Archive of SID

بررسی ترکیبات شیمیایی، اثرات دگرآسیبی و ضدباکتریایی عصاره برگ سرو نقره‌ای (*Cupressus arizonica*)

مسعود حیدری زاده*، واحد لطفی و محمد قانعی الوار

سنندج، دانشگاه کردستان، دانشکده علوم پایه، گروه علوم زیستی

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۵

چکیده

گونه‌های مختلفی از جنس سرو به‌عنوان گیاهان دارویی شناخته شده و در طب سنتی استفاده می‌شوند. مطالعه گیاهان مختلف به‌منظور شناسایی و معرفی ترکیبات طبیعی دارای ارزش دارویی امروزه مورد توجه محققین می‌باشد. هدف از این پژوهش شناسایی ترکیبات شیمیایی فرار موجود در عصاره برگ سرو، بررسی اثر ضد باکتری آن بر باکتری‌های اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس و بررسی اثر دگرآسیبی آن بر دانه‌رست‌های گندم، جو و کنجد است. بر این اساس طرح آزمایشی پایه کاملاً تصادفی با در نظر گرفتن چهار تکرار انتخاب گردید. نتایج وجود ۱۶ ترکیب فرار مختلف را در این عصاره نشان داد. دی اپی آلفا سدرین در مجموع با فراوانی ۴۵/۸۵ درصد و بعد از آن آلفا پینن با فراوانی ۵۲/۱۲ درصد بیشترین ترکیبات فرار عصاره می‌باشند. نتایج آللوپاتی نشان داد در غلظت (۱۰۰ گرم بر لیتر)، از عصاره برگ سرو جوانه‌زنی بذرهای گندم و کنجد به‌طور کامل متوقف می‌شود. در غلظت‌های (۵۰ و ۲۵ گرم بر لیتر) عصاره برگ سرو بذرهای هر سه گونه موفق به جوانه‌زنی شدند. در گونه‌های گندم و جو، با افزایش غلظت عصاره، میانگین طول و وزن ساقه‌چه و ریشه‌چه کاهش یافت. در مورد گونه کنجد با افزایش غلظت عصاره، تغییرات معناداری در طول و وزن ساقه‌چه و ریشه‌چه مشاهده نشد. نتایج نشان داد عصاره برگ سرو اثر ضد باکتریایی دارد. اثر مهاری آن بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر بود. به طوری که درصد مهار برای استافیلوکوکوس اورئوس ۹۶ درصد و برای اشریشیا کلی ۲۷ درصد به دست آمد. می‌توان از پتانسیل آللوپاتیک ترکیبات مختلف عصاره برگ سرو جهت تولید علف‌کش‌های طبیعی و سازگار با محیط زیست استفاده کرد. خاصیت ضد باکتری عصاره برگ سرو قابل‌توجه است می‌توان اثر مهاری آن را علیه دیگر باکتری‌های پاتوژن انسانی بررسی و از آن به‌عنوان منبع تهیه آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی استفاده کرد.

واژه های کلیدی: آللوپاتی، ترکیبات طبیعی، سرو نقره‌ای ، ضدباکتری

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۳۷۸۰۵۴۳ ، پست الکترونیکی: m.haidarizadeh@uok.ac.ir

مقدمه

تیره سرو از سوزنی‌برگان و درختانی همیشه سبز هستند. سی جنس و یک‌صد و سی‌وچهار گونه در این خانواده شناسایی شده است (۲۰). گونه‌های مختلفی از سرو به‌عنوان گیاهان دارویی شناخته شده‌اند و به‌صورت عمده در طب سنتی استفاده می‌شوند. گونه‌ی سرو کوهی(*Juniperus phoneicea*) اثرات دارویی داشته و برگ‌های آن برای درمان اسهال، روماتیسم و دیابت کاربرد دارد. سرو معمولی (Cupressus sempervirens) به‌صورت سنتی برای درمان سرماخوردگی، آنفلوانزا، گلودردهای سخت و روماتیسم کاربرد دارد و شاخه‌های آن خاصیت ضدعفونی‌کننده و ضد اسپاسمی (تشنجی) دارد (۷ و ۱۴). سرو نقره‌ای درختی همیشه سبز و از مقاوم‌ترین گونه‌های سوزنی‌برگ جهان است که دامنه‌ی وسیعی از شرایط اکولوژیکی را تحمل می‌کند. پنج واریته مختلف از آن

www.SID.ir

Archive of SID

وجود دارد که واریته غالب آن در ایران آریزونیکا می‌باشد (۲۰ و ۱۳). مطالعه گیاهان مختلف به‌منظور شناسایی و معرفی ترکیبات طبیعی دارای ارزش دارویی امروزه مورد توجه محققین می‌باشد. در این پژوهش گونه‌ی سرو کوهی به‌منظور شناسایی ترکیبات شیمیایی مورد بررسی قرار گرفت.

آللوپاتی (دگرآسیبی) به فرآیندی گفته می‌شود که متابولیت‌های ثانویه گیاه یا سایر جانداران بر رشد و تکامل سایر سیستم‌های بیولوژیک اثرگذار باشد (۱۴ و ۱۵). ترکیباتی که سبب آللوپاتی می‌شوند آللوکمیکال نامیده می‌شوند. آللوکمیکال‌ها می‌توانند در موسیلاژ اطراف دانه‌های در حال جوانه‌زنی، قسمت‌های هوایی گیاه، ترشحات ریشه، بخارهای خارج‌شده از گیاهان در حال رشد و در بقایای گیاهی در حال تجزیه شدن توسط میکروارگانیسم‌ها حضور داشته‌باشند (۱۱ و ۲۱).

