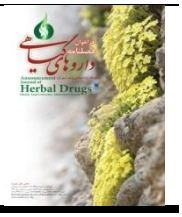
Archive of SID



فصل‌نامه‌ی داروهای گیاهی

journal homepage: www.journal.iaushk.ac.ir

اثر غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد IAA و NAA بر ماهیت اسانس گیاه جعفری فرنگی (*Chaerophyllum aureum* L.)

علیرضا فیض بخش[۱]، فاطمه مکاوی پور[۲]*

۱. دانشیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران؛

۲. کارشناس ارشد شیمی تجزیه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران ؛

***مسئول مکاتبات (*Email: *makavi135@yahoo.com*)**

شناسه‌ی مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۵/۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۷/۲۰

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: به زراعی - به نژادی

کلید واژگان:

- ✓ *α-pinene*
- ✓ *ایندول استیک اسید*
- ✓ *Limonene*
- ✓ *نفتالن-۱-استیک اسید*

چکیده

مقدمه و هدف: تنظیم کننده های رشد گیاهی نقش موثری در افزایش، کاهش و یا حذف میزان ترکیبات موجود در اسانس گیاهان دارند. گیاه (*Chaerophyllum aureum* L.) از خانواده چتریان (Apiaceae) که در ایران جعفری فرنگی نامیده می شود، گیاهی پایا و کم و بیش کرکدار است و دارای گل های سفید مجتمع در چترهای بسیار بزرگ است. هدف از این آزمایش، مطالعه اثر محلول پاشی غلظت های مختلف های NAA وIAA بر ماهیت اسانس گیاه جعفری فرنگی می باشد.

روش تحقیق: اندام گیاهان در زمان گل دهی تحت تیمار با غلظت هایی از هر یک از تنظیم کننده رشد IAA و NAA قرار گرفتند و ترکیبات اسانس گیاه پس از استخراج با دستگاه کلونجر، توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی به تنهایی و به همراه طیف سنج جرمی (GC/MS و GC) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج و بحث: بعضی ترکیبات گیاه قبل از تیمار با هورمون شامل α-pinene، β-pinene، camphene ، verbenone، limonene و trans-verbenol به ترتیب ۱۴/۱، ۱۱/۲، ۷/۳، ۲/۳، ۱۴/۴ و ۳/۷ درصد بودند. از مهمترین نتایج می توان به تولید α-humulene به میزان ۴ درصد توسط IAA و β-bisabolene به میزان ۲/۵ درصد (تولید) توسط NAA، افزایش میزان germacrene-D در حدود ۸ برابر توسط هورمون IAA و α-cadinol در حدود ۲ برابر توسط NAA، کاهش camphene به کمتر از نصف توسط NAA، کاهش α-pinene و β- pinene به وسیله هر دو هورمون اشاره کرد. راندمان استخراج اسانس ۱/۲درصد محاسبه شد.

توصیه کاربردی/صنعتی: با استفاده از برخی تنظیم کننده های رشد مانند IAA و NAA می توان تا حدودی ماهیت اسانس گیاه جعفری فرنگی را جهت تولید ماده موثره‌ی خاصی که مدنظر کارخانجات دارویی است تغییر داد.

۱. مقدمه

یکی از مهمترین مسایل گیاهان دارویی، مطالعه و تحقیق در مورد اسانس های مختلف موجود در اندام های گیاه و مقایسه آن ها از نظر کمیت و کیفیت با یک‌دیگر می باشد. استفاده بهینه از اسانس های طبیعی در داروهای گیاهی می تواند مردم را از مصرف داروهای شیمیایی مشابه و مضر، بی نیاز کند. اسانس های

www.SID.ir

Archive of SID

گیاهی فرار بوده و ملکول های سازنده آن ها اغلب کوچکند. ساختمان شیمیایی اسانس ها می تواند شامل استرها، آلدئیدها، کتون ها، الکل ها، فنول ها و ترپن ها باشد. تفاوت اسانس ها یا روغن های معطر با روغن های معمولی در این است که تند نمی-شوند و بر روی کاغذ یا پارچه لکه چربی به جا نمی‌گذارند (آزادبخت، ۱۳۷۸).

