

ارزیابی کمی و کیفی برخی متابولیت‌های اولیه و ثانویه گیاه دارویی برازمبل (*Proveskia abrotanoides* Karel.) در مراحل فنولوژیکی مختلف

سمیه صباغ^۱، مریم نیاکان^{۱*}، ابراهیم غلامعلی پور علمداری^۲

^۱گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

^۲گروه تولیدات گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۱۳

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۱۵

چکیده

به منظور بررسی کمی و کیفی برخی متابولیت‌های اولیه و ثانویه گیاه دارویی برازمبل در مراحل فنولوژیکی مختلف اندام‌های گیاه در دو مرحله رویشی و گل‌دهی از منطقه روستای وامنان واقع در شهرستان آزادشهر جمع‌آوری و خشک گردید. در این تحقیق از عصاره از کل گیاه برازمبل در دو مرحله رویشی و گلدهی جهت شناسایی و ارزیابی کیفی تانن‌ها، ساپونین‌ها، ترکیبات آنتوسیانینی و ترپنوئیدی، فلاون‌ها و فلاونوئیدها استفاده شد. همچنین میزان برخی متابولیت‌های اولیه نظیر کربوهیدرات‌های محلول نا محلول، پرولین و فنل کل در اندام‌های ریشه، ساقه، برگ و گل مورد ارزیابی کمی قرار گرفت. آنالیز کیفی کل گیاه برازمبل نشان داد در دو مرحله رویشی و گلدهی حضور ترکیبات ساپونینی و آنتوسیانینی و تانن‌ها مثبت بود در حالی که وجود فلاون‌ها تنها در مرحله رویشی و ترپنوئیدها، فلاونوئیدها تنها در مرحله گلدهی مشاهده شد. آنالیز کمی نیز بالاترین نشاسته را در مرحله رویشی در ریشه و بیشترین کربوهیدرات‌های محلول و پرولین و ترکیبات فنلی را در برگ نشان داد. در مرحله گلدهی نیز میزان نشاسته کربوهیدرات‌های محلول پرولین و فنل کل بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد در مرحله رویشی صرف‌نظر از نشاسته برگ‌ها حاوی بیشترین فندهای محلول، پرولین و ترکیبات فنلی و در مرحله زایشی نیز ریشه از بیشترین ترکیبات یاد شده برخوردار بودند.

واژه‌های کلیدی: آنالیز کمی و کیفی، پرولین، ترپنوئیدها، ترکیبات فنلی، مراحل رشد، کربوهیدرات‌ها، مراحل

Proveskia abrotanoides رشد،

مقدمه

گیاه شناسان شناسایی شده است (Zargari, 2000). در ایران دارای سه گونه از جنس *Perovskia* یافت می‌شود که گونه *P. abrotanoides* از بیش‌ترین پراکنش برخوردار است (Mozafarian, 1998). گیاهانی عموماً علفی یکساله یا پایا و دارای ساقه‌های راست یا خزننده اند (Mahmoudi, 2007). گونه *P. abrotanoides* Karel اغلب به صورت خودرو در حاشیه جاده‌های نیمه استپی کوهستانی اقلیم سرد و

گیاه دارویی برازمبل (*Perovskia abrotanoides*)، متعلق به تیره نعناع (Lamiaceae) بوده که در مناطق شمال، شمال شرق، شرق و مرکز ایران رویش می‌یابد. تیره نعناع به لحاظ داشتن صفات اختصاصات مهم دارویی و غذایی جزء اولین تیره‌هایی است که توسط

*نویسنده مسئول: mnniakan@gmail.com

همچنین بر اساس گزارشات موجود متابولیت‌های اولیه گیاهان نیز مانند متابولیت‌های ثانویه دستخوش مراحل فنولوژیکی و به تبع تغییرات محیطی می‌گردند. به‌عنوان مثال با افزایش سن و آغاز فاز پیری اسید آمینه پرولین در گیاه تجمع می‌یابد که از آن به‌عنوان یکی از شاخص‌های بیوشیمیایی پیری یاد می‌شود. پرولین در سلول به‌عنوان یک ماده تنظیم‌کننده اسمز عمل کرده و از آنزیم‌ها و برخی درشت مولکول‌ها در برابر عوامل نامناسب محافظت می‌کند (Hare et al., 1998). در این راستا در گل شیپوری نشان داده شد که میزان پرولین به‌طور معنی‌داری در زمان پیری برگ‌ها افزایش می‌یابد (Rabiza-Swider et al., 2004). از سوی دیگر تغییرات محیطی نظیر دمای پایین باعث القاء تغییرات متعددی در ترکیبات سلولی مانند تغییر در ترکیبات پروتئینی، پرولین و کربوهیدرات‌ها می‌شود. مولکول‌های پیک که در سیستم انتقال سیگنال نقش دارند آنزیم‌های ویژه‌ای را برای فعال کردن مسیر تولید پرولین ایجاد می‌کنند تا باعث تشکیل یا تنظیم فعالیت ترکیبات دفاعی مانند پرولین شوند (Hare et al., 1998).

مقدار ذخایر کربوهیدرات محلول در اندام‌های ذخیره‌ای نیز در طی مراحل مختلف رشد و نمو گیاه تغییرات قابل ملاحظه‌ای می‌یابد. به‌عنوان مثال پیرو تحقیقی در مورد سه گونه گندمیان نشان داد شد که مقدار ذخایر کربوهیدرات قسمت‌های هوایی گیاهان مورد مطالعه در مراحل رویشی و گلدهی بیشتر از مرحله بذردهی بود در حالی که در مرحله بذردهی میزان ذخایر کربوهیدرات محلول در ریشه بیشتر از اندام هوایی بود (Hoshman Moayed et al., 2009). انجام تحقیقات مشابه با هدف ارزیابی کمیت، کیفیت و مقایسه مواد مؤثره دارویی گیاهان در اندام‌های مختلف، زمان‌های متفاوت و تنوع رویشگاه‌ها بسیار ضروری است. این امر می‌تواند ضمن شناسایی

