Archive of SID

تاثیر کود ازته بر میزان کل اسانس و مقادیر آلفا-توجون و کامازولن در افسنطین (*Artemisia absinthium* L.)

منصور غلامی و علی عزیزی[۱]

چکیده

افسنطین (*Artemisia absinthium* L.) یکی از گیاهان دارویی و معطر از خانواده گل‌مرکبیان (آستراسه) می‌باشد. در پژوهش حاضر ترکیبات تشکیل دهنده اسانس این گیاه پرورش یافته در شرایط مزرعه تجزیه و تعداد ۲۰ ماده از ترکیبات تشکیل دهنده آن شناسایی شد. اثر کود ازته بر میزان کل اسانس و مقادیر دو ماده آلفاتوجون و کامازولن از ترکیبات موجود در اسانس این گیاه مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم ازت در هکتار به شکل اوره در دو مرحله از کشت شامل مرحله انتقال نشاء به مزرعه و دو ماه بعد استفاده گردید. استخراج اسانس با روش تقطیر با آب (Clevenger) و جداسازی و اندازه‌گیری آلفا-توجون و کامازولن توسط کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) صورت گرفت. عملکرد کل پیکر رویشی و مقدار ماده خشک تولید شده گیاه در هر کرت تحت تاثیر ازت، اختلاف معنی‌داری نشان داد. با افزایش عملکرد پیکر رویشی در اثر افزایش میزان ازت (تا ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) میزان کل اسانس و ترکیبات آلفا-توجون و کامازولن در واحد سطح کشت افزایش یافت. مقادیر کود ازتی مصرف شده روی عملکرد اسانس و مقدار ترکیبات آلفا-توجون و کامازولن در واحد وزن خشک تاثیری نداشت.

واژه‌های کلیدی: افسنطین، کود ازته، آلفا-توجون، کامازولن

۱. به‌ترتیب دانشیار و مربی گروه باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

افسنطین گیاهی بوته‌ای چند ساله از خانواده گل‌مرکبیان (آستراسه) می‌باشد که به‌علت دارا بودن خواصی از جمله حشره‌کشی، اشتها آوری، زدودن کرم روده و هم‌چنین داشتن ترکیبات تلخ و معطر از قدیم‌الایام در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گرفته است (آندرسون، ۱۹۷۷؛ اسمیت و سکوی، ۱۹۸۱). در پژوهشی که واتسون و همکاران (۲۰۰۰) با استفاده از روش بررسی مولکولی روی فیلوژنی این گیاه انجام دادند مشخص شد که هم اکنون ۱۸ زیر جنس از گیاه مزبور در آسیا وجود دارد. امروزه اسانس به‌دست آمده از گیاهان وحشی افسنطین در معطر کردن برخی غذاها و نوشیدنی‌ها، در داروسازی و کشاورزی و یا به‌عنوان ضد باکتری، ضد تب، ضد باروری، ضد مالاریا و تقویت کننده قلب و عروق کاربرد دارد و هم‌چنین به‌علت وجود ترکیبات سمی در گیاه جهت تهیه حشره‌کش و کنه‌کش گیاهی نیز از آن استفاده می‌شود (ابیوردی و بنزی، ۱۹۸۴؛ کمزووا و همکاران، ۱۹۸۷؛ کائول و همکاران ۱۹۷۶؛ خاتک و همکاران، ۱۹۸۵؛ رائو و همکاران ۱۹۸۸؛ ظفر و همکاران، ۱۹۹۰؛ چیاسون و همکاران ۲۰۰۰).

