کاکوتی کوهی در مراحل مختلف تنش خشکی

## ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نشان داد که اثر مرحله اعمال تنش خشکی تنها بر مقادیر فنل کل و درصد اسانس معنی دار بود. اثر اکوتیپ نیز تنها بر درصد اسانس معنی دار شد. اثر متقابل اکوتیپ و مرحله اعمال تنش بر هیچ‌کدام از صفات معنی دار نشد (جدول ۵).

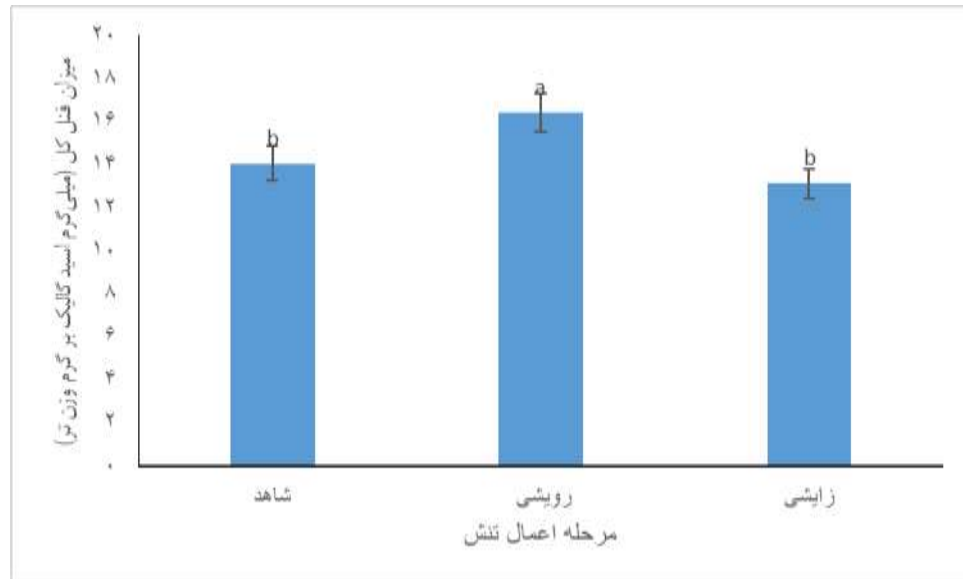
جدول ۵. نتایج تجزیه واریانس اثر مرحله اعمال تنش خشکی و اکوتیپ بر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی کاکوتی کوهی

| میانگین مربعات   |            |                    |           |           |            |            |          |         |            |              |
|------------------|------------|--------------------|-----------|-----------|------------|------------|----------|---------|------------|--------------|
| منابع تغییرات    | درجه آزادی | محتوای نسبی آب برگ | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل کل | کاروتنوئید | نشت یونی | فنل کل  | درصد اسانس | عملکرد اسانس |
| بلوک             | ۲          | ۱۱۸/۵۱۶            | ۰/۹۶۸     | ۰/۲۴۶     | ۱/۲۲۲      | ۰/۶۸۴      | ۵۵/۳۹۶   | ۳۲/۶۰۸  | ۰/۵۲۸      | ۰/۰۵۸        |
| تنش              | ۲          | ۴۷۷/۱۵۲            | ۴۵/۶۹۷    | ۹/۵۷۲     | ۹۷/۰۶۰     | ۳/۸۲۱      | ۲۱۵/۵۹۱  | ۴۳/۳۰۱* | ۳/۸۵۷**    | ۰/۵۶۸        |
| خطای اصلی        | ۴          | ۱۵۱/۴۶۲            | ۲۰/۶۶۸    | ۴/۰۷۶     | ۴۲/۴۵۸     | ۳/۴۱۱      | ۲۳۵/۱۸۴  | ۴/۶۱۲   | ۰/۴۵۶      | ۰/۱۷۸        |
| اکوتیپ           | ۴          | ۹۴/۱۶۸             | ۴/۷۶۱     | ۰/۷۱۶     | ۷/۱۸۹      | ۰/۱۶۴      | ۸۸/۸۰۶   | ۶/۶۵۴   | ۱/۶۶۰**    | ۰/۲۹۸        |
| تنش × اکوتیپ     | ۸          | ۹۷/۸۵۲             | ۶/۰۸۱     | ۱/۱۱۱     | ۱۲/۲۶۹     | ۰/۷۲۱      | ۱۷۱/۰۳۴  | ۹/۷۵۲   | ۰/۱۸۸      | ۰/۳۳۴        |
| خطای فرعی        | ۲۴         | ۸۱/۲۶۸             | ۱۰/۸۱۱    | ۱/۵۲۰     | ۲۰/۲۷۴     | ۱/۳۳۰      | ۹۰/۴۱۶   | ۸/۷۸۵   | ۰/۱۸۵      | ۰/۱۴۲        |
| ضریب تغییرات (%) |            | ۲۲/۴۰              | ۲۴/۱۷     | ۲۲/۳۶     | ۲۳/۵۵      | ۲۰/۸۷      | ۲۷/۱۷    | ۲۰/۳۸   | ۲۱/۷۳      | ۳۷/۹۲        |



\*\*\* به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشند.

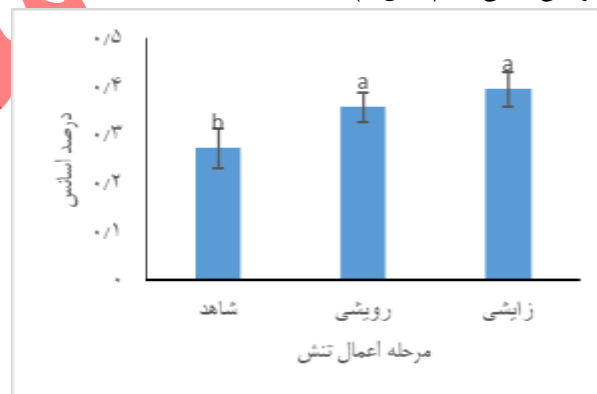
اثر مرحله اعمال تنش خشکی بر میزان فنل کل و درصد اسانس  
تنش خشکی در مرحله رویشی باعث افزایش ۱۴/۴۳ درصدی محتوای فنل کل (میانگین ۱۶/۴۲ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن تر) شد، درحالی که در مرحله زایشی تفاوتی با تیمار شاهد نداشت (شکل ۲).



شکل ۲. میانگین میزان فنل کل در مراحل مختلف اعمال تنش خشکی در کاکوتی کوهی

مقادیر ستون های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی دار می باشند.

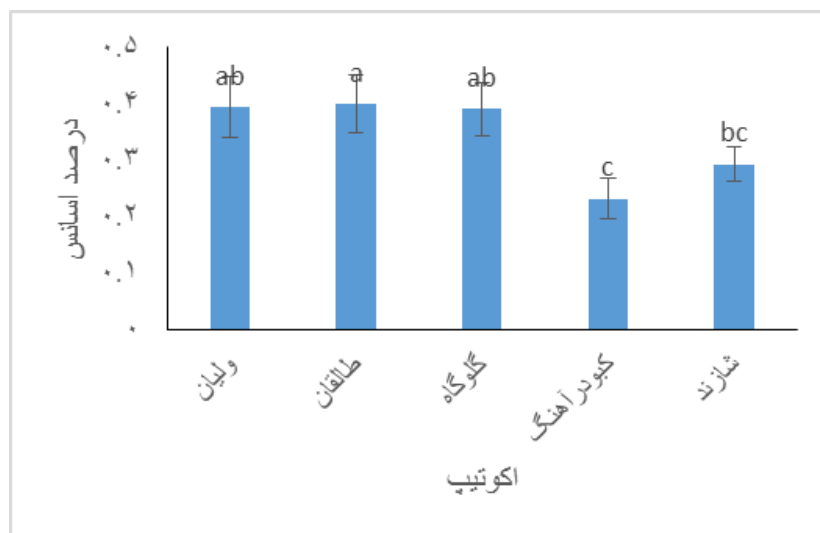
با اعمال قطع آبیاری در هر یک از مراحل رشدی درصد اسانس افزایش قابل ملاحظه ای داشت، به طوری که در مرحله زایشی ۳۱/۱۱ درصد و در **مرحله رویشی** افزایش نشان داد (شکل ۳).



شکل ۳. میانگین میزان اسانس در مراحل مختلف اعمال تنش خشکی در گیاه کاکوتی کوهی (منبع: یافته های تحقیق)

اثر اکوتیپ بر درصد اسانس

مقدار درصد اسانس در بین اکوتیپ‌های مورد بررسی متفاوت بود. اکوتیپ‌های گلوگاه، طالقان و ولیان بیشترین میزان اسانس را دارا بودند، در حالی که اکوتیپ کبودرآهنگ کمترین میزان را به خود اختصاص داد (شکل ۴).



شکل ۴. میانگین میزان اسانس در اکوتیپ‌های مورد مطالعه کاکوتی کوهی (منبع: یافته‌های تحقیق)

### ترکیب‌های اسانس

با جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس کاکوتی کوهی ۲۳ ترکیب موثره شناسایی گردید که ۸۷/۱۲ درصد ترکیب‌های اسانس را شامل شدند. ترکیب‌های غالب اسانس در اکثر اکوتیپ‌ها و تیمارهای مورد مطالعه شامل 1-cyclohexene-1- neoiso-menthol, menthol, pulegone و methanol,  $\alpha$ ,  $\alpha$ , 4-trimethyl- و در یک تیمار هم 1,8-Cineole بودند.