نیمه خشک استان گلستان در ارتفاع ۲۳۰۰ تا در استان خراسان شمالی در ارتفاع ۱۰۰۰ متری و در خاک‌های با PH خنثی تا قلیایی، بافت سبک شنی لومی تا لومی رسی رویش دارند (Mazandarani et al., 2009). این گیاه برای درمان تیفوئید، سردرد و تهوع و دندان درد، بیماری‌های قلبی عروقی فیروز کبدی و سرفه استفاده می‌کنند (Tareen et al., 2010). برخی از تاثیرات دارویی این گیاه مثل تاثیرات ضد مسومیت، ضدالتهابی و ضدپلاسمودی می‌باشد (Beikmohammadi, 2012). همچنین در طب سنتی ایران جهت تسکین دردهای روماتیسمی، کاهنده تب، ضدعفونت و ضد مالاریا به کار می‌رفت (Araizi, 2013). در تحقیقی Azarnivand و همکاران (۲۰۰۹) گزارش نمودند که گل و برگ و ساقه برازمبل دارای اسانس فراوانی است که می‌تواند در صنایع داروسازی مورد استفاده قرار گیرد. این محققان علاوه بر تعیین مقدار اسانس موجود در گیاه وجود آلكالوئیدها، تانن‌ها و فلاونوئیدها و ساپونین‌ها را به‌طور کیفی مشخص نمودند که در این بین مقدار ساپونین‌ها قابل ملاحظه بود

تحقیقات نشان داده است که مواد مؤثره در اندام‌های گیاه هیچگاه ثابت نیست و متناسب با مراحل رشد گیاه و شرایط متفاوت محیطی قابل تغییر است و بنابراین کاملاً وابسته به فاکتورهای محیطی، شرایط رویشگاهی، زمان برداشت، تنوع ژنتیکی و فنولوژی گیاه است (Dambolena et al., 2010). گزارش شده است که مراحل فنولوژی و نوع اندام تأثیر معنی‌داری بر محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه برازمبل دارد. در این راستا عنوان شد بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدان متعلق به برگ گیاهانی بود که در مرحله رشد رویشی قرار داشتند (Ebrahimii, 2014).

تهیه و به آزمایشگاه خاکشناسی جهت اندازه‌گیری برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش منتقل گردید. نتایج در جدول ۱ آورده شده است.

عملیات اجرایی آزمایش: برای نمونه‌برداری اندام‌های مختلف گیاه برازمبل (*Proveskia karel* *abrotanoides*) از منطقه روستای وامنان در دو مرحله فنولوژیکی رویشی و گل‌دهی به ترتیب در اواسط ماه‌های اردیبهشت و تیر جمع‌آوری شد. سپس در آزمایشگاه علوم علف‌های هرز دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس شناسایی شد. گیاهان جمع‌آوری شده به تفکیک اندام ریشه، ساقه و برگ در مرحله فنولوژیکی رویشی و در مرحله فنولوژیکی گل‌دهی اندام گل نیز برای آزمایش‌های کمی جدا گردیدند. ابتدا نمونه‌ها در شرایط نور غیر مستقیم نیمه پزمرده و سپس با کمک آون در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند. در انتها توسط آسیاب با مش ۸ خرد و تا قبل از استفاده در کیسه‌های پلاستیکی و دور از نور خورشید نگهداری شدند.

جدول ۱: نتایج آنالیز خاک در منطقه وامنان

عمق cm	۰-۳۰
کلاس بافت خاک	Si-C-L
هدایت الکتریکی عصاره اشباع Ec(ds/m)	۰/۶۴
اسیدیته کل اشباع PH	۸/۱۸
درصد مواد خثی شونده T.N.V	۱۵/۸
درصد کربن آلی O.C	۰/۰۶
درصد ازت کل Total N	۰/۰۰۶
فسفر قابل جذب P(ava)ppm	۱۷/۴
پتاسیم قابل جذب K(ava)ppm	۱۴۴
درصد رس Clay	۳۰
درصد لای Silt	۵۸
درصد ماسه Sand	۱۲

مهم‌ترین نیازهای بهینه اکولوژیکی، اهلی‌سازی، استخراج و شناسایی شاخص‌ترین ترکیبات ثانوی گیاه و نیز موجب دست‌یابی به بهترین کیفیت و کمیت مواد مؤثره در اندام‌ها گردد. کشور ما غنی از این گونه‌های مهم دارویی می‌باشد و با وجود بررسی‌های صورت گرفته روی گونه‌های معطر و یا دارویی کشور، هنوز زمینه‌های فراوانی جهت شناسایی گونه‌های دارویی و ترکیبات آنها وجود دارد. یکی از این گیاهان گیاه برازمبل *Perovskia abrotanoides* است که با وجود کاربردهای متعددی که این گیاه دارد مطالعات اندکی درباره ترکیبات شیمیایی و تغییرات آنها در مراحل مختلف فنولوژیکی و محیطی صورت گرفته است که ضرورت تحقیق حاضر را توجیه می‌نماید.

مواد و روش‌ها

مشخصات جغرافیایی محل نمونه برداری: روستای وامنان یکی از روستاهای بخش چشمه ساران از توابع شهرستان آزادشهر واقع در استان گلستان می‌باشد. از نظر موقعیت جغرافیایی در مختصات ۳۷ دقیقه و یک درجه عرض شمالی و ۵۵ دقیقه و ۳۳ درجه طول شرقی و در ارتفاع ۱۴۵۰ متر از سطح دریا قرار دارد. طبق گزارش اداره کل هواشناسی استان گلستان بیشترین بارندگی در سال ۱۳۹۴ در منطقه وامنان ۲۷ میلی‌متر در دی ماه و کمترین میزان بارندگی ۱ میلی‌متر در مرداد ماه و مجموع میزان بارندگی ۳۲۵/۴ میلی‌متر بوده است.

