فصل‌نامه‌ی داروهای گیاهی

Journal homepage: WWW.ojs.iaushk.ac.ir

واکنش فیتوشیمیایی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) به تیمارهای هیدروالکلی متانول و اتانول

اسماعیل خسروی[1]، علی مهرآفرین[2]، حسنعلی نقدی‌بادی[2*]، رضا حاجی‌آقایی[3]، محمدتقی خسروی[1]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران؛

۲. گروه کشت وتوسعه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی (ACECR)، کرج، ایران؛

****مسئول مکاتبات:** (**E-mail: Naghdibadi@yahoo.com**)*

3. گروه فارماکوگنوزی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی (ACECR)، کرج، ایران؛

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۵/۱۲

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۰۷/۲۰

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: به زراعی

کلید واژگان:

- ✓ *محلول پاشی*
- ✓ *فیتوشیمی*
- ✓ *بادرنجبویه*
- ✓ *اتانول*
- ✓ *متانول*

چکیده

مقدمه و هدف: هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر محلول پاشی متانول و اتانول به عنوان یک فن آوری جدید و بی خطر در تولیدات گیاهی بر روی اجزای تشکیل دهنده اسانس بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) متعلق به تیره نعناعیان (Lamiaceae) بود.

روش تحقیق: آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۵ تیمار و ۳ تکرار در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی واقع در کرج در سال ۱۳۸۹ انجام‌شد. تیمارها شامل محلول‌های هیدروالکلی‌اتانول (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ ٪ حجمی)، متانول (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ ٪ حجمی)، مخلوط یکسان متانول و اتانول (۵، ۱۵و ۲۵ ٪ حجمی)، تیمار آب مقطر و شاهد (بدون محلول پاشی) بود.

نتایج و بحث: نتایج به دست آمده از این تحقیق حاکی از آن بود که اعمال تیمارها در ۱۱ شاخص مورد ارزیابی شده دارای تفاوت معنی داری نسبت به تیمار شاهد در سطح آماری ($p\leq0.01$) بوده‌اند. نتایج فیتوشیمیایی اسانس تیمارهای مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میزان بتاکاریوفیلن، نرال، ژرانیال، کاریوفیلن اکساید، سیترونلال، دلتاکادینول، دلتا کادینن، ژرماکرن ب، ژرانیل استات مربوط به محلول‌پاشی با متانول ۵۰٪ و بیشترین میزان ترکیب کاریوفیلن و آلفا کادینول مربوط به تیمار با اتانول ۵۰٪ بود. در مجموع از نتایج به دست آمده از این تحقیق می‌توان چنین نتیجه گرفت که اعمال تیمارهای هیدروالکلی متانول و اتانول بر روی گیاه دارویی بادرنجبویه توانست باعث افزایش و تغییر در بیوسنتز اجزای تشکیل دهنده اسانس شود. به نظر می‌رسد که بهره‌گیری از روش محلول پاشی با الکل‌ها می‌تواند به عنوان یکی از فن‌آوری‌های نوین در بالا بردن عملکرد گیاهان دارویی به ویژه در شرایط خشک و نیمه خشک ، مفید واقع شود.

توصیه کاربردی/صنعتی: توصیه می‌شود در صنعت تولید گیاهان دارویی به خصوص در تولید گیاهان در نظام های کشاورزی پایدار به جهت استفاده خاص از این نوع گیاهان جهت تولید دارو، برای افزایش کمیت اسانس بادرنجبویه در اقالیم مشابه منطقه مورد مطالعه، استفاده از فن‌آوری محلول پاشی با الکل‌ها (متانول و اتانول ۵۰٪) برای این منظور مورد بهره برداری قرار گیرد.

۱. مقدمه

بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) گیاهی است علفی و پایا از تیرهٔ نعناعیان (Lamiaceae)، این گیاه حاوی ۰/۲ تا ۰/۵ درصد اسانس است (امیدبیگی،۱۳۸۷). از جمله ترکیبات مهم بادرنجبویه می‌توان به سیترونلال، ژرانیال، نرال و غیره اشاره کرد (بیگم فقیر، ۱۳۸۴). عصاره بادرنجبویه دارای خاصیت ضد ویروس[1] و اسانس آن خاصیت ضد میکروب[2] دارد (رجحان، ۱۳۷۷).