بیشترین میزان پولگون به ترتیب در گیاهان اکوتیپ‌های طالقان (۳۹/۹۰ درصد) و گلوگاه (۳۹/۴ درصد) تحت تنش در مرحله رویشی و کمترین میزان آن (۶/۰۷۵ درصد) در گیاهان اکوتیپ شازند در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین میزان منتول (۲۳/۶۵ درصد) نیز در گیاهان اکوتیپ شازند تحت تنش اعمال شده در مرحله زایشی و کمترین میزان آن (۳/۸۴۷ درصد) در گیاهان اکوتیپ کبودرآهنگ تحت تنش در مرحله رویشی به دست آمد. بیشترین (۱۱/۸۲۲ درصد) و کمترین (۰/۰۶۸ درصد) میزان نئوایزو-منتول در گیاهان شاهد و به ترتیب در اکوتیپ‌های ولیان و شازند حاصل شد. بیشترین میزان 1-cyclohexene-1-methanol,  $\alpha$ ,  $\alpha$ , 4-trimethyl- (۱۱/۹۲۱ درصد) در گیاهان اکوتیپ شازند تحت تنش در مرحله زایشی و کمترین میزان آن (۲/۹۵۱ درصد) در گیاهان اکوتیپ کبودرآهنگ تحت تنش خشکی در مرحله رویشی حاصل شد. بیشترین میزان ۸،۱-سینئول نیز در تیمار شاهد کبودرآهنگ مشاهده شد (جدول ۷).

میزان پولگون با اعمال تنش قطع آبیاری در اکوتیپ‌های طالقان، گلوگاه، و شازند افزایش یافت. اما در اکوتیپ کبودرآهنگ تنش قطع آبیاری سبب کاهش این ترکیب شد. این درحالی است که در این اکوتیپ ترکیب غالب اسانس در هر سه تیمار آبیاری ترکیب (شاهد، تنش در مرحله رویشی و زایشی به ترتیب ۴۹/۴۹، ۲۲/۴۸ و ۲۱/۲۶) بود که با اعمال تنش نیز مقدار آن کاهش یافت. بنابراین، اکوتیپ کبودرآهنگ می‌تواند یک کموتیپ از ۸،۱-سینئول باشد. میزان منتول نیز با اعمال تنش در هر دو مرحله تنها در اکوتیپ شازند افزایش چشمگیری داشت، درحالی که در سایر اکوتیپ‌ها اعمال تنش منجر به کاهش میزان این ترکیب شد. میزان نئوایزو-منتول نیز در اکوتیپ‌های ولیان، طالقان و گلوگاه با اعمال تنش کاهش یافت (جدول ۷).

جدول ۷. مقایسه ترکیبات اسانس اکوتیپ‌های کاکوتی کوهی در شرایط تنش خشکی

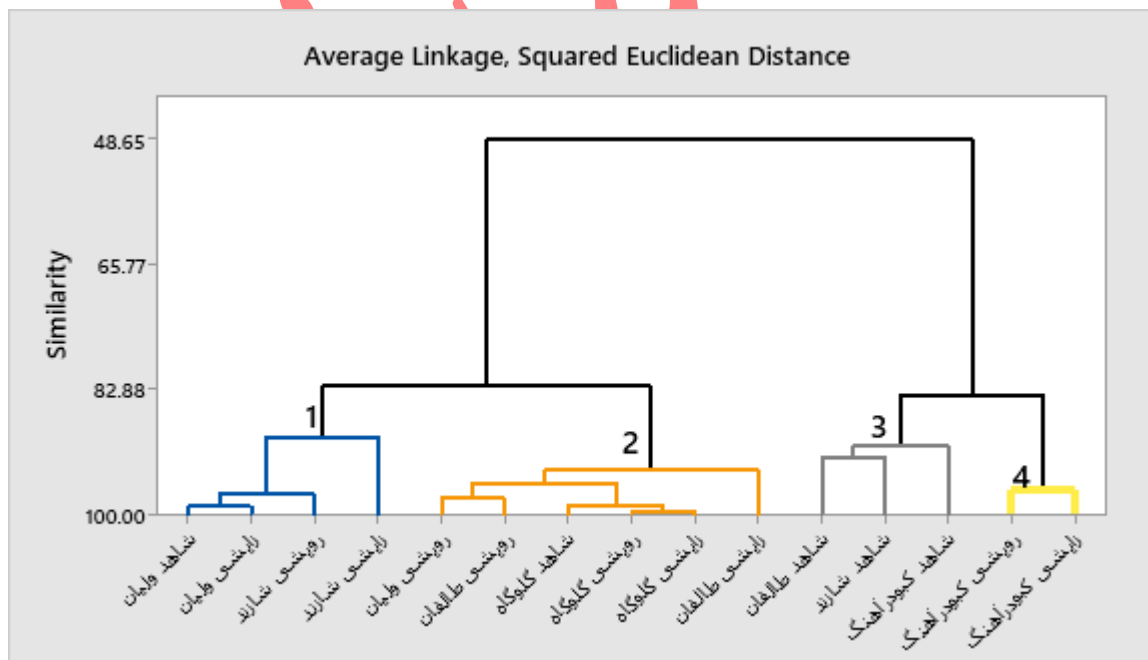
| ترکیب اسانس                                                                     | زمان<br>بازداری | اندیس<br>بازداری | شاهد         |              |              |             |              | تنش در مرحله رویشی |              |               |              |              | تنش در مرحله زایشی |             |              |              |              |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------|------------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
|                                                                                 |                 |                  | ولیان        | طلالقان      | گلگاه        | کبودآهنگ    | شازند        | ولیان              | طلالقان      | گلگاه         | کبودآهنگ     | شازند        | ولیان              | طلالقان     | گلگاه        | کبودآهنگ     | شازند        |
| $\alpha$ -Pinene                                                                | ۱۷/۹            | ۹۲۸/۷            | -/۰۶۲        | ۰/۱۹۷        | ۰/۱۴۱        | -/۱۴        | -/۲۲۳        | -/۰۸۶              | -/۰۷۷        | -/۰۱۰۶        | -/۲۲۳        | -/۰۱۰۹       | -/۰۱۱۱             | -/۰۸۶       | -/۰۹         | -/۳۱۵        | -/۰۶۴        |
| Sabinene                                                                        | ۱۹/۰۲           | ۹۶۹              | -            | -            | ۰/۱۲۹        | -           | -            | -                  | -/۰۴۵        | -/۰۱۶۴        | ۷/۴۳۱        | -            | ۱/۰۹۸              | ۰/۹۴۱       | ۰/۱۴۷        | ۱۰/۳۵۵       | -/۰۵۰۵       |
| beta.-Pinene                                                                    | ۱۹/۴۱           | ۹۷۲/۰            | ۲/۴۱۹        | ۶/۴۳۵        | ۴/۶۲         | ۵/۳۲۶       | ۸/۸۲۷        | ۲/۱۰۵              | ۲/۵۴۲        | ۴/۴۱۲         | ۱۰/۲۶۲       | ۳/۴۴         | ۳/۴۰۳              | ۲/۶۲۵       | ۳/۶۹۹        | ۱۰/۸۸۹       | ۱/۵۵۵        |
| 3-Octanone                                                                      | ۱۹/۶۵           | ۹۸۲/۲            | -/۲۸۱        | ۱/۳۴۲        | -/۴۶۵        | -/۷۴۱       | -/۴۱۴        | -/۳۶۱              | -/۲۸         | -/۶۳          | ۱/۷۴         | -/۵۳         | -/۴۵               | -/۲۴        | -/۵۵         | ۲/۱۰         | -/۲۳         |
| Myrcene                                                                         | ۱۹/۹۹           | ۹۸۷/۴            | -/۱۰         | -/۱۲         | -/۴۴         | -/۱۴۶       | -/۱۰         | -/۱                | -/۱۲۲        | -/۵           | -/۰۹۹        | -/۱۲         | -/۱۳               | -           | -/۴۱         | -            | -/۱۲         |
| p- Cymene                                                                       | ۲۱/۹            | ۱۰۲۰/۴           | -/۸۷         | ۴/۲۱         | -/۸۱         | ۳/۱۳        | ۵/۱۵         | ۱/۵۰               | -/۷۸         | ۱/۳۴          | ۷/۵۰         | ۱/۲۱         | ۱/۵۹               | ۱/۳۷        | ۱/۲۸         | ۹/۲۲         | -/۸۷         |
| <b>1,8- Cineole</b>                                                             | <b>۲۲/۲۳</b>    | <b>۱۰۲۵/۸</b>    | <b>۱/۹۹</b>  | <b>۱۰/۱۳</b> | <b>۵/۲۵</b>  | <b>۴۹/۹</b> | <b>۱۴/۹۲</b> | <b>۳/۰۷۷</b>       | <b>۲/۷۵</b>  | <b>۵/۳۷</b>   | <b>۲۲/۴۸</b> | <b>۴/۷۴</b>  | <b>۴/۹۷</b>        | <b>۳/۳۰</b> | <b>۵/۵۸</b>  | <b>۲۱/۲۶</b> | <b>۳/۱۰</b>  |
| $\gamma$ -Terpinene                                                             | ۲۳/۶۶           | ۱۰۵۳/۹           | -/۰۴         | ۱/۹۲         | -/۰۷         | ۱/۳۳        | ۱/۱۶         | -/۱۲               | -/۰۴۴        | -/۰۹          | ۱/۷۰         | -/۱۹         | -/۱                | -/۱۲۴       | -/۰۹         | ۲/۷۵         | -/۰۴۱        |
| cis- Sabinene hydrate (IPP vs. OH)                                              | ۲۴/۱۱           | ۱۰۶۱/۴           | -/۴۴         | ۴/۴۹         | -/۱۲         | ۲/۶۳        | ۴/۶۴         | -/۵۶۶              | -/۳۴۴        | -/۷۹          | ۵/۰۹         | -/۹۳         | -/۵۸               | -/۵۰        | -/۷۲         | ۶/۵۶         | -/۵۲         |
| Terpinolene                                                                     | ۲۵/۷۴           | ۱۰۸۳/۴           | -            | -/۴۴         | -            | -           | -/۲۵۸        | -                  | -/۰۴۵        | -             | -/۴۳۲        | -            | -                  | -/۰۴۳       | -            | -/۱          | -            |
| <b>1-cyclohexene-1-methanol,<math>\alpha,\alpha,4</math>-trimethyl-menthone</b> | <b>۲۸/۲۲</b>    | <b>۱۱۴۴/۰</b>    | <b>۹/۲۸</b>  | <b>۶/۴۶</b>  | <b>۱۲/۳۷</b> | <b>۹/۳۹</b> | <b>۷/۸۰</b>  | <b>۶/۸۳</b>        | <b>۷/۳۲۴</b> | <b>۱۲/۰۹۸</b> | <b>۲/۹۵</b>  | <b>۱۱/۶۱</b> | <b>۱۰/۵۲</b>       | <b>۶/۱۷</b> | <b>۱۳/۱۶</b> | <b>۱/۰۸</b>  | <b>۱۲/۹۲</b> |
| iso-menthone                                                                    | ۲۸/۶۳           | ۱۱۴۸/۰           | ۷/۴۸         | ۳/۴۴         | -/۰۸         | -/۰۸۵       | ۳/۲۴         | -/۱۱               | -/۱          | -/۰۷          | ۱/۷۷         | ۶/۷۱         | ۸/۰۴               | ۸/۴۰        | -/۰۷         | -/۹۹         | ۱۰/۲۲        |
| menthol                                                                         | ۲۹/۱۱           | ۱۱۵۷/۰           | ۸/۴۶         | ۴/۶۱         | ۶/۶۳         | ۴/۷۰        | -            | ۶/۲۶               | ۷/۳۲۳        | ۷/۳۴          | -            | ۵/۱۸         | ۷/۶۷               | ۶/۳۸        | ۵/۴۱         | ۱/۶۷         | ۳/۸۹         |
| <b>Iso-pulegone</b>                                                             | <b>۲۹/۵</b>     | <b>۱۱۷۱/۰</b>    | <b>۲/۵۰</b>  | <b>۱/۴۳</b>  | <b>۶/۶۳</b>  | <b>۲/۰۹</b> | <b>۲/۱۷</b>  | <b>۲/۷۱</b>        | <b>۲/۳۹</b>  | <b>۱/۶۵</b>   | <b>۱/۰۳</b>  | <b>۲/۴۱</b>  | <b>۲/۲۵</b>        | <b>۲/۳۵</b> | <b>۱/۷۳</b>  | <b>-/۵۸</b>  | <b>۴/۰۴</b>  |
| terpinen-4-ol                                                                   | ۲۹/۸۱           | ۱۱۷۱/۶           | -/۱۲         | ۳/۹۰         | -/۲۱         | ۱/۶۰        | ۱/۷۶         | -/۳۲               | -/۱۱         | -/۲۴          | ۲/۹۱         | -/۴۵         | -/۲۷               | -/۳۲        | -/۲۵         | ۴/۴۵         | -/۱۳         |
| <b>neoiso-menthol</b>                                                           | <b>۳۰/۳۶</b>    | <b>۱۱۸۶/۷</b>    | <b>۱۱/۸۲</b> | <b>۱۰/۴۰</b> | <b>۸/۷۵</b>  | <b>-</b>    | <b>۰/۰۶۸</b> | <b>۱۰/۹۳</b>       | <b>۸/۵۹</b>  | <b>۶/۱۷</b>   | <b>۳/۶۴</b>  | <b>۵/۰۶</b>  | <b>۹/۷۷</b>        | <b>۷/۰۱</b> | <b>۸/۶۰</b>  | <b>۰/۱۱</b>  | <b>۰/۱۶</b>  |