از ترکیبات اصلی اسانس گیاه افسنطین، ماده‌ی توجون است که یک مونوترپن می‌باشد و در طبیعت به‌صورت دو ایزومر آلفا و بتا یافت می‌شود. این ترکیب از برخی گیاهان دیگر مثل *Thuja occidental, Tanacetum vulgar, Artemisia vulgaris* نیز به‌دست آمده است (پینتو، ۱۹۶۷). از اسانس محتوی توجون در طب گیاهی برای معالجه بیماری‌های مختلف و تقویت قوا استفاده می‌شود (آلبرت، ۱۹۷۸؛ ایشیدا و همکاران، ۱۹۸۹؛ کیم و همکاران، ۱۹۹۲؛ میلت و همکاران، ۱۹۸۱؛ وِیک و همکاران، ۲۰۰۰). تکثیر و توسعه کشت گیاه افسنطین، با استفاده از تکنیک‌های کشت درون شیشه‌ای و ریزازدیادی (نین و همکاران، ۱۹۹۶؛ نیم و همکاران، ۱۹۹۴)، تراریزش به‌وسیله باکتری آگروباکتریوم رایزوژنز[2] جهت دست‌ورزی تولید متابولیت‌های ثانویه در این گیاه و در شرایط مصنوعی، از روش‌هایی است که کاربرد زیادی پیدا کرده است. تولید مواد اسانس در اندام‌های مختلف گیاه با تفاوت‌هایی از نظر کمیت و کیفیت صورت می‌گیرد. با استفاده از روش جداسازی با GC-MS مشخص شده که اسانس تولید شده در ریشه‌های مویین از نظر کیفیت، معادل ۳۷ درصد مواد موجود در اسانس گیاه را دارا بوده است (نین و همکاران، ۱۹۹۷). یکی از اساسی‌ترین مباحث مربوط به گیاهان دارویی تعیین بهترین شرایط رشد جهت تولید مواد موثره‌ی دارویی در این گیاهان است. مهم‌ترین عوامل محیطی موثر بر کمیت و کیفیت مواد موثره در گیاهان دارویی عبارتند از نور، دما، آب، مواد غذایی مورد نیاز گیاه و ارتفاع محل رویش است. (فرانز، ۱۹۸۳؛ پالسیچ، ۱۹۸۷؛ کیم و همکاران، ۱۹۹۲). در میان ترکیبات اسانس گیاه افسنطین دو ماده آلفا-توجون و کامازولن از نظر دارویی دارای ارزش ویژه می‌باشند. رنگ اسانس ممکن است با توجه به شرایط اقلیمی محل رویش گیاه، قهوه‌ای، آبی یا سبز تیره باشد. رنگ آبی به‌خاطر وجود کامازولن (از لاکتون‌های سزکویی‌ترپن) در اسانس است. از آن‌جا که اسانس بعضی از گیاهان جنس افسنطین فاقد کامازولن است افسنطین را می‌توان بر حسب وجود یا عدم وجود کامازولن در اسانس آن طبقه‌بندی شیمیایی نمود. جدول ۱، میزان کامازولن گیاه افسنطین را در مقایسه با چند گیاه دیگر نشان می‌دهد.

ترکیبات اسانس این گیاه دارویی از نظر کمی و کیفی در شرایط *In virto*، گلخانه و مزرعه مورد پژوهش قرار گرفته است. نتایج نشان می‌دهد که محیط کشت گیاه تاثیر زیادی بر اسانس و ترکیبات تشکیل دهنده آن دارد (غلامی و همکاران، ۱۳۸۲).

2. *Agrobacterium rhizogenes*

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: مقایسه میزان کامازولن موجود در افسنطین با چند گیاه دیگر (نقل از تاکر و همکاران، ۱۹۹۳).

نام گیاه	میزان کامازولن (درصد)
Artemisia arborescens	۳۰-۴۰
Achillea millefolium	۲-۲۷
Matricaria chamomilla	۲-۱۲
Tanacetum annuum	۱-۳
Artemisia arborescens	۱-۲
Artemisia absinthium	۰-۴

در میان پژوهش‌هایی که در زمینه تاثیر ازت در کشت مزرعه‌ای گیاهان دارویی بر روی مواد موثره و عملکرد صورت گرفته، گزارش شده است که در گیاه گل راعی یا علف چای (*Hypericum perforatum* L.) افزایش میزان کود ازتی تا ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار باعث افزایش تعداد ساقه‌های گل‌دهنده و هم‌چنین میزان ماده موثره‌ی هیپرسین در پیکر گیاه گردیده است (عزیزی و امیدبیگی،۱۳۸۰). در مورد گیاه دارویی گاوزبان (*Echium amoenum*) و شاه‌بیزک (*Atropa belladonna*) افزایش میزان ازت تا ۶۰ کیلوگرم در هکتار، در مواد موثره تاثیری نداشته اما باعث بالا رفتن عملکرد تولید بذر شده است (نجف پورنوایی، ۱۳۷۹ و ۱۳۸۱). در آویشن (*Thymus vulgaris* L.) افزایش میزان ازت تا ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار باعث افزایش عملکرد ماده خشک به‌دست آمده در گیاه شد اما در میزان ماده موثره تیمول تاثیری نداشت (رضایی‌نژاد و همکاران، ۱۳۷۹). در این پژوهش علاوه بر شناسایی ترکیبات اسانس گیاه افسنطین تولید شده در شرایط مزرعه، تاثیر مصرف کود ازته بر تولید مقدار کل اسانس و خصوصاً مقدار دو ترکیب آلفا-توجون و کامازولن، مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