نمونه‌برداری و نتایج آنالیز خاک: شش نمونه خاک از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری از پای بوته‌های گیاه برازمبل به‌وسیله اوگر به‌طور تصادفی برداشت شد، طوری که هر نمونه تقریباً حاوی ۳ کیلوگرم بود. سپس خاک هر شش نمونه با هم به‌خوبی مخلوط گردید. از نمونه مرکب حاصل، یک نمونه ۴ کیلوگی

سنجش کیفی متابولیت‌های ثانویه: برای تهیه عصاره از کل گیاه برازمبل در دو مرحله رویشی و گلدهی، ابتدا گیاهان آسیاب و پودر شد. سپس عصاره اولیه ۵ درصد وزنی- حجمی تهیه شد. بدین ترتیب که ۵ گرم پودر نمونه انتخابی از هر قسمت یعنی ریشه، ساقه، برگ، گل (در مرحله گلدهی) به‌طور جداگانه در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال مورد نظر آب مقطر یا اتانول بر اساس ماده موثره تهیه شد سپس روی دستگاه لرزاننده به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد و پس از آن به وسیله کاغذ صافی فیلتر شد (Machado, 2007). از محلول حاصل به منظور آزمایشات استفاده شد.

تانن‌ها: برای شناسایی تانن‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر عصاره آبی حاصل از سوسپانسیون ۱۰ درصد نمونه گونه‌های گیاهی برداشته، به آن چند قطره از محلول یک درصد فریک کلراید (FeCl₃) اضافه شد. مشاهده رنگ آبی مایل به سیاه و یا قهوه‌ای- سبز، بیانگر حضور آللوکمیکال تانن‌ها بود (Trease and Evans, 1972).

ساپونین‌ها: برای مشاهده ساپونین‌ها نیز ۱۰ میلی‌لیتر عصاره آبی نمونه‌ها را برداشته، به آن چند قطره آب یونیزه شده افزوده و در دستگاه سانتیفریوژ با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ ثانیه قرار داده شد. کف دائمی برای مدت ۱۵ دقیقه بیانگر حضور آللوکمیکال ساپونین‌ها می‌باشد (Trease and Evans, 1972).

آنتوسیانین‌ها: برای تشخیص آنتوسیانین‌ها، حضور رنگ قرمز و تغییر رنگ با تغییرات pH با اضافه کردن اسیدکلریدریک یک درصد به عصاره آبی حاصل از سوسپانسیون ۱۰ درصد گونه‌های گیاهی، بیانگر حضور آنتوسیانین‌ها است (Trease and Evans, 1972).

ترپنوئیدها: شناسایی ترپنوئیدها با استفاده از روش سالکوسکی انجام گرفت. بدین ترتیب که پنج میلی‌لیتر از عصاره اتانولی حاصل از سوسپانسیون ۱۰ درصد نمونه گیاهی را با دو میلی‌لیتر کلروفرم مخلوط کرده و سه میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ (H₂SO₄) به مخلوط قبلی اضافه شد. محلول دارای دو فاز کف مانند و مایع در زیر آن است. وجود رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز نشان دهنده حضور ترپنوئیدها خواهد بود (Trease and Evans, 1972).

فلاوون‌ها و فلاونوئیدها: برای شناسایی متابولیت ثانویه فلاوون‌ها و فلاونوئیدها نیز یک میلی‌لیتر از عصاره اتانولی نمونه گیاهی را برداشته، به آن چند قطره اسیدکلریدریک غلیظ و مقداری براده منیزیم اضافه می‌شود. پیدایش رنگ صورتی نشان‌دهنده حضور فلاونوئیدها و رنگ نارنجی نشان‌دهنده حضور فلاوون‌ها است (Trease and Evans, 1972).

اندازه‌گیری کمی برخی متابولیت‌های اولیه و ثانویه
اندازه‌گیری محتوای کربوهیدرات کل: ابتدا ۰/۱ گرم از نمونه پودر اندام خشک برازمبل برداشته شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به آن اضافه شد و به مدت یک هفته در یخچال قرار داده تا قندهای محلول آن جدا شود. پس از یک هفته، از محلول رویی نمونه‌ها یک میلی‌لیتر برداشته شد و با کمک آب مقطر به حجم دو میلی‌لیتر رسانده شد. پس از اضافه کردن یک میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ، میزان جذب به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر با مدل Biochrom libera- S22 در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد. میزان قندهای محلول نمونه با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گلوکز محاسبه شد (Kochert, 1978).

داغ ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده و مخلوط حاصل با ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از آن مخلوط رویی در حمام آب جوش قرار گرفت تا غلیظ شود (حدود دو میلی‌لیتر). سپس یک میلی‌لیتر از محلول تغلیظ شده با کمک آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در مرحله بعدی مجدداً نیم میلی‌لیتر از محلول حاصل با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم سه میلی‌لیتر رسانده شد. سپس نیم میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو ۵۰ درصد به محلول حاصل اضافه گردید. بعد از سه دقیقه، دو میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد به آن افزوده و محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. پس از سرد شدن جذب نمونه به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر با مدل BiochromLibera- S22 در نقطه جذب ۶۵۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت، با توجه به منحنی استاندارد گالیک اسید، میزان فنل کل نمونه بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن نمونه خشک محاسبه گردید (Malick and Singh, 1980).

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، ابتدا نرمال بودن داده‌ها مورد بررسی و داده‌های غیر نرمال، توسط نرم افزار Minitab با نسخه ۱۴ نرمال گردید. سپس داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS با نسخه ۹/۱ مورد تجزیه واریانس قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها و رسم نمودارها به ترتیب با کمک آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد و نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج

شناسایی کیفی برخی از متابولیت‌های ثانویه در دو مرحله رویش و گلدهی: نتیجه آزمایشات کیفی گیاه برازمل در دو مرحله رویشی و گلدهی نشان داد که در مرحله رویشی حضور ترکیبات ساپونین، فلاون، تانن و آنتوسیانین و در مرحله گل‌دهی وجود ساپونین، ترپنوئیدها، فلاونیدها، تانن و آنتوسیانین مثبت بود (جدول ۱).