ادامه جدول ۷.

|                         | زمان<br>بازداری | اندیس<br>بازداری | شاهد  |        |        |           |       | تنش در مرحله رویشی |        |        |           |       | تنش در مرحله زایشی |        |        |           |       |
|-------------------------|-----------------|------------------|-------|--------|--------|-----------|-------|--------------------|--------|--------|-----------|-------|--------------------|--------|--------|-----------|-------|
|                         |                 |                  | ولیان | طالقان | گلوگاه | کیودرآهنگ | شازند | ولیان              | طالقان | گلوگاه | کیودرآهنگ | شازند | ولیان              | طالقان | گلوگاه | کیودرآهنگ | شازند |
| <b>pulegone</b>         | ۳۲/۸            | ۱۲۳۷/۰           | ۲۵/۰۰ | ۹/۱۳   | ۳۵/۰۳  | ۱۷/۰۵     | ۶/۰۷  | ۳۴/۹۹              | ۳۹/۹۰  | ۳۹/۴۲  | ۸/۷۱      | ۲۷/۶۴ | ۲۳/۸۷              | ۳۶/۴۳  | ۳۹/۸۸  | ۳/۶       | ۲۲/۶۳ |
| piperitone              | ۳۳/۴۶           | ۱۲۴۸/۰           | ۳/۲۴  | ۱/۴۱   | ۱/۲۰   | ۲/۳۸      | ۱/۵۶  | ۲/۶۵               | ۲/۷۶   | ۱/۵۲   | -/۸۵      | ۳/۲۹  | ۳/۴۳               | ۲/۹۱   | ۱/۰۳   | -/۵۸      | ۳/۶۲  |
| $\alpha$ -terpinen-7-al | ۳۳/۷۱           | ۱۲۸۰/۰           | -/۰۸  | -      | -      | -         | -     | -                  | -      | -      | -         | -     | -/۰۶               | -/۰۳   | -      | -         | -/۰۹  |
| Thymol                  | ۳۴/۷            | ۱۲۹۴/۱           | ۱/۷۸  | ۱/۳۳   | -/۱۶   | -/۷۸      | ۱/۳۸  | -/۷۹۹              | -/۸۵   | -/۰۶۸  | -/۰۲۵     | -/۳۴  | ۱/۱۳               | ۲/۳۵   | -/۱۱   | -/۵۶      | -/۵۳  |
| menthyl acetate         | ۳۵/۳۵           | ۱۲۹۹/۳           | -/۱۴  | -      | -      | -         | -/۱۷  | -                  | -      | -      | -         | -/۰۴۳ | -/۰۴۵              | -/۰۲   | -      | -         | -/۰۳  |
| piperitenone            | ۳۷/۴۴           | ۱۳۳۴/۰           | ۲/۵۵  | -/۶۴   | ۱/۷۷   | -/۶۱      | ۱/۳۳  | ۲/۹۷               | ۳/۹۸   | ۳/۱۳   | -/۵۹      | ۳/۸۰  | ۲/۴۸               | ۳/۳۱   | ۱/۴۵   | -/۴۹      | ۲/۳۲  |

## تجزیه خوشه‌ای ترکیب‌های اسانس

تجزیه خوشه‌ای بر اساس کلیه ترکیب‌های اسانس و به روش UPGMA و معیار فاصله توان دوم اقلیدسی، تیمارهای مورد بررسی را به چهار گروه مجزا تقسیم کرد (شکل ۶). گروه یک شامل دو اکوتیپ ولیان و شازند بود. در این گروه اکوتیپ ولیان تحت تنش در مرحله زایشی و شاهد به همراه اکوتیپ شازند تحت تنش در مرحله زایشی و رویشی در کنار یکدیگر قرار گرفتند. این گروه دارای بیشترین مقادیر منتون، پیریتون، ایزو-پولگون و پیریتون بود (شکل ۵ و جدول ۷). گروه دو شامل اکوتیپ‌های گلوگاه، ولیان و طالقان بود. در این گروه اکوتیپ گلوگاه تحت شرایط بدون تنش و تنش در مرحله زایشی و رویشی در کنار دو اکوتیپ ولیان تحت تنش رویشی و طالقان تحت تنش رویشی و زایشی قرار گرفتند. این گروه دارای بیشترین مقادیر پولگون، نئوایزو-منتول و پیریتون بود (شکل ۵ و جدول ۷). گروه سوم شامل سه اکوتیپ طالقان، شازند و کبودرآهنگ می‌باشد که هر سه در شرایط بدون تنش قرار داشتند. این گروه با داشتن بیشترین مقادیر تیمول و مقادیر بالای از گاماترپین، آلفا پین، ترپین-۴-ال، ساینین هیدرات و پاراسیمن مشخص می‌شود (شکل ۲ و جدول ۷). گروه چهار، تنها اکوتیپ کبودرآهنگ را در مرحله رویشی و زایشی در خود جای داد. این گروه با داشتن بیشترین مقادیر ۱،۸-سینئول، گاما ترپین، ترپین-۴-ال، اکتانون، ساینین هیدرات و سیمین از بقیه گروه‌ها متمایز می‌گردد (شکل ۵ و جدول ۷). نتایج فوق نشان می‌دهد که دو اکوتیپ گلوگاه و طالقان تحت تنش خشکی می‌توانند مقادیر بالای از ترکیب مهم پولگون را تولید کنند. همچنین اکوتیپ کبودرآهنگ برای تولید ۸،۱-سینئول تحت شرایط خشکی گزینه مناسبی می‌باشد.



شکل ۵. تجزیه خوشه‌ای بر اساس کلیه ترکیب‌های اسانس بر اساس روش UPGMA و معیار فاصله توان دوم اقلیدسی (منبع: یافته‌های تحقیق)

### همبستگی صفات مورد بررسی

به منظور تشخیص وجود هرگونه همبستگی و رابطه توارثی بین صفات مورد بررسی در کاکوتی کوهی و استفاده در انتخاب گیاهان در برنامه‌های اصلاحی، همبستگی بین صفات مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۸). در مطالعه حاضر بیشترین همبستگی‌ها به ترتیب زیر به‌دست آمد: وزن خشک گیاه با وزن خشک برگ ( $0/853$ ) و عملکرد اسانس ( $0/546$ )؛ وزن خشک گیاه با عملکرد اسانس ( $0/418$ ) و وزن خشک برگ ( $0/333$ )؛ وزن خشک برگ با پولگون ( $0/690$ ) و ۱ - سیلیوهگزن - ۱ - منتول -  $\alpha, \alpha$  - ۴ - تری متیل ( $0/515$ )؛ کلروفیل a با کلروفیل کل ( $0/996$ ) و کارتنوئید ( $0/961$ )؛ کلروفیل b با کلروفیل کل ( $0/976$ ) و کارتنوئید ( $0/953$ )؛ کلروفیل کل با کارتنوئید ( $0/968$ ) و تعداد سرشاخه گل‌دار ( $0/371$ )؛ کارتنوئید با تعداد سرشاخه گل‌دار ( $0/355$ ) و تعداد گل در گل‌آذین ( $0/299$ )؛ درصد اسانس با عملکرد اسانس ( $0/516$ )؛ ارتفاع گیاه با تعداد گل در گل‌آذین ( $0/556$ ) و تعداد سرشاخه گل‌دار ( $0/549$ )؛ تعداد سرشاخه گل‌دار با تعداد گل در گل‌آذین ( $0/726$ )، تعداد میان‌گره در ساقه گل‌دار با تعداد گل در گل‌آذین ( $0/381$ )؛ طول برگ با نئوایزومنتول ( $0/635$ ) و سطح برگ ( $0/455$ ) همبستگی مثبت و معنا دار داشتند، رطوبت نسبی با نشت یونی ( $-0/338$ ) تعداد سرشاخه گل‌دار ( $-0/404$ ) همبستگی منفی و معنی‌دار داشتند.