بذرهای مورد استفاده در این پژوهش از بذرهای تولید شده در باغ گیاهان دارویی سازمان جهاد کشاورزی همدان تهیه شد. این طرح در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا واقع در همدان انجام شد. ابتدا به‌منظور اطلاع از وضعیت خاک زمین مورد نظر، خاک مزرعه مورد مطالعه قرار گرفت و پس از اطلاع از وضعیت آن، مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار پتاس به خاک اضافه شد. این تحقیق بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. زمین مزرعه به ۱۵ کرت مساوی به ابعاد ۳×۲ متر و با مساحت ۶ مترمربع تقسیم و هر کرت به‌عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. میزان کود برای هر کرت محاسبه، توزین و به‌صورت یکنواخت به کرت‌ها اضافه گردید. فاصله کرت‌ها برای جلوگیری از نشت و تاثیر تیمار کودی بر سایر کرت‌ها یک متر در نظر گرفته شد. جهت کشت نشاها، ابتدا در هر کرت سه جوی و پشته ایجاد گردید. عرض هر پشته ۴۰ سانتی‌متر بود. با کشت بذر گیاه افسنطین در خزانه، نشای مورد نیاز تهیه شد. نشاها بعد از مرحله سه‌برگی به مزرعه انتقال داده شدند. تعداد گیاهان کاشته شده ۱۵ بوته برای هر کرت در نظر گرفته شد بدین‌صورت که روی هر پشته ۵ بوته افسنطین کشت شد. سطوح مختلف کود ازته شامل پنج سطح صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم ازت در هکتار به‌صورت اوره در دو مرحله یک بار در زمان انتقال نشا به مزرعه و بار دوم، دو ماه بعد استفاده گردید. در مهرماه گیاهان به‌طور کامل برداشت شدند و پس از جدا کردن

www.SID.ir

Archive of SID

برگ‌ها و سرشاخه‌های آن‌ها، به مدت دو هفته در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) خشک شدند. به‌منظور جلوگیری از قارچ‌زدگی و زرد شدن گیاهان، هر سه روز یک‌بار گیاهان برگردانیده شدند تا تمام رطوبت گیاه به‌صورت یکنواخت گرفته شد.

روش اسانس‌گیری و جداسازی ترکیبات

به‌منظور جداسازی اسانس از برگ گیاهان ابتدا از روش تقطیر با آب در دستگاه کلونجر (Clevenger) استفاده شد. از محصول هر کرت آزمایشی به‌صورت جداگانه اسانس‌گیری به عمل آمد و درصد اسانس آن تعیین شد. جداسازی و تجزیه ترکیبات اسانس‌های حاصله با روش گازکروماتوگرافی (GC) و روش گازکروماتوگرافی متصل شده به طیف‌سنج جرمی (GC-MS[3]) انجام شد.

تجزیه با دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)

دستگاه مورد استفاده کروموتوگراف گازی مدل GC-9A Shimadzu با دیتکتور FID (یونیزاسیون با شعله هیدروژن) و داده‌پرداز Choromatopac C-R3A، ستون DB-1 که ستونی غیر قطبی است به‌طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون بود. از برنامه حرارتی ستون دو مرحله‌ای استفاده شدکه مرحله اول از ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش دمای ۱/۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و مرحله دوم از ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش دمای ۲ درجه سانتی‌گراد در دقیقه انجام گردید.

تجزیه با دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS)

دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Varian 3400 متصل شده به دستگاه طیف‌سنج جرمی Satum II مجهز به سیستم تله‌یونی و با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود. ستون مورد استفاده مشابه ستون به‌کار برده شده در دستگاه GC بود و درجه حرارت ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش ۴ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، دمای محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ترانسفرلاین ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. شناسایی طیف‌ها به‌کمک شاخص‌های بازداری آن‌ها با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C7-C25) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها و توسط برنامه رایانه‌ای نوشته شده محاسبه گردیدند و با مقایسه آن‌ها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده و نیز با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه، ترپنوییدها در رایانه دستگاه GC/MS تایید شدند. محاسبات کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به‌کمک داده‌پرداز Choropatopa C-R3A به‌روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ مربوط به طیف‌ها انجام شد (داویس، ۱۹۹۰؛ شیباموتو و همکاران، ۱۹۸۷).

نتایج

نتایج حاصل از جداسازی و تجزیه اسانس گیاه افسنطین نشان داد که در شرایط همدان ۲۰ ماده از مجموعه‌ی ترکیبات گزارش شده برای افسنطین قابل یافته تولید است. در جدول ۲ این ترکیبات و مقدار آنها نشان داده شده است.