اندازه‌گیری محتوی نشاسته با استفاده از معرف آنترون: ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول داغ ۸۰ مخلوط گردید. سپس به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در فاز رسوب حاصل ۱۵ میلی‌لیتر معرف A (۴ میلی‌گرم کربنات سدیم + ۸ گرم سود + ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر) اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. دو فاز مایع و جامد قابل مشاهده بود که برای اندازه‌گیری نشاسته از فاز جامد استفاده شد. به فاز رسوب حاصل، ۶/۵ میلی‌لیتر ۵۲ درصد PCA (Perchloric acid) و ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه می‌شود. مخلوط حاصل در دمای صفر درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره را برداشته و با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده می‌شود. سپس ۴ میلی‌لیتر معرف آنترون (dissolve 200 mg anthrone in 100 ml of ice-cold 95% sulphuric acid) اضافه شد و در نهایت توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در نقطه جذب ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. سپس میزان نشاسته در نمونه مورد بررسی با استفاده از نمودار استاندارد، برآورد گردید (Thayumanavan and Sadasivam, 1984).

اندازه‌گیری محتوای پرولین برگ: ۵۰۰ میلی‌گرم اندام تازه گیاه برازمل با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد مخلوط و سپس مخلوط حاصل با کاغذ صافی، صاف گشت. ۲ میلی‌لیتر از مخلوط حاصل در داخل لوله آزمایش ریخته و سپس ۲ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر اسید ناین هیدرین اضافه گشت. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول حاصل افزوده و به مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه به خوبی تکان داده شد به طوری که لایه رویی زرد رنگ تولوئن نمایان گردید. سپس این لایه جدا و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در نقطه ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. میزان پرولین در نمونه مورد بررسی با استفاده از نمودار استاندارد، برآورد شد (Bates et al., 1973).

اندازه‌گیری فنل کل: بدین ترتیب که مقدار ۰/۱ گرم از پودر اندام خشک گیاه برازمل با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول

جدول ۱: آنالیز کیفی برخی از متابولیت‌های ثانویه کل گیاه برازمبل در دو مرحله فنولوژیکی رویشی و گل‌دهی

مراحل فنولوژیکی	متابولیت‌های ثانویه				
	ساپونین	ترپنوئیدها	فلاونوئیدها	فلاوون‌ها	تانن‌ها
مرحله رویشی	+	-	-	+	+
مرحله گلدهی	+	+	+	-	+

+ و - به ترتیب نشان‌دهنده حضور و عدم حضور متابولیت ثانویه

رویشی و گل‌دهی از نظر میزان نشاسته، قندهای محلول، پرولین و فنل کل در سطح احتمال یک درصد بود (جدول ۱).

تغییرات کمی ترکیبات فیتوشیمیایی اندام‌های مختلف گیاه در دو مرحله رویشی و گلدهی: تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر اختلاف معنی‌دار اندام‌های مختلف گیاه دارویی برازمبل در مراحل فنولوژیکی

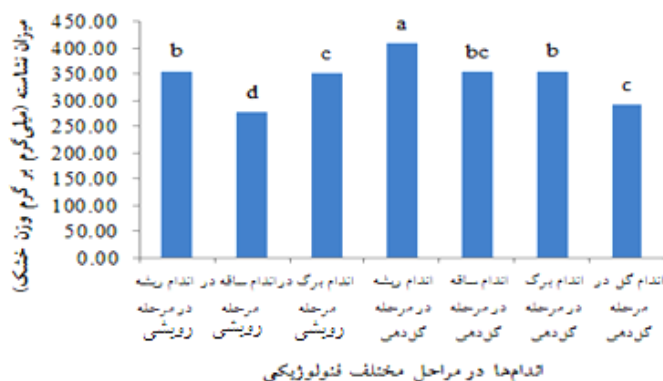
جدول ۲: تجزیه واریانس برخی ترکیبات فیتوشیمیایی اندام‌های مورد بررسی گیاه دارویی برازمبل در دو مرحله رویشی و گلدهی.

تغییرات منابع	درجه آزادی	میزان نشاسته	میزان قندهای محلول	میزان پرولین	میزان فنل کل
تیمار	۶	۵۸۴۵/۱۷**	۳۳۴/۷۷**	۲۹۴۷/۳۱**	۱۹/۱۰**
خطا	۱۴	۱۶/۶۳	۹/۴۱	۰/۷۲	۰/۰۲۱
ضریب تغییرات		۱/۱۹	۱۲/۷۹	۱/۵۴	۵/۳۱

** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

خشک) بود. اندام ساقه در مرحله فنولوژیکی رویشی (۲۷۸/۶۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) از کمترین میزان برخوردار بود (شکل ۱).

میزان نشاسته: با توجه به نتایج بدست آمده، بیشترین میزان معنی‌دار نشاسته در اندام‌های مختلف در مراحل مختلف فنولوژیکی مربوط به اندام ریشه در مرحله گل‌دهی (معادل ۴۰۷/۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن



شکل ۱: میزان نشاسته در اندام‌های مورد بررسی گیاه دارویی برازمبل (*Proveskia abrotanoides*) در مراحل مختلف فنولوژیکی (رویشی و گلدهی)

گل‌دهی تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند، لذا در یک گروه قرار گرفتند. کمترین این میزان معنی‌دار مربوط به اندام‌های ریشه و برگ در زمان رشد رویشی و ساقه در مرحله گل‌دهی به ترتیب معادل ۱۴/۲۷، ۱۳/۴۷ و ۱۶/۱۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود.