جدول ۸. ضرایب همبستگی صفات مورد مطالعه در برخی اکوتیپ‌های کاکوتی کوهی تحت تنش خشکی

| ۱      | ۲               | ۳          | ۴          | ۵           | ۶          | ۷          | ۸          | ۹          | ۱۰         | ۱۱          | ۱۲          | ۱۳         | ۱۴          | ۱۵          | ۱۶          | ۱۷          | ۱۸         | ۱۹          | ۲۰         | ۲۱         | ۲۲          |
|--------|-----------------|------------|------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|------------|------------|-------------|
| D<br>W | PD<br>W         | LD<br>W    | RW<br>C    | Chl<br>a    | Chl<br>b   | Chl<br>T   | Ca<br>r    | EL         | Ph<br>e    | Eo<br>P     | Eo<br>Y     | PH         | NF<br>S     | NI<br>FS    | LL          | LA          | N<br>FI    | P<br>U<br>L | M<br>en    | N<br>M     | C<br>M<br>T |
| ۱      | ۱               |            |            |             |            |            |            |            |            |             |             |            |             |             |             |             |            |             |            |            |             |
| ۲      | **<br>۴۸<br>۰/۵ | ۱          |            |             |            |            |            |            |            |             |             |            |             |             |             |             |            |             |            |            |             |
| ۳      | **<br>۸۵<br>۰/۳ | *          | ۱          |             |            |            |            |            |            |             |             |            |             |             |             |             |            |             |            |            |             |
| ۴      | ۰/۲<br>۰/۹      | ۲۰<br>۰/۴  | ۱۳۸<br>-۰/ | ۱           |            |            |            |            |            |             |             |            |             |             |             |             |            |             |            |            |             |
| ۵      | ۱۵<br>۰/۴       | ۰/۷<br>۰/۴ | ۱۹۶<br>-۰/ | ۰/۸۴<br>-۰/ | ۱          |            |            |            |            |             |             |            |             |             |             |             |            |             |            |            |             |
| ۶      | ۲۳<br>۰/۴       | ۱۳<br>۰/۵  | ۱۹۲<br>-۰/ | ۰/۹۴<br>-۰/ | **<br>۹۵۴  | ۱          |            |            |            |             |             |            |             |             |             |             |            |             |            |            |             |
| ۷      | ۱۷<br>۰/۹       | ۰/۹<br>۰/۳ | ۱۹۶<br>-۰/ | ۰/۸۸<br>-۰/ | **<br>۹۹۶  | **<br>۹۷۶  | ۱          |            |            |             |             |            |             |             |             |             |            |             |            |            |             |
| ۸      | ۱۲<br>۰/۵       | ۰/۹<br>۰/۹ | ۱۲۸<br>-۰/ | ۱۱۶<br>-۰/  | **<br>۹۵۳  | **<br>۹۶۸  | **<br>۹۶۸  | ۱          |            |             |             |            |             |             |             |             |            |             |            |            |             |
| ۹      | ۲۲<br>۰/۷       | ۱۳<br>۰/۹  | ۲۷۵<br>۰/  | *<br>۳۳۸    | ۱۷۶<br>-۰/ | ۲۳۶<br>-۰/ | ۱۹۵<br>-۰/ | ۱۶<br>۰/۸  | ۱          |             |             |            |             |             |             |             |            |             |            |            |             |
| ۱۰     | ۰/۸<br>۰/۷      | ۰/۲<br>۰/۵ | ۱۶۲<br>-۰/ | ۱۱۳<br>۰/   | ۲۱۵<br>۰/  | ۱۴۰<br>۰/  | ۱۹۵<br>۰/  | ۱۷<br>۰/۵  | ۰/۷<br>۰/۱ | ۱           |             |            |             |             |             |             |            |             |            |            |             |
| ۱۱     | ۲۷<br>۰/۱       | ۰/۹<br>۰/۱ | ۲۱۵<br>-۰/ | ۰/۸۳<br>-۰/ | *<br>۳۱۳   | **<br>۴۰۵  | *<br>۳۴۳   | ۲۵<br>۰/۸  | ۰/۷<br>۰/۱ | ۰/۹<br>۰/   | ۱           |            |             |             |             |             |            |             |            |            |             |
| ۱۲     | **<br>۵۴        | **<br>۴۱   | **<br>۴۰۰  | ۰/۵۲<br>-۰/ | ۱۷۱<br>۰/  | ۱۶۷<br>۰/  | ۱۷۱<br>۰/  | ۱۵<br>۰/۳  | ۰/۱<br>۰/۱ | ۲۲۸<br>-۰/  | **<br>۵۱۶   | ۱          |             |             |             |             |            |             |            |            |             |
| ۱۳     | ۰/۶<br>۰/۶      | ۰/۸<br>۰/۶ | ۰/۷<br>۰/۶ | ۰/۳۹<br>-۰/ | ۲۳۵<br>۰/  | ۰/۷۸<br>۰/ | ۱۹۱<br>۰/  | ۱۶<br>۰/۶  | ۰/۶<br>۰/۸ | *<br>۳۲۶    | *<br>۳۰۵    | ۱۱<br>۰/۱  | ۱           |             |             |             |            |             |            |            |             |
| ۱۴     | ۱۸<br>۰/۳       | ۰/۸<br>۰/۳ | ۲۵۱<br>-۰/ | **<br>۴۰۴   | **<br>۳۹۱  | *<br>۳۰۸   | *<br>۳۷۱   | *<br>۳۵    | ۰/۷<br>۰/۱ | *<br>۳۷۹    | ۰/۷<br>۰/۵  | ۰/۷<br>۰/۵ | **<br>۵۴۹   | ۱           |             |             |            |             |            |            |             |
| ۱۵     | ۱۵<br>۰/۹       | ۱۴<br>۰/۱  | ۱۹۳<br>-۰/ | ۰/۵۴<br>-۰/ | ۱۴۷<br>۰/  | ۰/۴۹<br>۰/ | ۱۲۰<br>۰/  | ۰/۶<br>۰/۱ | ۱۴۸<br>۰/۴ | ۲۴۴<br>۰/   | ۱۳<br>۰/۴   | ۲۰۳<br>۰/  | ۱۵۲<br>۰/   | ۱           |             |             |            |             |            |            |             |
| ۱۶     | ۱۳<br>۰/۷       | ۰/۱<br>۰/۴ | ۰/۳۰<br>۰/ | ۰/۰۸<br>۰/  | ۱۳۹<br>-۰/ | ۲۳۳<br>-۰/ | ۱۶۸<br>-۰/ | ۱۴<br>۰/۲  | ۱۲<br>۰/۱  | ۱۱۵<br>-۰/  | **<br>۴۹۹   | ۱۴<br>۰/۵  | ۲۹۲<br>۰/   | ۱۸۲<br>-۰/  | ۰/۳۷<br>۰/  | ۱           |            |             |            |            |             |
| ۱۷     | ۲۴<br>۰/۴       | ۰/۵<br>۰/۹ | ۱۷۳<br>۰/  | ۱۷۰<br>۰/   | ۲۸۲<br>-۰/ | *<br>۳۴۳   | *<br>۳۰۲   | ۲۸<br>۰/۱  | ۱۶<br>۰/۳  | **<br>۴۵۷   | ۱۷۳<br>-۰/  | ۱۲<br>۰/۱  | ۰/۶۹<br>-۰/ | *<br>۴۸۴    | ۱۰/۴<br>۰/  | **<br>۴۵۵   | ۱          |             |            |            |             |
| ۱۸     | ۰/۶<br>۰/۲      | ۰/۷<br>۰/۶ | ۱۸۴<br>-۰/ | ۱۹۱<br>-۰/  | *<br>۳۲۲   | *<br>۰/    | ۲۶۶<br>۰/  | ۲۹<br>۰/۹  | ۰/۵<br>۰/۲ | *<br>۳۰۰    | ۲۳۱<br>۰/   | ۲۰<br>۰/۹  | **<br>۵۶۶   | **<br>۷۲۶   | **<br>۳۸۱   | ۰/۳۴<br>۰/  | ۲۶<br>۰/۹  | ۱           |            |            |             |
| ۱۹     | ۳۴<br>۰/۵       | ۰/۲<br>۰/۲ | **<br>۶۹۰  | ۱۶۷<br>-۰/  | ۲۸۱<br>۰/  | ۳۳۸<br>۰/  | ۲۹۸<br>۰/  | ۴۳<br>۰/۴  | ۰/۰<br>۰/۱ | ۰/۸۶<br>۰/  | ۲۳۷<br>۰/   | ۴۲<br>۰/۴  | ۰/۹۹<br>-۰/ | ۰/۳۰<br>-۰/ | ۳۵۹<br>-۰/  | ۱۸۸<br>۰/   | ۰/۳<br>۰/۷ | ۱           |            |            |             |
| ۲۰     | ۱۱<br>۰/۳       | ۰/۳<br>۰/۷ | ۱۶۴<br>۰/  | ۰/۵۴<br>۰/  | ۲۴۰<br>۰/  | ۳۲۱<br>۰/  | ۲۶۴<br>۰/  | ۲۱<br>۰/۲  | ۰/۵<br>۰/۴ | ۳۳۸<br>-۰/  | ۱۴۰<br>۰/   | ۱۶<br>۰/۱  | ۱۷۷<br>۰/   | ۰/۳۷<br>-۰/ | ۲۲۰<br>-۰/  | ۰/۴۴<br>-۰/ | ۱۳<br>۰/۳  | ۱۸<br>۰/۲   | ۰/۲<br>۰/۲ | ۱          |             |
| ۲۱     | ۴۰<br>۰/۸       | ۱۰<br>۰/۱  | ۴۰۵<br>۰/  | ۱۷۵<br>۰/   | ۱۴۶<br>۰/  | ۱۷۳<br>-۰/ | ۱۵۴<br>-۰/ | ۰/۶<br>۰/۲ | ۳۶<br>۰/۳  | ۰/۱۴<br>-۰/ | ۱۰/۷<br>-۰/ | ۲۷<br>۰/۱  | ۲۳۹<br>-۰/  | ۲۵۷<br>-۰/  | ۱۲۹<br>-۰/  | *<br>۶۳۵    | ۲۵<br>۰/۳  | ۰/۹<br>۰/۴  | ۴۳<br>۰/۷  | ۰/۱<br>۰/۵ | ۱           |
| ۲۲     | ۱۲<br>۰/۱       | ۰/۱<br>۰/۱ | *<br>۵۱۵   | ۳۲۳<br>-۰/  | ۳۳۶<br>۰/  | ۴۱۲<br>۰/  | ۳۶۰<br>۰/  | ۳۶<br>۰/۵  | ۱۸<br>۰/۹  | ۲۳۴<br>-۰/  | ۴۶۷<br>۰/   | ۳۷<br>۰/۱  | ۲۱۸<br>-۰/  | ۰/۵۰<br>۰/  | ۰/۷۸<br>-۰/ | ۰/۰۷<br>۰/  | ۱۷<br>۰/۸  | ۱۱<br>۰/۱   | ۴۶<br>۰/۶  | ۰/۷<br>۰/۹ | ۱           |