اکسین‌ها[1] از انواع تنظیم کننده های مهم رشد گیاهی اند (پازوکی و هم‌کاران، ۱۳۸۶). فراوان‌ترین اکسین طبیعی شناخته شده، ایندول استیک اسید و نفتالیک استیک اسید هستند که به اختصار IAA و NAA گفته می‌شوند. غلظت مناسب اکسین باعث دوام گل، میوه و برگ در ساقه گیاهان می‌شود و نبود آن، یا غلظت های زیاد آن باعث تشکیل لایه های جدا کننده و در نتیجه خزان این بخش ها می‌شود (Ansari *et al*., 1988). در یک بررسی (El-Khateeb, 1994) مصرف IAA باعث کاهش مقدار کارون و افزایش لیمونن و پینن در اسانس گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens* L.) شد. کوسوا و استیو (Koseva & Stave, 1978) افزایش مقدار اسانس و مقدار منتول را تحت تأثیر IAA و NAA در نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، گزارش کردند.

گیاه جعفری فرنگی (*Chaerophyllum aureum* L.) از خانواده چتریان یا جعفری (Apiaceae) بسیار نزدیک به جعفری معمولی است و به آن جعفری وحشی هم می‌گویند. جعفری فرنگی در ایران ۸ گونه دارد که اکثراً چندساله می باشند و در مراتع و ارتفاعات کوهستانی و تقریباً در سراسر ایران به جز مناطق گرم و مرطوب جنوبی گسترش و انتشار دارند (شکل ۱).

شکل ۱. گیاه جعفری فرنگی

زمان گل دهی این گیاه اردیبهشت و خرداد است و علاوه بر ایران در ترکمنستان، آناتولی، لبنان، آسیای مرکزی و قفقاز نیز می‌روید (قهرمان، ۱۳۸۲-۱۳۵۷).

برگ های جعفری فرنگی عطر بیشتری از برگ های جعفری معمولی دارد و عطر آن شبیه عطر رازیانه با کمی بوی تند فلفل است. در اروپا از خوردن برگ‌های آن غالباً برای آرام کردن سکسکه استفاده می شود. برگ های آن از نظر خواص دارویی کمی مدر، مقوی معده و اشتها آور است. خوردن عصاره برگ و شاخه های گلدار آن برای تصفیه خون، درمان یرقان و نقرس مفید است و ضماد له شده برگ های آن التیام زخم و جراحت را تسریع می‌کند.

در این تحقیق اثر غلظت های مختلف دو نوع اکسین IAA و NAA از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر روی میزان ترکیبات مختلف اسانس گیاه جعفری فرنگی با نام علمی *Chaerophyllum aureum* L. مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. روش تجربی

در اوایل خرداد ماه ۱۳۸۹ پایه‌هایی از گیاه جعفری فرنگی *Ch. aureum* به طور تصادفی در شمال تهران انتخاب و علامت گذاری شدند. شناسایی گیاه توسط فرجی و با استفاده از منابع فلور ایران (جفری، ۱۳۷۱)، (مظفریان، ۱۳۷۷) و (قهرمان، ۱۳۸۲-۱۳۵۷) انجام شد. تمام اندام هوایی نمونه ها (ساقه، برگ و گل) در ساعات اولیه روز (۸ تا ۱۰) به روش محلول پاشی از فاصله ۳۰ سانتی متری مورد تیمار با تنظیم کننده رشد قرار گرفتند. این عمل در طی ۱۰ روز و به صورت دو روز در میان (در سه نوبت) انجام شد. یک پایه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و با آب مقطر مورد محلول پاشی قرار گرفت. ۳ پایه از گیاه توسط غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ppb ۱۵۰ از IAA و ۳ پایه دیگر نیز با NAA مورد محلول پاشی قرار گرفتند. در پایان دوره اندام های هوایی گیاهان از ارتفاع ۱۵ سانتی متری خاک، قطع و جمع آوری شد و در سایه (در حدود یک هفته)، در جریان هوا خشک شدند. اندام خشک شده خرد گردیدند و مقدار ۱۰۰ گرم گیاه خشک از هر نمونه توسط روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر اسانس گیری گردید. محل جمع شدن اسانس در دستگاه، با

[1] Auxines

www.SID.ir

Archive of SID

فویل آلومینیومی پوشانده شد تا از تغییر کیفیت اسانس در اثر تابش نور جلوگیری شود و دمای دستگاه طوری تنظیم شد تا آب داخل آن در حال جوش ملایم باشد. پس از جمع آوری اسانس، ۵۰ میکرولیتر اسانس خالص از هر ظرف را جداگانه در ۵۰۰ میکرولیتر محلول نرمال هگزان حل نموده و ۱ میکرولیتر از محلول های حاصل جهت اندازه گیری دقیق اجزا به دستگاه GC /FID و جهت شناسایی اجزای تشکیل دهنده اسانس به دستگاه GC/MS تزریق شدند.