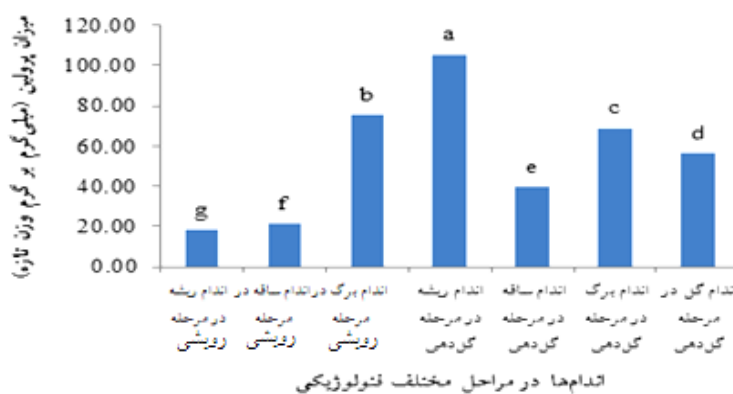
میزان قندهای محلول: همان‌طوری‌که از شکل ۲، مشاهده می‌شود بیشترین میزان معنی‌دار قندهای محلول در اندام برگ برازمبل در مرحله فنولوژیکی گل‌دهی معادل ۳۹/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بدست آمد که از لحاظ آماری با اندام ریشه در زمان



شکل ۲: میزان نشاسته در اندام‌های مورد بررسی گیاه دارویی برازمبل (*Proveskia abrotanoides*) در مراحل مختلف فنولوژیکی (رویشی و گلدهی)

معنی‌دار مربوط به اندام ریشه در مرحله گل‌دهی بود. در حالی که کمترین این میزان به اندام ریشه در مرحله رویشی اختصاص یافت.

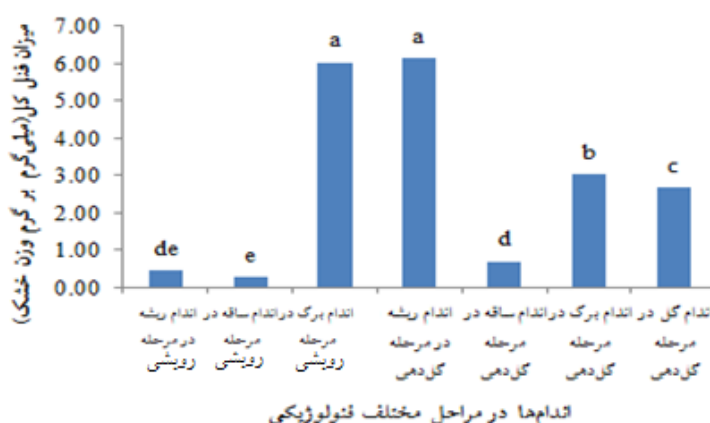
میزان پرولین: براساس شکل ۳، میزان تغییرات پرولین در اندام‌های مختلف گیاه برازمبل در دو مرحله فنولوژیکی رویشی و گل‌دهی در دامنه‌ای بین ۱۰۵/۵۲ تا ۱۸/۳۴ میلی‌گرم بر گرم تازه بود. بیشترین میزان



شکل ۳: میزان پرولین در اندام‌های مورد بررسی گیاه دارویی برازمبل (*Proveskia abrotanoides*) در مراحل مختلف فنولوژیکی (رویشی و گلدهی)

رویشی اختلاف معنی داری را نشان ندادند لذا از لحاظ آماری در یک گروه یکسانی قرار گرفتند. این مطالعه هم چنین نشان داد که دو اندام ریشه و ساقه در مرحله رویشی از کمترین میزان معنی دار ترکیبات فنلی برخوردار بودند (شکل ۴).

میزان فنل کل: مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که اندام‌های مختلف گیاه دارویی برازمبل در مراحل مختلف فنولوژیکی از لحاظ میزان ترکیبات فنلی متفاوت می‌باشند. بیشترین میزان این ترکیبات مربوط به اندام ریشه در مرحله فنولوژیکی گل‌دهی بود که از لحاظ آماری با اندام برگ در مرحله فنولوژیکی



شکل ۴: میزان فنل کل در اندام‌های مورد بررسی گیاه دارویی برازمبل (*Proveskia abrotanoides*) در مراحل مختلف فنولوژیکی (رویشی و گلدهی)

بیماری جلوگیری کنند (Hostettman and 1991) Marston, با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد ساپونین موجود در مراحل رویشی و گلدهی باعث می‌شود که گیاه برازمبل در برابر عوامل بیماریزا مقاوم گردد. نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر نشان داد که در مرحله رویشی وجود ترپنوئیدها منفی اما در مرحله گلدهی این حضور این ترکیب مثبت بود. Cetin و همکاران در سال ۲۰۰۷ نیز در تحقیقات خود به وجود ترپن‌ها، پلی فنل‌ها و ترکیبات فلاونوئیدی گیاهان برازمبل، اوکالیپتوس، اویشن اشاره نمودند که دارای اثر ضدالتهابی و ضدویروسی می‌باشد. در تحقیقی دیگر obame و همکاران ۲۰۰۸ نشان دادند که مصرف اسانس گیاه برازمبل در سستشوی زخم، دفع کرم‌های حلقوی، انگل‌های پوستی و ضد قارچ موثر است که این عملکرد را به

بحث
بررسی تغییرات کیفی متابولیت‌های ثانویه در اندام‌های مختلف در دو مرحله رویشی و گلدهی: در این تحقیق نتایج آزمایشات کیفی نشان داد که در عصاره کل گیاه برازمبل ساپونین‌ها در هر دو مرحله رویشی و گلدهی حضور دارند. حضور آلکالوئیدها، تانن‌ها، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها نیز توسط Azarnivand و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه برازمبل تأیید شد که در این تحقیق نیز مقدار ساپونین‌ها در گیاه دارویی برازمبل قابل ملاحظه بود. تحقیقات نشان داده است گروه ساپونین‌های تری‌ترپنی و استروئیدی دارای فعالیت ضد میکروبی می‌باشند، زیرا به محض آلودگی گیاه و خرابی بافت آنزیم ویژه‌ای رها می‌شوند، در نتیجه ساپونین‌ها می‌توانند یک حالت دفاعی علیه حمله میکروبی ایجاد کنند و از گسترش

توسط حشرات، حیوانات و پرندگان ضروری است (Hughes, 2011).