DW (وزن خشک گیاه)، PDW (درصد وزن خشک)، LDW (وزن خشک برگ)، RWC (محتوای نسبی آب برگ)، Chl.a (کلروفیل a)، Chl.b (کلروفیل b)، Chl T (کلروفیل کل)، Car (کاروتنوئید)، EL (نشت یونی)، Phe. (فنل کل)، EoP (درصد اسانس)، EOY (عملکرد اسانس)، PH. (ارتفاع گیاه)، LA (سطح برگ)، LL (طول برگ)، NFI (تعداد گل در گل آذین)، NFS (تعداد سرشاخه گلدار)، NIFS (تعداد میان گره در ساقه گلدار)، Pul. (پولگون)، MN (متنول)، NM (نایزو متنول)، CMT (۱-سیلیوهگزن-۱-متنول -  $\alpha, \alpha$ -۴-تری متیل). \* و \*\* به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

## بحث

گیاهان تحت تنش خشکی و مواجه با کمبود آب در سطح سلولی نشانه‌هایی از کاهش در فرایندهایی چون تورژسانس، تقسیم سلولی و رشد طولی را نشان می‌دهند، از نظر ظاهری نیز علائمی مانند کاهش ارتفاع گیاه، کوچک شدن برگ‌ها و کاهش تعداد برگ‌ها در گیاه را بروز می‌دهند (Sodaii zadeh et al., 2016). این نشانه‌ها به‌عنوان اولین مکانیسم‌های مقابله با تنش خشکی شناخته می‌شوند (Akbarzadeh et al., 2023). گزارش شده است که ارتفاع گیاه در نعنای فلفلی (Ostadi et al., 2023)، ریحان (Ghaemi et al., 2019; Musie Mulugeta & Radácsi 2022)، بادرنجبویه (Khaleghnezhad et al., 2021) و آویشن باغی (Sharafi et al., 2019)، در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد. اما نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اعمال تنش خشکی در هیچ‌کدام از مراحل رشدی گیاه تغییری در ارتفاع گیاه ایجاد نکرد، بنابراین تقسیم سلولی و رشد طولی سلول‌های ساقه این گیاه تحت تاثیر کمبود آب قرار نگرفتند.

اما سطح برگ در نتیجه کاهش تقسیم سلولی و رشد طولی سلول‌های برگ در جهت کاهش سطح تبخیر با اعمال تنش خشکی در مرحله رویشی کاهش یافت. کاهش در سطح برگ در ریحان (Musie Mulugeta & Radácsi, 2022) و کاکوتی کوهی (Heidarzadeh et al., 2021) نیز تحت تنش خشکی گزارش شده است. اما تنش در مرحله زایشی تغییری در مساحت برگ ایجاد نکرد. به نظر می‌رسد که در زمان اعمال تنش در مرحله زایشی سطح برگ به حداکثر رشد خود رسیده بوده است.

نتایج این تحقیق نشان داد که تنش خشکی در هر دو مرحله رویشی و زایشی باعث کاهش وزن خشک برگ نسبت به شاهد شد. کاهش مقدار ماده خشک گیاه در شرایط کمبود آب نتیجه بسته شدن روزنه‌ها، کاهش هدایت روزنه‌ای، تخریب تمامیت غشا پلاسمایی و اندامک‌ها است که منجر به توقف فعالیت آنزیم رویسکو و نهایتاً کاهش میزان فتوسنتز در گیاه می‌گردد (Bota et al., 2004). کاهش وزن خشک گیاه تحت تنش خشکی در بسیاری از گیاهان از جمله ریحان (Musie Mulugeta & Radácsi, 2022) (Asghari et al., 2023)؛ نعنای فلفلی (Ostadi et al., 2023)، آویشن باغی (Sharafi et al., 2019) و زریں گیاه (بادرنجبویه دناپی) (Mafakheri et al., 2018) مشاهده شده است. در بررسی اثر تنش خشکی در بادرنجبویه، کاهش وزن خشک برگ نیز همانند پژوهش حاضر گزارش شده است (Khaleghnezhad et al., 2021).

تنش خشکی می‌تواند سبب کاهش محتوای کلروفیل گردد. این کاهش در محتوای کلروفیل معمولاً با زرد یا قهوه‌ای شدن برگ‌ها قابل مشاهده است. با این حال، در این بررسی محتوای کلروفیل a و b و کلروفیل کل با اعمال تنش خشکی تفاوتی نکرد که نشان‌دهنده نوعی سازگاری و حفاظت کلروفیل در این گیاه نسبت به تنش خشکی است.

در تحقیق حاضر میزان نشت الکترولیت در هر دو تیمار اعمال تنش خشکی تفاوتی با گیاهان تیمار نشده نشان نداد. این نشان از مقاومت بالای غشا سلولی کاکوتی کوهی در برابر اعمال تنش است. عدم افزایش نشت یونی تحت تیمار تنش خشکی در برخی گیاهان مانند کاکوتی کوهی (Heidarzadeh et al., 2021) و سه رقم ریحان (Moghaddam et al., 2015) نیز مشاهده شده است. تنش خشکی می‌تواند منجر به نشت الکترولیت در غشا و از بین رفتن استحکام غشا یاخته‌ای و حتی غشای کلروپلاستی گردد. گزارش شده است که رقم‌هایی که پایداری غشای بالاتری دارند، توانایی تحمل بهتر خشکی را خواهند داشت (Asadi et al., 2018). همچنین، در شرایط تنش، گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابند. این گونه‌های فعال اکسیژن تأثیر زیانباری بر غشای یاخته‌ای دارند و سبب پراکسیداسیون اسیدهای چرب شده و نشت یونی را افزایش می‌دهند گیاهان در چنین شرایطی مقدار زیادی از اسمولیت‌ها را انباشت می‌کنند تا در نتیجه محتوای آب گیاه تحت تنش خشکی حفظ شود. تولید ROS یک خطر برای متابولیسم سلولی در نظر گرفته می‌شود زیرا به طور کلی منجر به نشت الکترولیت می‌شود (Jafari et al., 2022). به نظر می‌رسد که گیاه کاکوتی کوهی پتانسیل خوبی برای مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش خشکی دارد.

براساس نتایج این تحقیق، محتوای نسبی آب برگ با اعمال تنش در کاکوتی کوهی کاهش نیافت. کاهش محتوای نسبی آب برگ یکی از شایع‌ترین پیامدهای تنش خشکی است. این کاهش متناسب با شدت خشکی است. همچنین، این شاخص به گونه گیاهی، مرحله رشد و مدت تنش بستگی دارد. کاهش محتوای نسبی آب برگ منجر به کاهش پتانسیل آبی برگ‌ها می‌گردد، بنابراین برگ‌ها روزنه‌ها را می‌بندند تا



سرعت تعرق کمتر شود (Yang et al., 2023). اما، کاهش تعرق می‌تواند منجر به افزایش دمای برگ شود؛ بنابراین، محدودیت دسترسی به آب به شدت رشد و نمو گیاه را محدود می‌کند (Musie Mulugeta & Radácsi 2022). کاهش محتوی نسبی آب برگ تحت تنش خشکی در بسیاری از گیاهان از جمله نعنای فلفلی (Ostadi et al., 2023)، آویشن باغی (Rahimi et al., 2023) و ریحان (Musie Mulugeta & Radácsi 2022) گزارش شده است. در تحقیق حاضر تنش خشکی در هیچکدام از مراحل رشدی تغییر محسوسی در محتوای نسبی آب ایجاد نکرد این نتایج نشان می‌دهد که گیاه کاکوتی کوهی قادر است بخوبی محتوای نسبی آب را در شرایط تنش حفظ نماید.

در تحقیق حاضر با اعمال تنش خشکی در مرحله رویشی، مقدار فنل کل افزایش یافت. گیاهان زمانی که در معرض شرایط تنش قرار می‌گیرند، تجمع متابولیت‌های ثانویه را به همراه دارند تا بتوانند اثرات نامطلوب تنش خشکی را رفع نمایند (Mansinhos et al., 2022). تجمع فنل‌ها تحت تنش‌های غیر زیستی یکی از مکانیسم‌های دفاعی گیاه است (Cyplik et al., 2023). بسیاری از تنش‌های غیر زیستی، از جمله خشکسالی اغلب بر تولید ترکیبات فنلی به عنوان مقابله با واکنش‌های اکسیداتیو تاثیر می‌گذارند (Mansinhos et al., 2022). نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات انجام شده روی نعنای فلفلی (Ostadi et al., 2023)، آویشن باغی (Rahimi et al., 2023)، ریحان (Asghari et al., 2023)، گونه‌ای آویشن<sup>1</sup> (Mansinhos et al., 2022) و بادرنجبویه (Khaleghnezhad et al., 2021) که در آنها محتوای فنلی برگ‌های گیاهان تحت تنش خشکی افزایش داشت، هم راستا بود.