[1] Antiviral

Archive of SID

www.SID.ir

با توجه به آسیب‌های جدی که در دهه‌های گذشته به‌واسطه‌ی استفاده بیش از اندازه از نهاده‌های شیمیایی و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی برای بالا بردن تولید محصولات کشاورزی، به محیط زیست و سلامت انسان‌ها وارد شده است، لذا امروزه لزوم بهره‌وری از فن‌آوری‌های نو و جایگزین برای تولید غذای سالم و حفظ و پایداری محیط زیست بسیار مورد توجه جامعه جهانی قرار گرفته است. در این راستا بهره‌گیری از روش محلول پاشی با الکل‌ها به‌ویژه متانول و اتانول، یکی از راه‌کارهای مناسب در بالا بردن میزان عملکرد گیاهان، در نظام های کشاورزی پایدار به‌ویژه تولید گیاهان دارویی می‌باشد. افشاندن محلول‌های ۵۰-۱۰ درصد حجمی متانول، افزایش رشد و میزان محصولات گیاهی را در پی‌داشته است(Nonomura & Benson, 1992). متانول به شکل‌های فرمالدهید و Co_2 در گیاه اکسید گردیده و در بافت‌های مختلف گیاهان C_3 به صورت اسیدهای آمینه سرین، متیونین و کربوهیدرات‌ها تبدیل می‌شود (Nonomura & Benson, 1992) . متانول با اثرگذاری بر پیش ماده تولیدکننده تنظیم‌کننده رشد گیاهی اتیلن، سبب تأخیر در پیری برگ‌ها و طولانی شدن دوره فعال فتوسنتزی گیاه می‌شود، هم‌چنین روی برگ اکثر گیاهان، باکتری‌هایی همزیست موسوم به باکتری‌های متیلوتروف فعالیت دارند. این باکتری‌ها با جذب متانول متصاعد شده از سطح برگ‌ها، به‌صورت یک منبع برای پیش ماده سنتز تنظیم کننده‌های رشد، مانند اکسین و سایتوکنین که در رشد و نمو برگ‌ها دخیل می‌باشند عمل می‌کنند (Heins, 1980). افشاندن محلول‌متانول، منجر به افزایش میزان آنزیم (FBP_{ase}) می‌شود، که از جمله آنزیم‌های مهم کنترل‌کننده در فرآیند فتوسنتز می‌باشد (Andreas *et al.*, 1990). دو برابر شدن میزان غلظت Co_2 موجب بالا رفتن خطی راندمان مصرف نور تا میزان ۳۰٪ می‌شود. در نهایت با توجه به اهمیت موضوع، تصمیم به انجام تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر محلول‌های هیدروالکلی اتانول و متانول بر میزان بیوسنتز اجزای اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه شد.

۲. مواد و روش‌ها

گیاه بادرنجبویه در این طرح در ابتدای فصل رویشی به‌صورت نشاءکاری در محل آزمایش مورد کشت واقع شد. طول و عرض کرت‌ها ۲ × ۳ متر و فاصله بین کرت‌ها ۱ متر و فاصله بین بوته‌ها ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. این آزمایش به‌صورت طرح بلوک-های کامل تصادفی با ۱۵ تیمار و ۳ تکرار در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی واقع در منطقه هلجرد در استان البرز در سال ۱۳۸۹ انجام شد. بافت خاک مزرعه از نوع سیلتی بود. میانگین بارندگی سالیانه و میانگین سالیانه دما به ترتیب ۲۵۱ میلی متر و ۱/۱۴ درجه سانتی‌گراد است. تیمارها شامل محلول‌های آبی اتانول (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و۵۰٪ حجمی)، متانول (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰٪ حجمی)، مخلوط یکسان متانول و اتانول (۵، ۱۵ و ۲۵٪ حجمی)، تیمار آب مقطر و شاهد (بدون محلول‌پاشی) بودند. کرت‌ها در ۳ نوبت، یک نوبت پس از استقرار نشاءها و دیگری در اواسط فصل رویشی و مرحله آخر، قبل از به گل رفتن بوته‌ها محلول پاشی شدند. نمونه‌ها طی یک مرحله برداشت و در سایه خشک شدند. سپس میزان ۱۰۰ گرم از اندام هوایی به روش تقطیر با آب به‌وسیله دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شد. اسانس حاصل جهت شناسایی نوع ترکیبات به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) به تفکیک از نوع GC با مدل Agilent 6890 و MASS با مدل Agilent 5973 تزریق شد. مقدار درصد ترکیبات اسانس نیز از گزارش دستگاه GC با مدل Younglin Acm 6000 مشاهده گردید. تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده از این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به‌وسیله نرم افزار SPSS (ver.17) و Excel 2003 صورت گرفت و میانگین صفت‌های اندازه-گیری شده مطابق آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطوح آماری ۵٪ و ۱٪ مقایسه شدند.