بررسی تغییرات کمی متابولیت‌های اولیه و ثانویه در اندام‌های مختلف در مرحله رویشی و گلدهی:

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان فنل کل در مرحله رویشی در برگ و در مرحله گل‌دهی در ریشه بیش‌ترین مقدار را به خود اختصاص داد. Hirt و Shinozaki (2004) بیان نمودند انباشتگی ترکیبات فنلی نوعی پاسخ دفاعی در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی است. قابل ذکر است که ریشه‌های بسیاری از گیاهان تحت تنش ترکیبات فنولیک تولید می‌کنند (Winkel-shirley, 2006). افزایش در میزان ترکیبات فنلی می‌تواند اثراتی در ظاهر گیاه را به دنبال داشته باشد از جمله افزایش در تولید لیگنین که باعث استقامت دیواره گیاه و ایجاد مانع فیزیکی در برابر ورود و نفوذ فلزات سنگین می‌شود (Liu et al., 2015). همچنین در گزارشی اعلام شد در مرحله گلدهی با افزایش حساسیت‌های گیاه نسبت به شرایط اقلیمی بر میزان مواد موثره ثانوی از جمله فنل‌ها افزوده می‌شود (Sardashti et al., 2013). نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان داد که میزان نشاسته در ریشه گیاه برازمل در دو مرحله رویشی و گل‌دهی بیش‌تر از سایر اندام‌های گیاه بود. همچنین طبق نتایج بدست آمده در کل اندام گیاه برازمل در مرحله گلدهی میزان نشاسته بیشتر از مرحله رویشی بود. بر اساس نتایج Makari و همکاران (۲۰۱۶) میزان نشاسته در اندام‌های ساقه، برگ و گل‌آذین گیاه ریواس و مخلوطی از آنها متغیر بود. این تیم تحقیقاتی علت افزایش نشاسته در ریشه گیاه ریواس در دو مرحله رویشی و زایشی را به مصرف این پلی ساکارید ذخیره ای در اندام هوایی بواسطه بالا بودن متابولیسم و مصرف کربوهیدرات‌ها در مقایسه با ریشه نسبت دادند. طبق داده‌های بدست آمده در این تحقیق

ترپن‌های اسانس و همچنین ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی عصاره سرشاخه‌های گلدار گیاه نسبت دادند.

طبق اطلاعات حاصل از بررسی ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه برازمل حضور فلاونوئیدها در مرحله گل‌دهی مثبت بود در صورتیکه در مرحله رویشی این ترکیبات در گیاه مشاهده نشد. فلاون‌ها از مهمترین مشتقات فلاونوئیدها می‌باشند که نقش ویژه‌ای در گیاهان برای حفاظت در مقابل نور ماورای بنفش، برهمکنش درون گونه‌ای دفاع و استحکام گیاه دارند (Prabhat 2007) همچنین ترکیباتی هستند که مسئول ایجاد رنگ در گل‌ها و میوه‌ها می‌باشند. فلاونوئیدها به‌عنوان یک متابولیت ثانویه در گیاهان، با دارا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی در صنایع دارویی و غذایی مورد توجه هستند (Khalili and Ebrahimzadeh, 2015). در این راستا اعلام شده است مهمترین اثر بیولوژیکی آن‌ها شامل خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب، مقوی، آنتی‌پاتوژن، ضد قارچ و ضد ویروسی می‌باشد (Cetin et al., 2007). با توجه به بررسی‌های انجام شده، می‌توان یکی از دلایل وجود فلاونوئیدها در مرحله گلدهی در گیاه برازمل را علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی ایجاد رنگ در گلها دانست.

نتایج بررسی در این آزمایش نشان داد که وجود تانن و آنتوسیانین‌ها در گیاه برازمل در هر دو فاز رویشی و گل‌دهی مثبت بود. عنوان شده است وجود آنتوسیانین‌ها در برگ‌های جوان برخی گونه‌ها برای جلوگیری از حمله بعضی حشرات است، زیرا چنین برگ‌های جوان و لطیفی بهتر می‌توانند توسط برخی آفات خورده شوند. رنگدانه‌هایی مانند آنتوسیانین‌ها نقش بسیار مهمی نیز در اندام‌های زایشی گیاهان و به ویژه رنگ گلبرگ‌ها و کاسبرگ‌ها دارند که برای اهداف گرده‌افشانی، تشکیل میوه و پخش میوه و بذر

پرولین جلوگیری می‌کنند، در حالی که تسریع کننده‌های پیری تجمع پرولین را در گیاهان افزایش می‌دهند (Yakimova et al., 1997). با توجه به این مطلب افزایش میزان پرولین در کل گیاه در مرحله زایشی را می‌توان به شروع فاز پیری در این مرحله نسبت داد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان فنل کل در مرحله رویشی در برگ و در مرحله گل‌دهی در ریشه بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد.

Hirt و Shinozaki (2004) بیان نمودند انباشتگی ترکیبات فنلی نوعی پاسخ دفاعی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی است. قابل ذکر است که ریشه‌های بسیاری از گیاهان تحت تنش ترکیبات فنولیک تولید می‌کنند (Winkel-shirley, 2002). افزایش در میزان ترکیبات فنلی می‌تواند اثراتی در ظاهر گیاه را به دنبال داشته باشد از جمله افزایش در تولید لیگنین که باعث استقامت دیواره گیاه و ایجاد مانع فیزیکی در برابر ورود و نفوذ فلزات سنگین می‌شود (Liu et al., 2015). فنل‌ها بزرگترین گروه از متابولیت‌های ثانویه هستند که به‌عنوان ضد آلرژی، ضد التهاب، ضد میکروب، ضد باکتریال، ضد ویروسی و آنتی‌اکسیدانی مطرح هستند (Soobrattee et al., 2005). Pedrol و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند تولید ترکیبات فنلی در گیاهان بخشی از دفاع شیمیایی گیاه است که تحت کنترل عوامل محیطی و ژنتیکی قرار دارد. برای مثال هجوم علف خواران و حشرات به طور معمول سنتز ترکیبات فنلی را توسط گیاهان افزایش می‌دهد (Manieval et al., 2001). Zhang همکاران (۲۰۰۹) گزارش نمودند که در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. در این راستا گزارش شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی

میزان کربوهیدرات‌های محلول موجود در مرحله رویشی در برگ بیش‌ترین و در اندام ریشه و ساقه کم‌ترین مقدار را دارا بود. همچنین در مرحله گل‌دهی ریشه از بالاترین و ساقه از کمترین میزان برخوردار بود.