نتایج این تحقیق نشان داد که میزان اسانس در هر دو مرحله اعمال تنش نسبت به شاهد افزایش یافت. تنش خشکی، درصد روغن‌های اسانسی بیشتر گیاهان تیره نعنا را افزایش می‌دهد. در این شرایط رشد، تولید و حتی بقای گیاه کاهش می‌یابد. زیرا شرایط بهینه برای رشد گیاه فراهم نیست. تحت شرایط تنش تغییرات فیزیولوژیک و متابولیک همانند بسته شدن روزنه‌ها و کاهش فتوسنتز در گیاه رخ می‌دهد که منجر به کاهش  $NADP^+$  به عنوان گیرنده الکترون و تجمع  $NADPH + H^+$  می‌شود. بنابراین، گیاه برای مصرف آن بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه مانند فنول‌ها و ترپنوئیدها را افزایش می‌دهد که در نتیجه آن میزان درصد و محتوای اسانس افزایش می‌یابد (García-Caparrós et al., 2019). درصد و میزان عملکرد اسانس در ریحان (Asghari et al., 2023)، نعنای فلفلی (Ostadi et al., 2023)، بادرنجبویه (Khaleghnezhad et al., 2021) و آویشن دناهی (Khorshidi et al., 2016) نیز تحت تنش خشکی افزایش داشت.

در بررسی حاضر عمده‌ترین ترکیب اسانس در اغلب اکوتیپ‌های مورد بررسی پولگون بود که میزان آن از ۳/۶ تا ۳۹/۹ درصد متغیر بود. بیشترین مقادیر این ترکیب در اکوتیپ‌های طالقان و گلوگاه با اعمال تنش در مرحله زایشی و اکوتیپ‌های ولیان و طالقان تحت تنش در مرحله رویشی به دست آمد.

در یک بررسی روی اسانس گیاه کاکوتی کوهی عمده‌ترین ترکیب‌های اسانس شامل پولگون (۲۹/۲۴ درصد)، 2- (1,3- dimethyl- 2- methylpropylidene) imidazolidine (۹/۰۵ درصد)، پیپیریتون (۶/۶۵ درصد)، تیمول (۵/۳۸ درصد) و کارواکرول (۵/۲۷ درصد) گزارش شد (Kazeminia et al., 2024). در گزارشی دیگر مهم‌ترین ترکیب‌ها شامل پولگون (۲۸/۱۷ درصد)، ترنس ایزوپولگون (۳/۰۹ درصد) و پیپرتون اکسید (۱/۴۰ درصد) بود (Baghouz et al. 2024). نتایج بررسی دیگری در تعیین ترکیبات اسانس کاکوتی کوهی نیز حاکی از حضور پولگون به میزان ۶۲/۱۷ درصد، ایزومنتون به میزان ۱۸/۴۲ درصد، آی منتول ۵/۵۵ درصد و پیپرتون ۳/۹۹ درصد به عنوان ترکیبات عمده اسانس بود (Han et al., 2023). در هر سه این گزارشات مطابق با نتایج ما پولگون بیشترین درصد از اسانس گیاه کاکوتی را شامل شد. اما گزارشات دیگری وجود دارد که ترکیبات دیگری چون ۸،۱- سینئول (۱۶/۱۱ درصد) و پیپرتون (۱۶/۸۴ درصد) بیشترین درصد اسانس را به خود اختصاص داده اند (Faryabi et al. 2024) که احتمالاً به دلیل تفاوت‌های ژنتیکی است که در اکوتیپ‌های مختلف کاکوتی کوهی با پراکندگی وسیع در ایران طی زمان ایجاد شده است و یا به شرایط رشدی آن‌ها مرتبط است. در پژوهش حاضر نیز این ترکیب تنها در تیمارهای مختلف اکوتیپ کبودرآهنگ ترکیب غالب بود.

<sup>1</sup> *Thymus lotocephalus*

بررسی همبستگی بین صفات می‌تواند متخصصین اصلاح را در انجام گزینش غیر مستقیم برای صفات مهم زراعی از طریق صفاتی که اندازه گیری آنها آسان‌تر است، یاری نماید. این امر بویژه در مورد گیاهان دارویی که استخراج و آنالیز مواد موثره، کاری پرهزینه و زمان‌بر است، اهمیت بیشتری دارد. ارزیابی و پی‌بردن به همبستگی صفات مورفولوژیک با مهم‌ترین خصوصیات یک گیاه دارویی مثل ماده خشک، درصد و نوع ماده موثره می‌تواند در گزینش مناسب‌ترین جمعیت‌ها کمک شایانی نماید. نتایج تجزیه همبستگی صفات نشان داد که رابطه مستقیم و نزدیکی بین میزان ماده خشک برگ با میزان پولگون و عملکرد اسانس وجود دارد. بنابراین، فراهمی شرایط مطلوب رشد و نمو و تولید گیاهانی با ماده خشک برگ بیشتر منجر به افزایش میزان پولگون و تولید بیشتر اسانس خواهد شد. انتخاب گیاهانی با طول برگ بیشتر نیز منجر به تولید گیاهانی با میزان نئوایزومنتول بیشتر خواهد بود.

## نتیجه‌گیری

با توجه به مشکل جهانی کم‌آبی و خشکسالی‌های متوالی، معرفی گیاهانی که توانایی تولید بهینه محصولات را در چنین شرایطی داشته باشند بسیار حیاتی می‌باشد. نتایج این تحقیق روی گیاه دارویی کاکوتی کوهی نشان داد که این گیاه بخوبی شرایط کم‌آبی را در طول دوره رشد تحمل کرده و می‌تواند برای کشت در این مناطق توصیه شود. در بین اکوتیپ‌های مورد بررسی بیشترین درصد اسانس در اکوتیپ‌های طالقان، گلوگاه و ولیان بدست آمد. نتایج نشان داد که با قطع آبیاری در هر دو مرحله رویشی و زایشی در اکوتیپ‌های گلوگاه و طالقان می‌توان به بالاترین مقادیر ترکیب پولگون دست یافت. بنابراین، از این دو اکوتیپ می‌توان در شرایط دیم در مناطقی که با کمبود آب در طول رویش گیاه مواجه هستند برای بدست آوردن حداکثر میزان پولگون استفاده نمود. همچنین، این اکوتیپ‌ها گزینه‌های مناسبی برای برنامه‌های اصلاحی کاکوتی کوهی می‌باشند.

## منابع

- اسدی، وهاب؛ رسولی، موسی؛ غلامی، منصور و ملکی، معصومه (۱۳۹۶). بررسی برخی ویژگی‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژیک چهار رقم انگور (*Vitis vinifera* L.) در شرایط تنش خشکی. *نشریه علوم باغبانی/ایران*، ۴۸(۴)، ۹۷۷-۹۹۰.
- جم زاده، زیبا (۱۳۹۱). فلور ایران، تیره نعنا (Lamiaceae). تهران: موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع ایران.
- حیدر زاده، علی؛ ناظری جونقانی، وحیده و تبریزی، لیلا (۱۳۹۶). تاثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر ویژگی‌های کمی و کیفی کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) در شرایط تنش کم‌آبی. *نشریه علوم باغبانی/ایران*، ۵۱(۴)، ۸۷۱-۸۸۷.
- خورشیدی، جلال؛ شکرپور، مجید و ناظری، وحیده (۱۳۹۴). ارزیابی پاسخ به تنش کم‌آبی در اکوتیپ‌های مختلف آویشن دناپی (*Thymus daenensis* subsp. *daenensis*) با استفاده از شاخص‌های تحمل تنش. *نشریه علوم باغبانی/ایران*، ۴۶(۴)، ۵۶۳-۵۷۳.
- خورشیدی، جلال؛ شکرپور، مجید و ناظری، وحیده (۱۳۹۷). بررسی تأثیر تنش کم‌آبی بر عملکرد، اسانس و برخی از صفات فیزیولوژیک اکوتیپ‌های آویشن دناپی (*Thymus daenensis* subsp. *daenensis*) در منطقه کرج. *نشریه علوم باغبانی/ایران*، ۴۰(۳)، ۶۱۳-۶۲۴.
- ذاکریان، فاطمه؛ سفیدکن، فاطمه؛ عباس‌زاده، بهلول و کلاته‌جاری، سپیده (۱۳۹۹). تأثیر تنش خشکی و قارچ‌های میکروارگانیسم بر صفات فیزیولوژیک و درصد اسانس مرزه سه‌پندی (*Satureja sahendica* Bornm.). *نشریه علوم باغبانی/ایران*، ۵۱(۱)، ۱۸۹-۲۰۱.
- سجادی، سیدابراهیم؛ قاسمی‌دهکردی، نصراله و بلوچی، مریم (۱۳۸۲). بررسی مواد متشکله اسانس اندام‌های هوایی گیاه کاکوتی‌کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam.). *نشریه پژوهش و سازندگی*، ۱۶(۱)، ۹۷-۱۰۰.

سعیدی نیا، مهری؛ حسینیان، سید حمزه و بیرانوند، فرهاد. (۱۳۹۸). اثر تنش آبی بر میزان تبخیر و تعرق، اسانس و برخی صفات مورفولوژیکی گیاه دارویی مرزه. *تحقیقات آب و خاک/ایران*، ۵۰(۸)، ۲۰۶۳-۲۰۷۲.

سودائی زاده، حمید؛ شمسایی، مریم؛ تجملیان، مهدیه؛ میرمحمدی میدی، سید علی محمد و حکیم زاده، محمدعلی (۱۳۹۵). ارزیابی برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی آویشن قره باغی (*Thymus fedtschenko*) تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی. *تنش‌های محیطی در علوم زراعی*، ۹(۴)، ۴۲۳-۴۲۷.