۲-۲. مواد و دستگاه‌ها

دو نوع اکسین IAA و NAA ساخت شرکت مرک[2] و با درجه خلوص ۹۹ درصد مورد استفاده قرار گرفتند. جهت تزریق به دستگاه‌های GC و GC/MS میزان ۱۰ میلی لیتر حلال n – هگزان استفاده شد و برای استخراج با دستگاه کلونجر، هیچ حلالی به کار نرفت.

دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) مدل Varian CP-3800 ، ستون موئین از نوع: WCOT Fused Silica 60m×0.25mm, ID Coating CP-Sill 5-CB, Low BL EED/MS استفاده شد. دمای اولیه ستون ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد و به مدت ۲ دقیقه ثابت نگه داشته شد و سپس با سرعت ۴ درجه سانتی گراد بر دقیقه به دمای ۲۸۰ درجه سانتی گراد رسیده و در این دما به مدت ۵ دقیقه باقی ماند. دمای انژکتور (فشار psi ۱۰) و دمای دتکتور یونیزاسیون شعله ای (FID) نیز ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت جریان گاز حامل هلیوم بین ۰/۷ تا ۱/۱ میلی لیتر بر دقیقه استفاده شد.

دستگاه GC/MS با دستگاه GC مدل Sering ۸۰۰۰ ، ستون موئین CP-Sill 5-CB به ابعاد ۶۰ متر در ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر بود. دمای اولیه ستون (۵۰ درجه سانتی گراد) به مدت ۲ دقیقه ثابت نگه داشته شده و سپس با سرعت ۴ درجه سانتی گراد بر دقیقه به دمای ۲۵۰ درجه سانتی گراد رسیده و در این دما به مدت ۲۰ دقیقه باقی ماند و دستگاه MS با مدل Fisons/TRIO1000 و انرژی یونش ۷۰ الکترون ولت استفاده شد. دمای انژکتور (فشار psi ۱۰) ۲۵۰ درجه سانتی گراد بود.

شناسایی و تعیین درصد ترکیبات اسانس توسط پارامترهایی مانند طیف های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه دستگاه و مقایسه با طیف مجهول، محاسبه شاخص بازداری کواتس نمونه ها و مقایسه با اندیس کواتس، استفاده از کتاب های مرجع (سیلور اشتاین، ۱۳۷۰)، (Hubschman, 2000)، (Bhattecharjee, 2000) و (Adams, 1995) انجام شد.

۳. نتایج و بحث

داده های به دست آمده از طیف ها (بر حسب درصد)، نمونه شاهد (مرجع) و اندیس کواتس محاسبه شده در جدول ۱ آورده شده اند. همان گونه که در جدول دیده می شود، در اسانس گرفته شده از گیاه مرجع (تیمار شده با آب مقطر) ۳۲ ترکیب شناسایی شده است که بیشترین اجزا از لحاظ درصد به ترتیب (٪۱۴/۴) limonene، (٪۱۴/۱) α-pinene، (٪۱۱/۲) β-pinene، (٪۷/۳) camphene، (٪۵/۱) α-terpineol، (٪۴/۳) α-terpinene و (٪۳/۷) trans-verbenol بودند.

پس از تیمار، اجزای اسانس گیاه در مقایسه با گیاه مرجع سنجیده شدند. در اثر تیمار گیاه با غلظت های مختلف هورمون IAA ، α-humulene از میزان ناچیز ۰/۱ درصد به ۳/۵، ۳/۷ و ۳/۹ درصد رسید. یعنی به میزان ۴ درصد افزایش داشت. germacrene-D از میزان ۰/۷ درصد به ۵/۳، ۵/۵ و ۵/۷ درصد، یعنی در حدود ۸ برابر افزایش یافته است. اما میزان α-pinene و β-pinene به ترتیب از ۱۴/۱ به ۷/۵، ۷/۸ و ۸/۱ درصد و از ۱۱/۲ به ۶/۹ ، ۷/۵ و ۸/۶ درصد کاهش یافتند. هم-چنین میزان β-caryophyllene و γ- muurolene از میزان ۰/۶ و ۰/۳ کاهش یافت.

در اثر تیمار گیاه با هورمون NAA ، β-bisabolene که در گیاه مرجع شناسایی نشده بود تولید و به میزان ۱/۷، ۲/۱ و ۲/۴ درصد افزایش داشت. α-cadinol از میزان ۰/۷ درصد به میزان ۱/۴ و ۱/۵ درصد رسید، یعنی در حدود ۲ برابر افزایش یافت. اما میزان camphene از میزان ۷/۳ به کمتر از نصف یعنی ۳/۴ (که

[2] Merck

www.SID.ir

Archive of SID

با غلظت ppb ۱۰۰ از هورمون به این میزان رسید) کاهش یافت. کاهش α-pinene و β-pinene نیز به وسیله NAA اتفاق افتاده است، اما در مقایسه با IAA کمتر است، هم‌چنین میزان borneol و β-selinene هر دو از ۰/۲ درصد کاهش یافته و به مقدار ناچیز رسیده است.