نتایج مربوط به تاثیر کود ازته

الف- عملکرد پیکر رویشی

تجزیه واریانس اثرات سطوح مختلف کود ازته بر عملکرد وزن خشک گیاه نشان داد که کود ازته در سطح ۱٪ و سطح احتمال ۹۹٪ بر روی میزان عملکرد گیاه افسنطین تاثیر معنی‌دار داشت (جدول ۳).

مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام شد که در نتیجه‌ی آن

3. Gass Chromatography/ Mass Spectrometry

www.SID.ir

Archive of SID

تیمارهای مختلف در ۳ گروه قرار گرفتند (جدول ۴). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بیشترین عملکرد با استفاده از تیمار ۱۵۰ کیلوگرم ازت در هکتار به‌دست آمد و به‌دنبال آن ۲۰۰ کیلوگرم ازت در هکتار بدون اختلاف معنی‌دار قرار گرفت. کم‌ترین مقدار عملکرد مربوط به تیمار شاهد (بدون کود ازته) بود که البته با تیمار ۵۰ کیلوگرم ازت در هکتار اختلاف معنی‌داری نداشت. تیمارهای ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار بالاترین میانگین را داشته و با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند، در حالی‌که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بودند. . با توجه به گروه‌بندی حاصل از آزمون دانکن، بهترین عملکرد برای تولید محصول بیشتر در کشت گیاه افسنطین، مربوط به تیمار کودی با مقدار ۱۵۰ کیلوگرم ازت در هکتار بود.

جدول ۲: ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در افسنطین

ردیف	نام ترکیب	اندیس کواتس	زمان بازداری	در صد ترکیب
۱	α-Pinene	۹۴۲	۱۰/۱۹	۱۸
۲	Sabinene	۹۷۲	۱۱/۳۱	۳
۳	Myrcene	۹۸۵	۱۲/۴۰	۱/۵
۴	Limonene	۱۰۲۱	۱۳/۲۹	۰/۵
۵	Cis-Ocirnene	۱۰۲۶	۱۳/۴۰	۰/۶
۶	α-Pincene Oxide	۱۰۷۲	۱۵/ ۲۸	۰/۳
۷	Terpinolene	۱۰۷۷	۱۵/۴۱	۰/۵
۸	β-pinene oxide	۱۰۸۹	۱۶/۷۰	۰/۳
۹	α-Thujone	۱۱۱۲	۱۷/۰۰	۶۰
۱۰	β-Thujone	۱۱۱۹	۱۷/۱۶	۵
۱۱	Borneol	۱۱۴۸	۱۸/۲۲	۰/۲
۱۲	Cis-Limonen oxid	۱۱۶۰	۱۸/۴۹	۰/۸
۱۳	Bomyl formate	۱۲۰۵	۲۰/۳۲	۰/۳
۱۴	Bomyl acetate	۱۲۶۴	۲۲/۴۱	۱/۷
۱۵	β-Cedrene	۱۴۱۰	۲۷/۴۶	۰/۶
۱۶	γ-Murolen	۱۴۷۲	۲۹/۵۰	۰/۳
۱۷	Caryophylene oxide	۱۵۷۶	۳۳/۷۰	۰/۵
۱۸	Globulol	۱۵۸۸	۳۳/۲۹	۵
۱۹	α-Cadinol	۱۶۳۹	۳۵/۲۰	۰/۳
۲۰	Chamazulene	۱۷۰۲	۳۶/۵۴	۰/۵

ب- میزان کل اسانس

درصد اسانس به‌دست آمده برای گیاهان ۱/۱ درصد وزن خشک پیکر گیاه محاسبه شد. تجزیه واریانس اثرات سطوح مختلف کود ازته بر درصد کل اسانس گیاه نشان داد که کود ازته اثرات معنی‌داری روی درصد اسانس نداشت و مقدار کل اسانس تحت تاثیر سطوح مختلف کود ازته قرار نگرفت. از طرف دیگر با توجه به اینکه عملکرد پیکر رویشی گیاه با استفاده از کود ازته افزایش پیدا کرد، میزان کل اسانس به‌دست آمده از مزرعه نیز افزایش داشت.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳: نتایج تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای کودی بر عملکرد پیکر رویشی

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F_S
تیمار کودی	۴	۲۴۴۶۸۴۳	۶۱۱۷۱۰/۷	۳۹/۷ **
بلوک	۲	۱۱۴۱۰	۵۷۰۵	۰/۳۷ ns
خطای آزمایش	۸	۱۲۳۲۰۷	۱۵۴۰۰	
کل	۱۴	۲۵۸۱۴۶۰		

جدول ۴: نتایج مقایسه میانگین اثرات تیمارهای کودی بر عملکرد گیاه افسنطین با استفاده از آزمون دانکن

مقدار ازت (Kg/ha)	عملکرد* (g)
صفر	۲۴۹۸^{c}
۵۰	۲۶۵۰^{bc}
۱۰۰	۲۸۴۶^{b}
۱۵۰	۳۵۰۸^{a}
۲۰۰	۳۴۰۱^{a}

* حروف عیر مشابه در ستون نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است.