قائمی، مهین؛ زارع، زهرا و نصیری، یارمحمد (۱۳۹۷). اثر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و میزان تولید اسانس در گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در مراحل مختلف رشد. *فصلنامه زیست‌شناسی تکوینی*، ۱۱(۱)، ۱۵-۲۶.

کوچکی، عیوض؛ نصیری محلاتی، مهدی و عزیزی، الهام (۱۳۸۳). تأثیر تنش خشکی و برگردایی بر برخی خصوصیات کمی آویشن شیرازی، کاکوتی، آویشن باغی و کلپوره. *پژوهش‌های زراعی/ایران*، ۲-۱(۳)، ۸۹-۱۰۶.

مفاخری، سودابه؛ اصغری، بهرور و نیکجویان، محمد جواد (۱۳۹۷). تأثیر نانو کلات روی بر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی زرین گیاه یا بادرنجبویه دانی در شرایط تنش خشکی. *نشریه علوم باغبانی/ایران*، ۴۹(۳)، ۷۶۷-۷۵۵.

مقدم، محمد؛ علیرضایی نقندر، مرتضی، سلاح ورزی، یحیی و گلدانی، مرتضی (۱۳۹۴). تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزوشیمیایی سه رقم ریحان (*Ocimum basilicum* L.). *نشریه علوم باغبانی/ایران*، ۶۴(۳)، ۵۰۹-۵۲۱.

نصری، محمد، کریمی، زهرا، اویسی، میثم؛ کسرائی، پورنگ و لاریجانی، حمید رضا (۱۴۰۱). اثر محلول پاشی سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و زراعی آویشن (*Thymus vulgaris* L.) در شرایط تنش خشکی. *به زراعی کشاورزی*، ۲۴(۴)، ۱۳۵۹-۱۳۷۲.

Akbarzadeh, S., Morshedloo, M. R., Behtash, F., Mumivand, H. & Maggi, F. (2023). Exogenous aminobutyric acid (BABA) improves the growth, essential oil content, and composition of grapefruit mint (*Mentha suaveolens* \_ *Piperita*) under water deficit stress conditions. *Horticulturae*, 9,34.

Asadi, W., Rasouli, M., Gholami, M. & Maleki, M. (2018). Study of some morphological and physiological traits of four varieties grapes (*Vitis vinifera* L.) under water stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 48(4), 977-990. (In Persian).

Asghari, J., Mahdavia, H., Rezaei-Chiyaneh, E., Banaei-Asl, F., Amani Machiani, M. & Tom Harrison, M. (2023). Selenium nanoparticles improve physiological and phytochemical properties of basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. *Land*, 12(164),1-14.

Azimi, R., Heshmati, G. A. & Kianian, M. K. (2018). Effects of drought stress and mycorrhiza on viability and vegetative growth characteristics of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Journal of Rangeland Science*, 8(3), 253-263.

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

Baghouz, A, Yassir Bouchelta, I, Rajae El Brahimi, H, Mashail N. Al Zain, O, Abdelaaty A., & Guemmouh. R. (2024). Biocidal activity of *Ziziphora hispanica* L. and *Satureja calamintha* Scheele L. essential oils against the *Callosobruchus maculatus* (fabricius) pest on cowpea seeds during storage. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, 1-13.

Bota, J., Medrano, H. & Flexas, J. (2004) Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? *New Phytologist*, 162, 671–681

Chen., J. , Zhao, X., Yaqiu Zhang, Y., Li, Y., Yongqing Luo, Y., Ning, Zh., Wang, R., Wang. P., & Cong, A. (2019). Effects of drought and rehydration on the physiological responses of *Artemisia halodendron*. *Water (Switzerland)*, 11(4), 1–13.

Cyplik, A., Mieczysława Czyczyło-Mysza, I., Jankowicz-Cieslak, J. & Bocianowski, J. (2023). QTL\_QTL\_QTL interaction effects for total phenolic content of wheat mapping population of CSDH lines under drought stress by weighted multiple linear regression. *Agriculture*. 13(850), 1–11.

Faryabi, E., Noori, M., Mousavi, A. & Ashraf Jafari, S. (2024). Chemical properties of four valuable medicinal plants on oshtorankoh, Iran. *Journal of Medicinal Plants and by-Products*, 13(2), 345–52.

Fathi, A., & Barari Tari, D. (2016). Effect of drought stress and its mechanism in plants. *International Journal of Life Sciences*, 10(1), 1–6.

García-Caparrós, P., José Romero, M., Llanderal, A., Cermeño, P., Teresa M. & Luz Segura, M. (2019). Effects of drought stress on biomass, essential oil content, nutritional parameters, and costs of production in six Lamiaceae species. *Water*, 11(3), 573; <https://doi.org/10.3390/w11030573>.

Ghaemi, M., Zare, Z., & Nasiri, Y. M. (2019). Effect of drought stress on some morphological characteristics and essential oil production levels of *Ocimum basilicum* in different stages of growth. *Journal of Developmental Biology*, 11(1), 15-25. (In Persian)

González- Orenga, S., Mariola Plazas, M., Elvira Ribera, E., Pallotti, C., Boscaiu, M., Prohens, J., Vicente, O. & Fita, A. (2023). Transgressive biochemical response to water stress in interspecific eggplant hybrids. *Plant*, 12(194), 1–19.

Han, C, Mei, Y, Zhou, Sh, & Shao, H. (2023). Chemical profiling and antifungal activity of *Ziziphora clinopodioides* leaf essential oil against the pathogen *verticillium dahliae*. *Chemistry and biodiversity*. 20(8). e202300660

Heidarzadeh, A., Nazeri, V. & Tabrizi, L. (2021). Effect of salicylic acid application on quantitative and qualitative features of *Ziziphora clinopodioides* Lam. under water deficit stress condition. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51(4), 871–87. (In Persian)

Jafari, M., Shahsavar, A.R., Talebi, M. & Hesami, M. (2022). Exogenous melatonin protects lime plants from drought stress-induced damage by maintaining cell membrane structure, detoxifying ROS and regulating antioxidant systems. *Horticulturae*, 257(8), 1–20.

Jamzad, Z. (2012). *Flora of Iran, Lamiaceae*. No. 76. Research institute of forests and rangelands. Ministry of Jihad-e-Keshavarzi.

Jordan, M.J., Martinez, R.M., Cases, M.A. & Sotomayor, J.A. (2003) Watering level effect on *Thymus hyemalis* Lange essential oil yield and composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5420-5427.

Kazeminia, M., Gandomi, H., Koohi, M.K., Noori, N., Khanjari, A. & Ehterami, A. (2024). Optimization of *Ziziphora clinopodioides* L. essential oil nanoencapsulation in chitosan nanocomplex by response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*. 265(2). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131114>

- Khaleghnezhad, V., Yousefi, A. R., Tavakoli, A., Farajmand, B. & Mastinu, A. (2021). Concentrations-dependent effect of exogenous abscisic acid on photosynthesis, growth and phenolic content of *Dracocephalum moldavica* L. under drought stress. *Planta*, 253(6), 1–18.
- Khorshidi, J., Shokrpour, M. & Nazeri, V. (2016). Evaluation of response to water deficit stress in *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* using stress tolerance indices. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 46(4), 563–73. (In Persian).
- Khorshidi, J., Shokrpour, M. & Nazeri, V. (2018). Effect of water deficit stress on yield, essential oil and some of physiological traits in different ecotypes of *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* in Karaj region. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 49(3), 613–624. (In Persian).
- Koocheki, A., Nasirmahalati, M. & Azizi, A. (2004). The effects of water stress and defoliation on some of quantitative traits of *Zataria multiflora*, *Ziziphora clinopodioides*, *Thymus vulgaris* and *Teucrium polium*. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 2-1(3), 89–106. (In Persian).
- Lichtenthaler, H. K., & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids, measurement and characterization by UV- VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1, F4.3.1–F4.3.8
- Mafakheri, S., Asghari, B. & Nikjuyan, M. (2018). Effect of nano zinc chelate on morpho-physiological and phytochemical characteristics of *Dracocephalum kotschy* Bioss. in drought stress condition. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 49(3), 755–67. (In Persian).
- Mansinhos, I., Gonçalves, S., Rodríguez-Solana, R., Duarte, H., Luis Ordóñez-Díaz, J., Manuel Moreno-Rojas, J. & Romano, A. (2022). Response of *Thymus lotocephalus* in vitro cultures to drought stress and role of green extracts in cosmetics. *Antioxidants*, 11(1475), 1–25.
- Moghaddam, M., Alirezaei Noghondar, M., Selahvarzi, Y., & Goldani, M. (2015). The Effect of drought stress on some morphological and physicochemical characteristics of three cultivars of basil (*Ocimum Basilicum* L.). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 46(3), 509–21. (In Persian)
- Musie Mulugeta, S. & Radácsi, P. (2022). Influence of drought stress on growth and essential oil yield of *Ocimum* species. *Horticulturae*, 8(175), 1–12.
- Nasri, M., Karimi, Z., Meysam Oveysi, M., Kasraie, P. & Larijani, H. (2022). Impact of foliar application of salicylic acid and jasmonic acid on biochemical and agronomic properties of *Thymus vulgaris* L. under drought stress. *Journal of Crops Improvement*, 24 (4), 1359–1372. (In Persian)
- Osmolovskaya, N., Shumilina, J., Kim, A., Didio, A., Grishina, T., Bilova, T., Keltsieva, O. A. & Zhukov, V. (2018). Methodology of drought stress research: experimental setup and physiological characterization. *International of Molecular Science*, 19(12), (4089), 1–25.
- Ostadi, A., Javanmard, A., Machiani, M., A. & Kakaei, K. (2023). Optimizing antioxidant activity and phytochemical properties of peppermint (*Mentha piperita* L.) by integrative application of biofertilizer and stress-modulating nanoparticles under drought stress conditions. *Plants*, 12(151), 1–26.
- Rahimi, A., Gitari, H., Lyons, G., Heydarzadeh, S., Tuncturk, M. & Tuncturk, R. (2023). Effects of vermicompost, compost and animal manure on vegetative growth, physiological and antioxidant activity characteristics of *Thymus vulgaris* L. under water stress. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 33(1), 40–53.
- Rahimi, A., Mohammadi, M., Moghaddam, S., Heydarzadeh, S. & Gitari, H., (2022). Effects of stress modifier biostimulants on vegetative growth, nutrients, and antioxidants contents of garden Thyme (*Thymus Vulgaris* L.) under water deficit conditions. *Journal of plant growth regulation*, 41(5), 2059–2072