[2] Antibacterial

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. تجزیه واریانس میانگین مربعات اجزای تشکیل دهنده اسانس بادرنجبویه

منابع تغییرات	میانگین مربعات (MS)									
	بتا کاریوفیلن	ژرانیال	نرال	کاریوفیلن	کاریوفیلن اکساید	سیترونلال	آلفا کادینول	دلتا کادینول	دلتا کادینن	ژرماکرن ب	ژرانیل استات
تکرار	۴/۸۹	۴/۴۹	۳/۷۳	۲/۷	۰/۶۱	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۱۴	۰/۹۰	۰/۲۸
تیمار	۷۸/۷۲	۱۰۲/۲۶	۴۸/۳۹	۱۱/۹۲	۶۲/۲۵	۱۹	۸/۱۴	۳/۳۳	۲/۶۲	۲/۱۵	۳/۳۹
خطا	۳/۲	۱/۱۸	۰/۵	۰/۷۱	۰/۵۵	۰/۲	۰/۱۲	۰/۱۰	۰/۲۰	۰/۶۰	۰/۴۰
ضریب تغییرات	۱۸/۳۲	۱۱/۱۹	۱۰/۵۵	۱۷/۲۳	۱۴/۸۳	۲۰/۸۹	۱۵/۸۹	۱۷/۲۴	۱۶/۶۳	۱۴/۱۵	۱۸/۳۴

ns بیانگر عدم اختلاف معنی دار، * بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد، ** بیانگر اختلاف بسیار معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۲. مقایسه میانگین درصد اجزای تشکیل دهنده اسانس بادرنجبویه