ج- ترکیبات آلفا-توجون و کامازولن

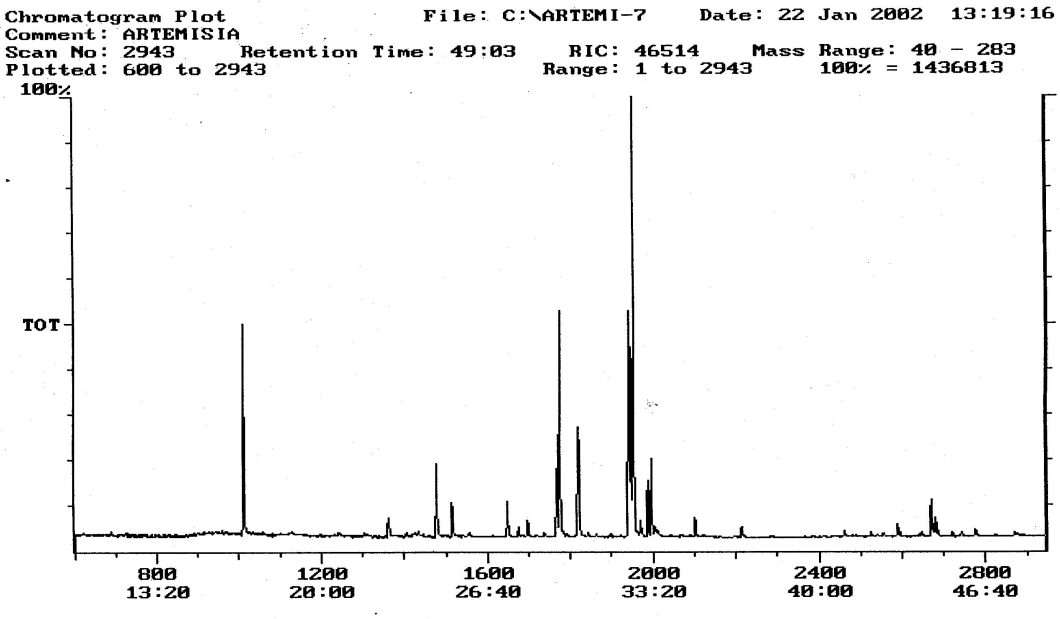
ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه افسنطین رشد یافته در شرایط همدان مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفت. این ترکیبات در شرایط مختلف رشد گیاه از نظر کمی و کیفی متفاوت بودند. در جدول ۲ ترکیبات اسانس گیاه افسنطین رشد یافته در شرایط مزرعه نشان داده شده است. این نتایج نشان می‌دهند که در شرایط همدان ۲۰ نوع ترکیب در اسانس گیاه تولید می‌شود. در این پژوهش تاکید روی مقایسه‌ی مقدار دو ماده از ترکیبات تشکیل دهنده اسانس افسنطین، یعنی آلفا-توجون و کامازولن بود. لذا در میان ترکیبات موجود در اسانس افسنطین دو ماده آلفا-توجون و کامازولن مورد ارزیابی قرار گرفتند. آلفا-توجون بیشترین ماده‌ای است که در اسانس گیاه افسنطین در این آزمایش وجود داشت و کامازولن در شرایط این تحقیق به مقدار خیلی کمتری تولید شد (جدول ۲).

جدول ۵: نتایج تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای کودی بر درصد اسانس

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F_S
تیمار کودی	۴	۰/۰۷	۰/۰۱۷	۰/۸۵ ns
بلوک	۲	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۵ ns
خطای آزمایش	۸	۰/۱۶	۰/۰۲	
کل	۱۴	۰/۲۵		

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱: گاز کروماتوگرام اسانس گیاه افسنطین