- Saeedinia, M., Hamzeh Hosseini, S. & Beiranvand, F. (2019). The effect of water stress on evapotranspiration and morphological characteristics of *Satureja hortensis*. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 50(8), 2063–2072. (In Persian)
- Sairam, R. K., Chandrasekhar, V. & Srivastava, G. C. (2001). Comparison of hexaploid and tetraploid wheat cultivars in their responses to water stress. *Biologia Plantarum*, 44(1), 89–94.
- Sajjadi, E., Ghasemi Dehkordi, N. & Balochi, M. 2003. Study of the essential constituent of aerial parts in *Ziziphora Clinopodioides* Lam. *Journal of Pajouhesh & Sazandegi*, 16(1), 97–100. (In Persian).
- Seleiman, M. F., Al Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., Dindaroglu, T., Abdul-Wajid, H. & Battaglia, M. L. (2021). Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. *Plants*, 10(2), 259.
- Sharafi, G., Changizi, M., Rafiee, M., Gomarian, M. & Khagani, Sh. (2019). Investigating the effect of drought stress and vermicompost biofertilizer on morphological and biochemical characteristics of *Thymus vulgaris* L. *Archives of Pharmacy Practice*, 10(3), 137–45.
- Shafiei, N., Khaleghi, E., & Moallemi, N. (2019). Effect of salicylic acid on some morphological and biochemical characteristics of olive (*Olea europaea* cv. 'Konservalia') under water stress. *Plant Productions*, 42(1), 15–30.
- Singleton, V. L. & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–58.
- Sodaiizadeh, H., Shamsaie, M., Tajamoliyan, M., Mirmohammady Maibody, S.A.M. & Hakimzadeh, M. A. (2017). Evaluation of some physiological characteristics of *Thymus fedtschenko* under different levels of water stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 9(4), 423–427. (In Persian)
- Sotomayor, J.A., Martinez, R.M., Garcia, A.J., Jordan, M.J. (2004) *Thymus zygis* subsp. *gracilis*: watering level effect on phytomass production and essential oil quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(17), 5418–5424.
- Tian, Sh., Shi, Y., Zhou, X., Ge, L. & Upur, H. (2011). Total polyphenolic (flavonoids) content and antioxidant capacity of different *Ziziphora Clinopodioides* Lam. extracts. *Environmental and Experimental Botany*, 7(25), 65–68.
- Turner, N. C. (1981). Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil*, 58(1–3), 339–366.
- Yin, G., He, W., Liu, W., Liu, X., Xia, Y. and Zh, H. (2024). Drought stress and its characteristics in China from 2001 to 2020 considering vegetation response and drought creep effect. *Journal of Hydrology*, 53, 101763.
- Zakerian, F., Sefidkon, F., Abbaszadeh, B. & Kalate-Jari, S. (2020). Effect of drought stress and mycorrhizal fungi on physiological traits and essential oil percentage of *Satureja sahandica* Bornm. *Iranian Journal of Horticultural Science*. 51(1), 189–201. (In Persian)

## **Effect of Drought Stress on Growth, Biochemical and Essential Oil Characteristics of some *Ziziphora clinopodioides* Lam. Ecotypes**

### **Abstract**



Climate changes and long periods of drought has caused that many studies focuses on drought tolerance plants. Kakootie-koochi (*Ziziphora clinopodioides* Lam, Family Lamiaceae)) is known as an important medicinal plant in herbal medicine and treatment of respiratory diseases. Besides having vast geographical distribution in Iran, it has conspicuous morphological and phytochemical diversities. To investigate the effect of water stress upon growth and phytochemical traits of Kakootie-koochi, a field experiment was performed as a split plot in a randomized complete block design with three replications. Different levels of irrigation were assigned to first factor including irrigation at 90-100% available water, stop irrigation at vegetative stage (two months after planting in the field) and stop irrigation at the beginning of flowering stage, and different ecotypes were assigned to second factor named as Galoogah, Taleghan, Kaboodarahang, Shazand and Velian. At the 50% flowering stage, the plants were harvested for desired traits measurements. Essential oils from treated plants were extracted by Clevenger apparatus and The essential oil components were analyzed using gas chromatography (GC) and GC-Mass. Stop irrigation at both vegetative and flowering stages decreased leaf dry weight, but leaf area was decreased only by stop irrigation at vegetative stage. The amount of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids, ion leakage and relative water content were not affected by water shortage but the amount of total phenol was increased by water shortage at vegetative stage. [Water stress at both stages significantly](#) increased the percentage of essential oil. The maximum amount of essential oil yield obtained in Galoogah, Taleghan and Velian ecotypes. The most dominant essential oil component was pulegone and its maximum amount (39.9%) was observed in plants of Taleghan ecotype under drought stress at vegetative stages. Considering that many studied traits were not affected negatively by water shortage, while phenol content and essential oil percentage increased. It is possible to achieve the highest amount of essential oil and pulegone in area exposed to water shortage by stopping irrigation at vegetative or flowering stage in Taleghan and Galoogah ecotypes.

**Key words:** Ecotype, Essential oil, GC-Mass, Medicinal plants, Pulegone

## Extended Abstract

### Introduction

*Ziziphora clinopodioides* known as Kakootie-koochi is one of the important medicinal plants in treatment of cardiac disorders, high blood pressure, and respiratory disease in traditional medicine of Iran. It has a wide distribution throughout Iran particularly in mountainous area, rocky slopes and deposits of steppe regions of Hyrcanian and Irano- Touranian regions. Kakootie-koochi shows obvious morph-physiological variation in different natural habitats. The most abundant components of its essential oil are pulegone, isomentol, cineole and piperiton. Drought stress has adverse effects on plants growth and development and consequently upon the amounts of yields and quality of agricultural crops. In water shortage condition, leaf wilting take place following reduction in leaf water content, increasing evaporation and decreasing water absorption by root system. Disruption in the electron transport chain produces reactive oxygen species, leading to oxidative damage in proteins, nucleic acids, and membrane lipids. This ultimately causes instability in cell membranes. Meanwhile, by reduction in synthesis of ribulose biphosphate and rubisco activity, photosynthetic capacity is decreased and plants growth and development are limited. This study evaluates the impact of water stress and ecotypes on morpho-physiological traits. The enhanced production of essential oil yield during water stress also will be discussed.

### Material and Methods

Seeds of five different ecotypes of Kakootie-koochi collected from their natural habitats were sown in trays containing cocopite and perlite (75:25) and kept in the greenhouse. After acclimation of seedlings having 5-6 leaves to outdoor environment, they were transferred to the field. The field was located in the research center of horticultural department of university of Tehran in Karj, Iran. Plots were drip irrigated to 90-100% plant water availability until complete establishment of plants, and then irrigation was withheld from selected plots at two developmental stages of vegetative and flowering stage. The experiment was performed as a split plot in a randomized complete block design with three replications. Different levels of irrigation were assigned to first factor including irrigation at 90-100% available water, stop irrigation at vegetative stage (two months after planting in the field) and stop irrigation at the beginning of flowering stage, and different ecotypes assigned to second factor named as Galoogah, Taleghan, Kaboodarahang, Shazand and Velian. At the 50% flowering stage, the plants were harvested and the responses of plants subjected to water stress was evaluated by measuring growth and phytochemical traits. The constituents of essential oils were also detected and measured by GC/ GC- Mass apparatus.

### Results and discussion

Water stress affected a few morphological and biochemical traits, showing potential of *Ziziphora clinopodioides* to resist to drought stress. Stop irrigation at both vegetative and flowering stages decreased leaf dry weight. Leaf area was declined when irrigation was stopped at vegetative stage. The amount of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids, ion leakage and relative water content were not affected by water shortage but the amount of total phenol increased under this condition. Water stress at both stages significantly increased the percentage of essential oil.

Comparing ecotypes showed that the shortest plants belonged to Galoogah ecotype and no significant difference was observed in other ecotypes. Kabodarahang, Shazand and Velian showed the highest values for leaf length, while Galoogah had the lowest value. The largest leaves were observed in Velian, Taleghan and Shazand ecotypes. Interaction effect of ecotype and water stress on plant dry weight was significant. The highest amount of plant dry weight was obtained in ecotypes of Taleghan and Kabodarahang both at normal condition.

It has been shown that decrease in leaf area in plants subjected to water stress may occur as a result of decline in turgor pressure, inhibition of cell division and cell enlargement. Additionally, plant dry weight usually reduces because of stomatal closure which limits CO<sub>2</sub> uptake and hence photosynthetic activity.

Phenolic compounds were also increased in plants under the water deficit condition. These compounds have fundamental role in plants resistance to water stress by regulating physiological activities. In the current research, the amount of electrolyte leakage in plants subjected to water stress did not show significant difference with untreated plants, indicating the high resistance of the cell membrane of Kakootie-koochi against the water stress. Inducing water stress at both vegetative and flowering stages caused a significant increase in percentage of essential oil. The GC-MS analysis of essential oil identified 23 compounds with pulegone as a major component. The highest amount of pulegone, 39.9%, obtained in plants of Taleghan ecotype exposed to drought stress at vegetative stages. Ecotype Kabodarahang was the only ecotype with high percentage of 1,8- cineol a cyclic monoterpene compound that is renowned for its antioxidant properties.

## Conclusion

Considering that many studied traits were not affected negatively by water shortage, while phenol content and essential oil percentage were increased, it is possible to achieve the highest amount of essential oil and pulegone in area exposed to water shortage by stopping irrigation at vegetative or flowering stage in Taleghan and Galoogah ecotypes.