جدول۱. مقایسه ترکیبات شناسایی شده اسانس گیاه جعفری فرنگی قبل و بعد از تیمار

			نتایج تیمار با غلظت های مختلف NAA					نتایج تیمار با غلظت های مختلف IAA	
ردیف	ترکیبات	KI	گیاه مرجع	ppb۵۰	ppb۱۰۰	ppb۱۵۰	ppb۵۰	ppb۱۰۰	ppb۱۵۰
۱	*α-pinene*	۹۳۳	۱۴/۱	۱۱/۹	۱۰/۷	۱۰/۱	۸/۱	۷/۸	۷/۵
۲	*camphene*	۹۵۰	۷/۳	۳/۶	۳/۴	۳/۸	۷/۳	۷/۴	۷/۳
۳	*β-pinene*	۹۷۰	۱۱/۲	۹/۱	۸/۶	۸/۴	۸/۶	۷/۵	۶/۹
۴	*α-terpinene*	۱۰۱۳	۴/۳	۴/۳	۴/۴	۴/۶	۴/۲	۴/۱	۳/۹
۵	p-cymene	۱۰۱۶	۲/۷	۲/۵	۲/۳	۲/۲	۲/۵	۲/۴	۲/۴
۶	1,8-cineole	۱۰۱۸	۲/۱	۲/۳	۲/۲	۲/۱	۲/۱	۲/۰	۲/۰
۷	limonene	۱۰۲۰	۱۴/۴	۱۴/۶	۱۴/۲	۱۴/۱	۱۴/۲	۱۴/۳	۱۴/۱
۸	kresol	۱۰۳۳	۰/۴	۰/۵	۰/۵	۰/۷	۰/۴	۰/۳	۰/۵
۹	*γ-terpinene*	۱۰۴۷	۰/۲	۰/۱	۰/۲	۰/۲	۰/۳	۰/۵	۰/۶
۱۰	*t-verbenol*	۱۱۴۹	۳/۷	۳/۷	۳/۷	۳/۶	۳/۵	۳/۲	۳/۰
۱۱	linalool	۱۰۸۳	۰/۸	۰/۷	۰/۳	۰/۴	۰/۶	۰/۵	۰/۵
۱۲	camphor	۱۱۵۰	۰/۲	۰/۲	۰/۳	۰/۳	۰/۱	*t	t
۱۳	Iso-borneol	۱۱۵۳	۰/۴	۰/۳	۰/۳	۰/۶	۰/۳	۰/۴	۰/۴
۱۴	borneol	۱۱۵۵	۰/۲	t	–	–	۰/۲	۰/۲	۰/۴
۱۵	*α-terpineol*	۱۱۷۴	۵/۱	۵/۰	۵/۰	۵/۱	۵/۳	۵/۴	۵/۲
۱۶	estragol	۱۱۷۹	۰/۹	۱/۱	۱/۰	۰/۸	۰/۹	۰/۹	۰/۷

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۱.