آلفا-توجون در تمامی نمونه‌ها وجود داشت و زمان بازدرای[1] این ترکیب در نمونه‌ها بین ۱۸/۵۳ تا ۱۸/۷۰ دقیقه متغیر بود. درصد این ترکیب در اسانس گیاهان برداشت شده از هر یک از کرت‌ها که از مساحت زیر منحنی در کروماتوگرام به‌دست آمد، بین ۵۷ تا ۶۴ درصد کل اسانس نمونه متغیر بود. با در نظر گرفتن نتایج آنالیز توسط GC (شکل ۱) مقدار کامازولن در بعضی نمونه‌ها صفر و در برخی دیگر به‌مقدار حداکثر ۱/۰۷ درصد موجود بود (جدول ۲). زمان بازداری این ترکیب در نمونه‌ها بین ۳۸/۴۷ تا ۳۸/۵۸ دقیقه متغیر بود. درصد این ترکیب در اسانس هر یک از کرت‌ها بین ۰/۳۵ تا ۱/۰۷ درصد کل اسانس نمونه متغیر بود. تجزیه واریانس برای داده‌های مربوط به میزان آلفا-توجون و کامازولن نشان‌داد که تیمارهای ازتی تاثیری در مقدار نسبی (درصد) این ترکیبات در اسانس نداشت، به‌عبارت دیگر اختلافات مشاهده شده در درصد این دو ترکیب در کرت‌های آزمایشی معنی‌دار نبودند.

1. Retention time

بحث

در پژوهش‌هایی که به‌منظور اندازه‌گیری اسانس گیاهان وحشی و اهلی شده افسنطین انجام گردیده است، میزان اسانس را بسته به محل رویش گیاه از ۰/۲ تا ۰/۹ درصد گزارش کردند (امیدبیگی، ۱۳۷۶). در این پژوهش مقدار اسانس برای گیاهان مزرعه‌ای به‌طور میانگین ۰/۹ درصد بر مبنای وزن خشک یعنی برابر با حداکثر گزارش شده توسط سایر پژوهشگران بود. درصد اسانس به‌دست آمده از گیاهان مزرعه‌ای رشد یافته در شرایط همدان نشان می‌دهد که این گیاهان از نظر کمی دارای میزان بالایی از اسانس هستند که می‌تواند نشان دهنده‌ی شرایط طبیعی مناسب در این منطقه برای رشد گیاه افسنطین باشد.

دوک (۱۹۸۵) تعداد ۱۲ ترکیب برای اسانس گیاه افسنطین معرفی کرد که شامل فلاندرن، پینن، توجون، توجیل استات، توجیل ایزووالرات، بی‌سابولن، توجیل پالمیتات، کامفن، کادینن، نرول و کامازولن بود. در این پژوهش تعداد ۱۰ ترکیب از ۱۲ ترکیب گزارش شده توسط نامبرده به‌طور نسبی در اسانس گیاه افسنطین شناسایی شد. با توجه به نتایج تجزیه

www.SID.ir

Archive of SID

اسانس، مشخص شد که تقریباً ۷۸ درصد اسانس افسنطین شامل دو ترکیب توجون و پنین (به‌ترتیب ۶۰ و۱۸ درصد) بود که با گزارش دوک (۱۹۸۵) هماهنگی داشت. اما در مورد بقیه مواد، در مقایسه با گزارش مذکور به‌جای نرول و کادینن، مشتقات آن‌ها یعنی نریل استات و آلفا-کادینول یافت شد. این موضوع نشان دهنده این نکته است‌که شرایط اکولوژیکی منطقه‌ی رویش گیاه، می‌تواند تاثیر زیادی بر نوع ترکیبات اسانس داشته باشد.

در پژوهشی که توسط لورنس (۱۹۹۵) بر روی گیاه افسنطین انجام شده، میزان آلفا-توجون موجود در اسانس به‌دست آمده را بین ۱۷/۵ تا ۴۲/۳ درصد گزارش کرده‌اند. در پژوهش حاضر میزان آلفا-توجون به‌دست آمده از گیاهان مورد آزمایش، به‌طور میانگین ۶۰ درصد بود. این اختلاف می‌تواند به‌دلیل تفاوت احتمالی در ژنوتیپ گیاه مورد آزمایش، مناسب بودن شرایط محیطی محل آزمایش برای تولید ماده‌ی مذکور و یا دقت و شرایط خاص روش‌های عصاره‌گیری از مواد گیاهی در این آزمایش باشد.

در این پژوهش مقدار متوسط کامازولن به‌میزان ۰/۵ درصد به‌دست آمد (جدول ۲). البته میزان کامازولن در کرت‌های دارای کود ازته بین ۰/۳ تا ۰/۹ درصد متغیر بود و در اسانس بعضی کرت‌ها اساساً وجود نداشت که حاکی از عدم تاثیر معنی‌دار کود ازته در میزان تولید این ماده می‌باشد. تغییرات دامنه‌ی مقدار آلفا-توجون بین ۵۷ تا ۶۴ درصد بود که ضمن معنی‌دار نبودن تفاوت‌ها، تا حدودی می‌تواند حاکی از اثر افزاینده‌ی کود ازت‌دار در مقدار این ماده باشد. نتایج حاصل از این پژوهش به‌طور کلی نشان‌داد که افزایش میزان کود ازته در کشت مزرعه‌ای گیاه افسنطین تغییری در میزان درصد مواد موثره آلفا-توجون و کامازولن در کل اسانس ندارد اما باعث افزایش عملکرد ماده خشک گیاهی شده و به‌صورت غیر مستقیم سبب افزایش میزان ترکیبات مذکور و کل اسانس در واحد سطح می‌گردد. مقدار قابل توصیه استفاده از کود ازته ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار می‌باشد که راندمان کل محصول و در نتیجه اسانس تولید شده در گیاهان را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