تیمار	بتا کاریوفیلن	ژرانیال	نرال	کاریوفیلن	کاریوفیلن اکساید	سیترونلال	آلفا کادینول	دلتاکادینول	دلتا کادینن	ژرماکرن ب	ژرانیل استات
شاهد بدون محلول پاشی	۲/۰۳^{h}	۱/۲۳^{f}	۱/۵۳^{j}	۲/۳۳^{h}	۱/۷۶^{f}	۰/۲^{h}	۰/۱^{h}	۰^{f}	۰^{f}	۰/۲^{f}	۰/۰۶^{f}
شاهد آب مقطر	۳/۸^{gh}	۱/۴۶^{f}	۱/۷^{j}	۲/۶۳^{h}	۱/۸^{ef}	۰/۵^{gh}	۰/۱۳^{h}	۰^{f}	۰^{f}	۰/۲۶^{f}	۰/۱^{f}
متانول ۱۰٪	۸/۶^{cde}	۶/۶^{de}	۳/۸^{hi}	۳/۶۳^{fgh}	۲/۳^{def}	۱/۱۶^{efg}	۰/۶۶^{h}	۰^{f}	۰^{f}	۱/۵^{d}	۰/۱۶^{f}
متانول ۲۰٪	۱۱/۱۳^{c}	۱۰/۶^{c}	۵/۳۶^{fg}	۴/۴^{efg}	۳/۲۳^{de}	۱/۵^{ef}	۱/۹^{fg}	۰/۱۳^{ef}	۱^{e}	۲^{c}	۱^{d}
متانول ۳۰٪	۱۱/۷۶^{c}	۱۳/۷۳^{b}	۶/۶۶^{e}	۵/۱۳^{cdef}	۸/۴۶^{c}	۱/۷۶^{de}	۲/۱۶^{ef}	۱/۲۳^{c}	۱/۵۶^{bc}	۲/۵^{b}	۱/۵^{c}
متانول ۴۰٪	۱۸/۸^{a}	۱۹/۵^{a}	۱۳/۵۳^{b}	۶^{cd}	۱۲/۷^{b}	۴/۳۳^{b}	۳/۱۳^{cd}	۲/۵۶^{b}	۱/۸^{b}	۳/۰۶^{a}	۳/۱^{a}
متانول ۵۰٪	۱۹/۱^{a}	۲۰/۶۳^{a}	۱۴/۹^{a}	۵/۴۶^{cde}	۱۶/۴۳^{a}	۱۰/۴^{a}	۳/۶۶^{c}	۳/۴۶^{a}	۳^{a}	۳/۱۶^{a}	۳/۱۶^{a}
اتانول ۱۰٪	۵/۴۶^{efg}	۵/۲^{e}	۴/۸^{gh}	۳/۳^{gh}	۲/۲۶^{def}	۰/۶۳^{fgh}	۱/۵۶^{fg}	۰^{f}	۰^{f}	۱/۵^{d}	۰/۱۶^{f}
اتانول ۲۰٪	۷/۲۶^{def}	۸/۲۳^{d}	۶/۲۶^{ef}	۶/۳۶^{cd}	۲/۴^{def}	۱/۲^{efg}	۲/۱^{ef}	۰/۱۳^{ef}	۰^{f}	۱/۵^{d}	۰/۵۶^{e}
اتانول ۳۰٪	۱۰/۵۶^{cd}	۱۰/۴۳^{c}	۸/۶^{d}	۶/۶۶^{bc}	۳/۴۶^{d}	۲/۳۳^{cd}	۲/۷^{de}	۰/۱۶^{ef}	۱/۱^{de}	۲/۵^{d}	۱/۰۳^{d}
اتانول ۴۰٪	۱۰/۶^{cd}	۱۱/۷^{c}	۸/۸۳^{d}	۷/۹۶^{ab}	۳/۶۶^{d}	۲/۴^{cd}	۵^{b}	۰/۲۳^{e}	۱/۵^{bc}	۲/۰۳^{c}	۱/۲^{cd}
اتانول ۵۰٪	۱۵/۵۶^{b}	۱۵/۵^{b}	۱۰/۹۶^{c}	۸/۷۳^{a}	۹/۳^{c}	۲/۷۶^{c}	۵/۶۶^{a}	۰/۶^{d}	۱/۵^{bc}	۲/۱^{bc}	۲/۵۳^{b}
مخلوط یکسان متانول واتانول ۵٪	۴/۱۳^{fgh}	۲/۷۳^{f}	۲/۹۶^{i}	۲/۶^{h}	۱/۹۳^{ef}	۰/۷۳^{fgh}	۰/۵۶^{h}	۰^{f}	۰^{f}	۱^{e}	۰/۱^{f}
مخلوط یکسان متانول و اتانول۱۵٪	۷/۶۳^{de}	۷/۵۶^{d}	۴/۳^{gh}	۳/۱^{gh}	۲/۲۳^{ef}	۰/۹^{fgh}	۱/۴^{g}	۰/۰۶^{ef}	۰^{f}	۱/۵۳^{d}	۰/۶۳^{e}
مخلوط یکسان متانول واتانول ۲۵٪	۹/۹۳^{cd}	۱۰/۴^{c}	۶/۳^{ef}	۵/۰۶^{def}	۳/۱۳^{def}	۱/۴^{ef}	۲/۰۳^{fg}	۰/۱۳^{ef}	۱/۳۳^{cd}	۲/۰۳^{c}	۱/۰۳^{d}

حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار بین گروه های آزمایشی می باشد

www.SID.ir

۳. نتایج و بحث

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق حاکی از آن بود که اعمال تیمارها در ۱۱ شاخص مورد ارزیابی دارای تفاوت معنی‌داری در ($p\leq0.01$) بودند (جدول ۱).

بیشترین میزان بیوسنتز بتاکاریوفیلن، نرال، ژرانیال، کاریوفیلن اکساید، سیترونلال، دلتاکادینول، دلتا کادینن، ژرماکرن ب، ژرانیل استات، مربوط به محلول پاشی با محلول متانول ۵۰٪ و بیشترین میزان ترکیب کاریوفیلن و آلفا کادینول مربوط به تیمار محلول پاشی با محلول اتانول ۵۰٪ می‌باشد (جدول ۲).

نتایج تحقیقی که بر روی تأثیر محلول های اتانولی بر روی رشد کاهو انجام گردید، نشان داده است که اتانول پس از نفوذ به درون بافت گیاه تبدیل به فرمالدهید شده و این ترکیب در نهایت به دی اکسید کربن اکسید می‌گردد. دی اکسید کربن تولید شده باعث افزایش غلظت دی اکسیدکربن داخلی برگ شده که این فرآیند منجر به افزایش راندمان فتوسنتزی می‌شود (Morales *et al.*, 1997).