ردیف	ترکیبات	KI	گیاه مرجع	نتایج تیمار با غلظت های مختلف NAA			نتایج تیمار با غلظت های مختلف IAA		
				ppb۵۰	ppb۱۰۰	ppb۱۵۰	ppb۵۰	ppb۱۰۰	ppb۱۵۰
۱۷	verbenone	۱۱۸۴	۲/۳	۲/۱	۲/۳	۱/۹	۲/۳	۲/۷	۲/۶
۱۸	t-carveol	۱۲۰۰	۰/۶	۰/۷	۰/۸	۰/۶	۰/۹	۰/۸	۱/۰
۱۹	α-copaene	۱۳۸۰	۱/۳	۱/۵	۱/۷	۱/۶	۱/۶	۱/۲	۱/۰
۲۰	β-caryophyllene	۱۴۲۰	۰/۶	۰/۶	۰/۵	۰/۳	t	t	-
۲۱	*α-humulene*	۱۴۳۹	۰/۱	۰/۱	۰/۱	t	۳/۹	۳/۷	۳/۵
۲۲	*γ- muurolene*	۱۴۶۸	۰/۳	۰/۲	۰/۲	۰/۱	t	t	t
۲۳	*germacrene-D*	۱۴۷۲	۰/۷	۰/۷	۰/۶	۰/۶	۵/۵	۵/۷	۵/۳
۲۴	β-selinene	۱۴۷۷	۰/۲	t	t	-	۰/۳	۰/۲	۰/۳
۲۵	α-farnesene	۱۴۹۴	۱/۳	۱/۳	۱/۵	۱/۶	۱/۲	۱/۲	۱/۱
۲۶	cubebol	۱۵۱۰	۰/۴	۰/۳	۰/۳	۰/۲	۰/۵	۰/۶	۰/۶
۲۷	*β-bisabolene*	۱۵۱۰	-	۱/۷	۲/۴	۲/۱	-	-	-
۲۸	γ-cadinene	۱۵۱۳	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۶	۱/۵	۱/۳	۱/۴
۲۹	γ-elemene	۱۵۴۹	۲/۵	۲/۵	۲/۴	۲/۷	۲/۳	۲/۳	۲/۶
۳۰	spathulenol	۱۵۶۷	۰/۸	۰/۸	۰/۹	۱/۲	۰/۷	۰/۶	۰/۴
۳۱	*α-cadinol*	۱۶۴۳	۰/۷	۱/۵	۱/۴	۱/۵	۰/۶	۰/۷	۰/۷
۳۲	β-bisabolol	۱۶۵۸	۰/۵	۰/۴	۰/۳	۰/۳	۰/۵	۰/۵	۰/۴
۳۳	Far nesal	۱۶۶۸	۱/۱	۱/۲	۱/۳	۱/۳	۱/۲	۱/۴	۱/۷

(t* =trace)

www.SID.ir

Archive of SID

۴. نتیجه گیری

همان گونه که اشاره شد تیمار گیاه جعفری فرنگی با NAA و IAA منجر به تولید یک جزء و افزایش یا کاهش چشمگیر بعضی اجزای اسانس گیاه جعفری فرنگی شدند. اگر چه افزایش غلظت هر یک از تنظیم کننده های رشد از ۵۰ به ۱۵۰ ppb باعث ایجاد تفاوت معنی دار در ترکیب درصد اجزا نشد ولی با توجه به نتایج ذکر شده مانند افزایش یا کاهش چندین برابری درصد اجزای اسانس می توان به این وسیله در جهت افزایش اجزای دلخواه اسانس گیاه و یا کاهش ترکیب های مزاحم برای مصارف دارویی، بهداشتی و صنعتی اقدام نمود.

۵. سپاس‌گزاری

از جناب آقای مهندس فرجی که در شناسایی گیاه مورد نظر و تیمار و جمع آوری گیاهان هم‌کاری داشته اند و مسئولین محترم آزمایشگاه دانشکده‌ی شیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی کمال تشکر را دارد.

۶. منابع

آزادبخت، م.، ۱۳۷۸، رده بندی گیاهان دارویی، نشر طبیب.

پازوکی، ع.، فهیمی، ح.، شاکری، ح.، ۱۳۸۶، اثر هورمون‌های رشد IAA و NAA بر کیفیت و کمیت اسانس گیاه ترخون. *پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی*، شماره ۷۴.

جفری. ک. ترجمه خاتم ساز، ۱۳۷۱، رده بندی گیاهان، موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع.

سیلور اشتاین، ب. ۱۳۷۰، شناسایی ترکیبات آلی به روش طیف سنجی، ترجمه صادقی م. ، سعیدی م.ر. ، انتشارات دانشگاه اصفهان.

قهرمان، ا. ۸۲-۱۳۵۷. فلور رنگی ایران. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران.

مظفریان، و. ا. ۱۳۷۷. فرهنگ نام های گیاهان ایران، انتشارات فرهنگ معاصر، تهران.

Adams, R. P. 1995. Identification of essential oil components by GC/MS, Allured Publishing.

Ansari, S.H., Qadry, J.S.E. and Jain, V.K. 1988. Effect of plant hormones on the growth and chemical composition of volatile oil of *Cymbopogon jwarancusa* (Schutt). *Industrial Journal of Forestry*, 11: 143-145.

Bhattecharjee, S. K. 2000. Handbook of aromatic plants. Pointer Publisher.

EL-Khateeb, M.A. 1994. Effect of some growth regulators growth, fruit yield and essential oil in dill plant. *Bull. Fac. Agri. Univ. Cairo*, 45: 187-205.

Hubschman, H. J. 2000. In "Hand Book of GC/MS: Fundamentals and Applications" VCH Verlagsgesellschaft.

Koseva-Kovacheva, D. and Stave, D. 1978. Effect of some growth regulators and hydrogen peroxide on the content and quality of peppermint oil. *Resteniedni dni u Nauki*, 15: 21-25.

www.SID.ir