امیدبیگی، ر. ۱۳۷۶. رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد اول و دوم). انتشارات طراحان نشر.

رضایی‌نژاد، ع.، امیدبیگی، ر. و خادمی، ک. ۱۳۷۹. بررسی تاثیر کود ازته و زمان برداشت در میزان اسانس و تیمول آویشن (*Thymus vulgaris* L.) مجله پژوهش کشاورزی. انتشارات دانشگاه بوعلی سینا. جلد ۲: صفحه ۲۰-۱۳.

عزیزی، م. و امیدبیگی، ر. ۱۳۸۰. بررسی اثرات مقادیر مختلف ازت و فسفر بر رشد و نمو، عملکرد و میزان ماده موثره هیپریسین در گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) مجله علوم کشاورزی. انتشارات دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران. جلد ۳۲، شماره ۴: ۷۲۵-۷۱۹.

غلامی، م.، علی عزیزی، ع. و پیری، خ. ۱۳۸۲. بررسی تفاوت‌های کمی و کیفی ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس گیاه دارویی افسنطین در شرایط مزرعه، گلخانه و کشت درون شیشه‌ای. مجموعه مقالات دومین کنگره ملی بیوتکنولوژی ایران . صفحه ۳۸۷-۳۸۳.

نجف پور نوایی، م. ۱۳۸۱. تاثیر کودهای شیمیایی نیتروژن و فسفر بر عملکرد بذر گیاه گاوزبان (*Echium amoenum*) مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۱۳: ۴۱ تا ۴۷.

نجف پور نوایی، م. ۱۳۷۹. تاثیر میزان کودهای ازته و فسفره بر بذردهی گیاه شاهبزک (*Atropa belladonna*) مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۶ :۳ تا ۱۱.

Abivardi, C. and Benzi, G. 1984. Test with the extracts of 21 medicinal plants for antifeedant activity against larvae of *Pieris brassicae* L. Bull. SOC. Entom. Suisse 57: 383-392.

Albert, P. M. 1978. Mythobotany pharmacology and chemistry of thujone containing plants and derivatives. Economic Botany 32: 65-74.

Anderson, F. J. 1977. An illustrated history of the herbals. Columbia university press.

Chemesova, I. I., Belenovskaya, L. K. and Stukov, A. N. 1987. Anti-tumor activity of flavonoids from some Artemisia species. Rastiitle'nye Resursy: 100-103

Chiasson, H., Langer, A., Bostanian, N., Vincent, C. and D. Poliquin. 2001. Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. J. Economy of Entomology 94(1): 167-171

Davis, N. W. 1990. Gas chromatoghraphic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20m phases. J. Chromatogr 503: 1-24.

Duke, J. A. 1985. CRC handbook of medicinal herbs. Boca, Raton, Florida: CRC Press, Inc.

Franz, C. 1983. Nutrient and water management for medicinal and aromatic plants. Acta Horotocultura, 188: 21-27.

Ishida, T., Toyta, M. and Asakawa, Y. 1989. Terpenoid biotransformation in mammals. metabolism of(+) – Citronellal, (±) 7-hydroxycitronellal, citral, (-)-perillaladehyde, (-) myrtenal, cuminaldehyde, thujone, and (±) carvone in rabbits . Xenoviotica 19(8): 847-855.

Kaul,V. K., Nigam, S. S. and Dhar, K. L. 1976. Antimicrobial activities of the essential oils of *Artemisia absinthium* Linn, *Artemisia vsstita* wall and *Artemisia vulgaris* Linn. Indian J. Pharmaco l.1: 21-22.

Khattak, S. G., Gilani, S. N. and Ikram, M. 1985. Antipyretic studies on some indigenous Pakistani medicinal plants, J. Ethnopharmacol 1: 45-51.

Kim , J. O., Kim, Y. S., Lee, J. H., Kim, M. N., Rhee, S. H., Moon, S. H., Moon, S.H. and Park, K.Y. 1992. Antimutagenic effect of the major volatile compounds identified from mugwort. (*Artemisia asiatica* Nakai) Leaves. Food Nutr. 21(3): 308-313.