Mohammadi در سال ۲۰۰۰ مقدار ذخایر کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی گونه *Agropyron trichophorum* در مراحل رویشی در ساقه را بیش از ریشه گزارش نمود. کربوهیدرات‌ها یکی از ذخایر غذایی مهم برای گیاه است و برای رشد و ادامه حیات گیاه به این ذخایر غذایی لازم دارند. مقدار ذخایر کربوهیدرات محلول در اندام‌های ذخیره‌ای سه گونه گندمیان به طور معنی‌داری متفاوت بود به نحوی که مقدار ذخایر کربوهیدراتی قسمت‌های هوایی گیاهان مورد مطالعه در مراحل رویشی و گلدهی بیشتر از مرحله بذردهی و در مرحله بذردهی میزان ذخایر کربوهیدرات‌های محلول در ریشه بیشتر از اندام هوایی بود (Hoshman Moayed et al., 2009). وجود کربوهیدرات‌ها برای باز شدن گل‌ها لازم است. این ماده سبب جذب بیشتر آب می‌شود، که با جذب آب، تورژسانس سلول و شادابی گلبرگ‌ها زیاد شده و در نهایت قطر گل‌ها افزایش می‌یابد (Ohkawa et al., 1999). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که از بین اندام‌های مختلف گیاه براز مبل در مرحله رویشی، اندام برگ بیش‌ترین و ریشه کم‌ترین میزان پرولین را به خود اختصاص دادند. در حالی که بیش‌ترین و کم‌ترین میزان پرولین در مرحله گل‌دهی به ترتیب مربوط به اندام ریشه و ساقه بود. نتایج به دست آمده نشان داد که گیاه در مرحله زایشی بیش‌ترین مقدار پرولین را در خود داشت. عده‌ای از محققان علت افزایش پرولین را نتیجه تخریب پروتئین ذکر کردند (Taher, 1988). گزارش شده است عواملی که باعث به تاخیر انداختن پیری در گیاهان می‌شود از تجمع

- proline for water stress studies. *Plant Soil*. 39: 205-207
- Beik Mohammadi, M (2012)**. The evolution of medicinal properties of *Provschia abrotanoides* karel. *Middle East Journal of Scientific Research*. 11:189-193.
- Cetin, H., Erler, F. and Yanikoglu, A. (2007)**. Comparative evaluation of *Origanum onites* essential oil and its four major components as larvicides against the pine processionary moth, *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams. *Pest Management Science*. 63(8): 830-833.
- Dambolena, J.S., Zunino, M.P., Lucini, E.I., Olmedo, R., Banchio, E., Bima, P.J. and Zygadlo, J.A. (2010)**. Total phenolic content, radical scavenging properties and essential oil composition of *Origanum* species from different populations. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 58: 1115-1120.
- Ebrahimi, R. (2014)**. Evaluation of antioxidant activity of essential oil and extract of all parts of the plant of *provskia abrotanoides* at different stages of development and evaluation of the antioxidant properties of the strongest essential oil and extract Living Cells Abstract MSc Thesis, Ferdowsi University of Mashhad.
- Golluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M. and Adiguzel A. and Ozken, H. (2007)**. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanolextract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chemistry*. 103: 1449-1456
- Hare P.D., Cress W.A. and Van Staden J. (1998)**. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, Cell and Environment*. 21: 535-553
- Hedge, J.E. and Hofreiter, B.T. (1962)**. In: *Carbohydrate Chemistry* 17(Eds Whistle RL and Be Miller, JN) Academic Press, New York.
- Hirt, H. and Shinozaki, K. (2004)**. Plant responses to abiotic stress topics in current genetics. Springer berlin/New York.
- ترکیبات فنلی عمدتاً مربوط به ویژگی احیا کنندگی است که به‌عنوان احیا کننده سبب غیرفعال شدن رادیکال‌های آزاد یا ممانعت از تجزیه هیدروپراکسیدها به رادیکال آزاد می‌شوند (Golluce et al. 2007)
- نتیجه‌گیری نهایی**
- آنالیز کیفی عصاره کل گیاه برازمل در دو مرحله رویشی و گلدهی نشان از حضور ترکیبات ساپونینی، آنتوسیانینی و تانن‌ها داشت در حالی که وجود فلاون‌ها تنها در مرحله رویشی مشخص شد. ترکیبات ترپنوئیدی و فلاونوئیدی نیز تنها در مرحله گلدهی مشاهده گشت. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش سن گیاه برازمل در مراحل اولیه رشد تا گلدهی گیاه، اسمولیت‌های سازشی نظیر پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و نیز فنل کل افزایش یافت که میزان انباشت این ترکیبات در اندام‌های مختلف متفاوت بود. در مرحله رویشی عمدتاً برگ‌ها و در مرحله گلدهی نیز عمدتاً ریشه بیشترین مقدار ترکیبات نامبرده را به خود اختصاص دادند.