با وجود تنوع ساختاری گسترده متابولیت‌های ثانویه، تقریباً تمامی آن‌ها در یکی از سه مسیر اصلی بیوسنتزی گیاهان یا تلفیقی از دو یا چند مسیر بیوسنتزی پدید می آیند که این مسیرها عبارت از موالونات بر اساس اسید موالونیک و مسیر شیکمات بر اساس اسید شیکمیک است. به‌طور کلی ترپن‌ها از مسیر موالونات تولید می‌شوند. اسید موالونیک ترکیب حد واسط ۶ کربنی است که از ترکیب سه مولکول استات به‌وجود می آید که این ماده نیز به نوبه خود از استیل کوانزیم آ مشتق گردیده است (هی و واترمن، ۱۳۷۹).

عمده ترکیبات تشکیل دهنده اسانس بادرنجبویه را ترکیبات ترپنی شامل می‌شوند. برخی از تنش ها ممکن است در گیاهان سبب تحریک تولید برخی از ترکیبات ثانویه شوند (امید بیگی، ۱۳۸۸). بنابراین این احتمال نیز وجود دارد که الکل‌ها با ایجاد تنش بر روی متابولیسم گیاهان باعث افزایش این متابولیت‌ها گردند. با توجه به این که این مطالعه برای اولین بار بر روی اثر الکل‌ها بر روی بیوسنتز بادرنجبویه گزارش شده است، نیاز به بررسی دقیق تر این موضوع با استفاده از روش ردیابی ترکیبات نشاندار و بررسی اثر الکل‌ها در گیاهان در مطالعات سلولی و مولکولی می باشد.

با توجه به نتایج مثبت به‌دست آمده توسط سایر محققین (Nonomura & Benson,1992) در زمینه محلول‌پاشی با الکل‌ها در بهبود متابولیسم و افزایش تولید گیاهان در مناطق بیابانی و نیز اثر الکل‌ها در سیستم‌های آنزیمی دخیل در فتوسنتز توسط آندراس و همکاران (Andreas *et al.*, 1990) و مقایسه نتایج آن‌ها با نتایج این تحقیق، نشان دهنده این است که تیمارهای الکلی توانسته است در میزان اجزای تشکیل دهنده اسانس بادرنجبویه تغییر فزاینده‌ای داشته باشد.

۴. نتیجه گیری

از نتایج به‌دست آمده از این تحقیق می‌توان دریافت که استفاده از تیمارهای هیدروالکلی در افزایش شاخص‌های کمی در اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه می‌تواند در شرایط آب و هوایی منطقه هلجرد مفید واقع شود. بنابراین پیشنهاد می‌شود که بهره‌گیری از روش محلول‌پاشی با الکل‌ها به‌خصوص متانول و اتانول ۵۰٪ می‌تواند به عنوان یکی از فن‌آوری‌های نوین در بالا بردن کمیت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی، به‌ویژه در شرایط خشک و نیمه خشک ایران، مفید واقع شود.

۵. منابع

امید بیگی، ر. ۱۳۸۸. *تولید و فرآوری گیاهان دارویی*، جلد اول، مشهد: انتشارات آستان قدس رضوی.

امیدبیگی، ر. ۱۳۸۷. *تولید و فرآوری گیاهان دارویی*، جلد سوم، مشهد: انتشارات آستان قدس رضوی.

بیگم فقیر، م. ۱۳۸۴. *گیاهان آرایشی بهداشتی*، گیلان: انتشارات دانشگاه گیلان.

رجحان، م. ۱۳۷۷. *درمان بوسیله گیاهان دارویی*، تهران: انتشارات مرکز فرهنگی آبا.

هی، ر و واترمن، پ. ۱۳۷۹. *گیاهان اسانس دار*، تهران: نشر اندرز.

Andreas, A. R., Lazaro, J. J., Chueca, A., Hermoso, R. and Lopez Gorge, J. 1990. Effect of alcohols on the association of photosynthetic FBPase to thylakoid membrances. *Physiology Plant*., 78: 409-413.

Heins, R. 1980. Inhibition of ethylene synthesis is and senescence incarnation by ethanol. *Journal of American Society Horticulture. Science*., 105: 141-144.

Morales, J. P. and Santos, B.M. 1997. Effects of different ethanol concentration on the initial growth of lettuce (Lactuca sativa). *Proceeding of the Caribbean Food Crop Society*., 33: 442-447.

Archive of SID

www.SID.ir

Nonomura, A. and Benson, A. 1992. The path of carbon photosynthesis improved crop yields with methanol. *Proceeding National Academic Science USA*., 15: 9794-9798.

Archive of SID

www.SID.ir