Lawrence, B. M. ed. 1995. Natural flavor and fragrance materials perfumer and flavorist essential oils.1992-1994, Carol stream. II Allured publishing corporation PP.11-14.

www.SID.ir

Archive of SID

Millet, Y., Jouglard, J., Steinmetz, M. D., Tognetti, P., Jonny, P. and Arditti, J. 1981. Toxicity of some essential plant oils. Clinical and experimental Study clinical Toxicology. 8(12): 1485-1498.

Nin, S., Mossy, E. and Schiff Bennici, A. 1996. Callus cultures of *Artemisia absinthium* Limitation, growth optimization and organogenesis. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 45:67-72.

Nim, S., Schiffs Bennici, A. and Magherini, R. 1994. In Vitro Propagation of *Artemisia absinthium* L. Adv. Hort. Sci. 8:145-147.

Nin, S., Schiff Bennici, A., Roselli, G., Mariott, D. and Magherini, R. 1997. Agrobacterium mediated transformation of *Artemisia absinthium* L. (Worm wood) and production of secondary metabolites, Plant Cell Reports 16: 725-730.

Palecitch, D. 1987. Recent advances in the cultivation of medicinal Plants . Acta Horticalture 208: 29-34.

Pinto, S.W. 1967. Current Knowledge on the Pharmacodynamic activity of the prolonged administration of thujone a natural flavoring agent. Bulletin Chemical Pharmaceutics 106: 292-300.

Rao,V.S.N., Menezes, A. and Gadelha, M.G.T. 1988. Antifertility screening of some indigenous plants of Brazil. Fitoteropia 1: 17-20.

Shibamoto, T. 1987. Retention indices in essential oil analysis. In: Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis. Eds., P. Sandra and C. Bicchi, Chapter 8, pp 259-274, Dr. Alfred Huethig Verlag, New York.

Smith, A. E. and Secoy, D. M. 1981. Plants used for agricultural pest control in Western Europe before 1850. Chem. Indus. 3: 12-17.

Tucker, A.O., Maciarello, M. J. and Sturtz, G. 1993. The Essentiral oils of *Artemisia powis* Castle and its Potative Parents, *A. absinthium* and *A. arborescens*, J. Essential oil Res. 5: 239-242.

Wake G., Court, J., Pickering, A., Lewis, R. Wilkins, R. and Perry, E. 2000. CNS acetylcholine receptor activity in European medicina plants traditionally used to improve failing memory. Journal of Ethno Pharmacology 69(2): 105-114.

Watson L. E., Paul, L. B., Timothy, M. E., Matthew, M. U. and James R. E. 2002. Molecular phylogeny of subtribe Artemisinae (Asteraceae), including *Artemisia* and its allied and segregate genera, BMC Evolutionary Bilogy 2:17.

Zafar, M. M., Hamard, M .E. and Hameed, A. 1990. Screening of *Artemisia absinthium* for antimalarial effects on plasmodium berghei in mice: a preliminary report, J. Ethnopharmacol. 30: 223-226.

www.SID.ir

Archive of SID

The effect of nitrogen fertilizer on total essential oil and the amounts of α-Thujone and Chamazulene in wormwood (*Artemisia absinthium* L.)

Gholami, M. and Azizi, A.[1]

Abstract

Wormwood, (*Artemisia absinthium* L.) is one of medicinal and fragrant plants belonging to the family of Asteraceae. In this research, the essence components of the field grown plants were analyzed in which then 20 compounds were recognized. The effect of nitrogen fertilizer (urea) on total essential oil and the amounts of α-Thujone and Chamazulene rate was studied. The amounts of fertilizer were 0, 50, 100, 150 and 200 Kg urea per hectare applied in two parts, one at the time of transplanting seedlings in the field and the second part, two months later. Essential oil was extracted using Clevenger-type apparatus, with water distillation system. Separation and measurement of α-Thujone and Chamazulene content was conducted by Gas-Chromatography and Mass Spectrometry (GC-MS). The rate of vegetative yield and dry matter were significantly increased due to nitrogen application. Nitrogen had no significant effect on essential oil, α-Thujone and Chamazulene content in spite of increasing the herb yield. Therefore increased plant foliage due to the use of nitrogen fertilizer (150 Kg/ha and more) caused an increase in the essential oil, α-Thujone and Chamazulene contents per plant but had no significant effect on the basis of dry weight.

Keywords: Wormwood, *Artemisia absinthium* L., Essential oil, Nitrogen fertilizer, α-Thujone, Chamazulene

[1]. Associate Professor and Instructor respectively, Department of Horticulture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

www.SID.ir