References

- Araizi, A., Rahimi Nejad, M. and Saidi, H. (2013)**. Master's Thesis, An Analysis of the Description and Morphology of *Provschia Karel* Species in Iran, Isfahan University, Faculty of Science, Department of Biology .
- Azarnivand, H., Ghavam Arabani, M., Whiteen, F. and Tavili, A. (2009)**. Investigating the effect of ecological characteristics (soil and altitude) on the quantity and quality of essential oils of *Achillea mille folium* L. subsp. *Folium*. *Journal of Iranian Herbs and Flowers Research*. 4: 571-556.
- Bates, L.S., Walderen, R.D. and Taere, I.D. (1973)**. Rapid determination of free

- Hoshmand Moayed, S., Mesdaghi, M. and Sadeghipour, H.R. (2009).** The trend of changes in soluble carbohydrates during growth of three species of wheat in National park of Golestan. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources of Gorgan*. 16(3): 193-201.
- Hostettman, K.A. and Marston, A. (1991).** Saponins .Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K
- Hughes, N.M. (2011).** Winter leaf reddening in evergreen species. *New Phytology*. 190: 573-581.
- Khalili, M. and Ebrahimzadeh. MA. (2015).** A review on antioxidants and some of their common evaluation methods. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 24(120): 188-208.
- Kochert, G. (1978).** Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. In: Helebust, J.A., Craigie. S(Ed): Hand book of physiological methods. Pp: 96-97 Cambridge University Press, Cambridge.
- Liu, Q., Zheng, L., He, F., Zhao, F.G., Shen, Z. and Zheng, L. (2015).** Transcriptional and physiological analyses identify a regulatory role for hydrogen peroxide in the lignin biosynthesis of copper-stressed rice roots. *Plant and Soil*. 6(3): 22-30.
- Machado, S. (2007).** Allelopathic potential of various plant species on downy brome. *Journal of Agronomy*. 99: 127-132.
- Malick, C.P. and Singh, B.M. (1980).** In plant enzymology and histo enzymology. Kalyani Publishers, New Dehli.
- Makari, F., Gholamalipour Alamdari, A. and Beat Kohsar, J. (2016).** Phytotoxicity analysis of different organs of Rheum ribes at flowering stage Case study: Highlands of the Charizak village from the functions of the city of Kashmar. *Journal of Plant Environmental Physiology*. 11(42): 25-36.
- Manieval, S., Thierry, D. and Christiane, G. (2001).** Relationship between biomass and phenolic in grain Sorghum grown under different conditions .*Agronomy Journal*. 93: 49-54.
- Mazandarani, M., Bikmohammadi, M. and Bayat, E. (2009).** Ethnofarmacology and study of the most important secondary materials of *Perovskia abrotanoides* Karel in natural habitats of Golestan and North Khorasan provinces. *Quarterly journal of Plant Science*. 4(4): 69-77.
- Mahmoudi, M.H. (2007).** Effect of nitrogen fertilizer and irrigation on the performance and metabolism of *Menthapiperita* L. peppermint medicinal herb. Thesis of MA in Agriculture, Islamic Azad University, Jiroft Branch.
- Mohamadi, A.N. (2000).** Effects of harvesting time and intensity on forage production of soluble carbohydrates in Species *Agropyron trichophorum*. Master thesis, College of Natural Resources, Technical University of Esfahan.
- Mozafarian, V.A (1998).** Culture of Plants Name of Iran. Contemporary Culture. 432-435.
- Obame, L., Edou, P., Bassole, H.N. and Traone, A.S. (2008).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial essential oil of *Dracryodes edulis* from Gabon .*African Journal of Microbiology*. 2: 148-152.
- Ohkawa, K., Kasahara, Y. and Suh, J.N. (1999).** Mobility and effects on vase life of silver-containing compounds in cut rose flowers. *Horticultural Science*. 34: 112-113.
- Pedrol, N., Gonzalez, L., and Reigosa, M.L. (2006)** Allelopathy and abiotic stress, a physiological process with Ecological Implications. Netherlands: 171-209.
- Prabhat, K. (2007).** Metabolic engineering of yeast for the production of plant secondary metabolites. *Research Exercise Summary*. 4: 27-39.
- Rabiza-Swider, J., Lukaszewska, A., Shutnik, E. and Leszko, M. (2004).** Ammonium and proline accumulation in senescing cut leaves of *Zantedeschia*, *Physiologia Planrum*. 26: 417-422.
- Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., luximon Ramma, A., Aruomab, O.I. and Bohoruna T. (2005).** Phenolic as

- potential antioxidant therapeutical agents: Mechanism and Actions Mutation Research. 579: 200-213.
- Sardashti, A.R., Valizadeh, J. and Adhami, Y. (2013)** Variation in the essential oil composition of *Perovskia abrotanoides* of different growth stage in Baluchestan. Middle East Journal of Scientific Research. (6): 781-4.
- Taher, A. (1988)**. Physiologia and lipid change in some upland rice (*Oryza sativa* L.) cultivars grown under drought stress. College Laguna (Philippines).
- Tareen, R.B., Bib, T., Khan, M.A., Ahmad, M. and Zafar, M. (2010)**. Indigenous knowledge of folk medicine by the woman of kalat and khuzdar Regions of balochistan Pakistan Journal of Botany. 42: 1465-1485.
- Thayumanavan, B. and Sadasivam, S. (1984)**. Physicochemical basis for the preferential uses of certain rice varieties .Plant Foods for Human Nutrition. 34: 253-259.
- Trease, G.E., W.C. and Evans, W.C. (1972)**. Pharmacognosy, (Ed.), Baillere and Tindall, London, p: 383.
- Winkel-shirley, B. (2006)**. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Current Opinion in Plant Biology. 2: 603-662
- Yakimova, E., Atanassova, B. and Kapchina-Toteva, V. (1997)**. Longivity and some metabolic events in postharvest spray- carnation (*D. Caryophyllus* F. spray, hort) flowers. Plant Physiology. 23: 57-65.
- Zargari, A. (2000)**. Medicinal Plants. Tehran University Press. 4:923
- Zhang, Z., Liao, L., More, J., Wu, T. and Wang, Z. (2009)**. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). Food Chemistry. 113(1): 160-165.