استفاده‌ی بی‌رویه از علف‌کش‌ها برای از بین بردن علف‌های هرز و عوارض ناشی از آن باعث نگرانی شده است. استفاده از متابولیت‌های ثانویه‌ی طبیعی می‌تواند جایگزین مناسبی برای بسیاری از علف‌کش‌های زیان آور باشد. وجود علف‌های هرز در مزارع، نامطلوب و از نظر اقتصادی زیان‌بار است. علاوه بر این اغلب علف‌های هرز از طریق تولید آللوکمیکال‌های مختلف باعث ایجاد تداخل در رشد و تکامل محصولات کشاورزی می‌شوند. استفاده‌ی بی‌رویه‌ی از این سموم، حشره‌کش‌ها و علف‌کش‌ها باعث آسیب به محصول، خاک، آب، جانوران و حتی خود انسان شده و یک بحران زیست‌محیطی را ایجاد کرده است. بنابراین بررسی و مطالعه‌ی روابط آللوپاتیک میان گیاهان می‌تواند جایگزین مناسبی برای این مواد شیمیایی آسیب‌رسان باشد. نتایج پژوهش‌های آللوپاتی در زمینه‌ی علوم کشاورزی، جنگلداری، حفظ نباتات، میکروبیولوژی، بیوشیمی، علوم خاک، شیمی فرآورده‌های طبیعی، علوم طبیعی، آسیب‌شناسی گیاهی و حشره‌شناسی کاربرد دارد (۲، ۱۶، ۱۴ و ۱۲).

مطالعات انجام‌شده حاکی از آن است که عصاره بسیاری از گیاهان می‌تواند رشد میکروارگانیسم‌ها را مهار کند. استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک باعث گسترش مقاومت دارویی در میکروارگانیسم‌ها شده است. علاوه بر این، این آنتی‌بیوتیک‌ها گاهاً باعث ایجاد آلرژی و یا سرکوب سیستم ایمنی می‌شوند. امروزه توجه به ترکیبات طبیعی دارای خاصیت آنتی‌بیوتیکی بیشتر شده است زیرا عموماً اثرات جانبی کم‌تری دارند (۱ و ۱۴). هدف از این پژوهش شناسایی ترکیبات شیمیایی فرار تشکیل‌دهنده عصاره برگ سرو و بررسی اثر آللوپاتی عصاره بر دانه‌رست‌های گندم، جو و کنجد است. هدف دیگر این پژوهش، بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره برگ سرو بر باکتری‌های اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس است.

مواد و روشها

برگ درخت سرو نقره ایی (***Cupressus arizonica***) از محوطه دانشگاه کردستان جمع‌آوری شد. برگ‌ها در سایه خشک شده و با دستگاه آسیاب برقی پودر شدند. پودر حاصل با نسبت ۱۰ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول حل و محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یک ظرف تیره و در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. سپس محلول موردنظر صاف و عصاره به‌دست‌آمده به مدت نیم ساعت و در دمای ۶۳ درجه سانتی‌گراد در دستگاه تقطیر دوار قرار گرفت. جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی فرار این عصاره، از دستگاه GC-MS استفاده شد. برای حذف کامل حلال، عصاره به‌دست‌آمده در یک ظرف شیشه‌ای و در زیر هود به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت.

شناسایی ترکیبات فرار عصاره: از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمیGC/MS فوق‌سریع

www.SID.ir

Archive of SID

Agilent مدلcA ۷۸۹ برای شناسایی ترکیبات شیمیایی فرار موجود در عصاره استفاده شد.

مقدار ۲/۰ میکرولیتر از عصاره به دستگاه تزریق و درصد ترکیبات فرار تشکیل‌دهنده عصاره پس از جداسازی به همراه شاخص بازداری محاسبه شد. در نهایت با استفاده از اندیس بازداری (Retention Index)، ترکیب‌های فرار موجود در عصاره شناسایی و بررسی طیف‌های جرمی و پیشنهادهای کتابخانه کامپیوتر دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی و مقایسه آن‌ها با ترکیب‌های استاندارد انجام شد.

مشخصات دستگاه مورداستفاده: دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمیGC/MS فوق‌سریع Agilent مدلcA ۷۸۹ متصل به طیف‌سنج جرمی با ستون HP_5 به طول ۳۰ متر قطر ۲۵/۰ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون مورداستفاده قرار گرفت. برنامه‌ریزی حرارتی از ۴۵ تا ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه بود. درجه حرارت محفظه تزریق ۲۸۰ درجه و درجه حرارت ترانسفرلاین ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل مورداستفاده قرارگرفت(۴).

بررسی اثر آللوپاتی: بذرهای گواهی‌شده گندم، جو و کنجد از مرکز تحقیقات کشاورزی سنندج تهیه شد. بذر-های گندم، جو و کنجد به ترتیب با وزن‌های (۰/۰۵۳±۰/۰۰۱)، (۰/۰۴۷±۰/۰۰۱) و (۰/۰۳۷±۰/۰۰۱) انتخاب شدند. بذرها با آب مقطر شسته و به مدت ۲۰ دقیقه در اتانول ۷۰ درصد قرار گرفتند. سپس، بذرها باردیگر با آب مقطر شسته و به مدت ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵/۱ درصد قرار گرفتند تا کاملاً ضدعفونی شوند (۵). در هر پتری‌دیش از هرکدام از بذرها هفت عدد، با فاصله‌های تقریباً مساوی قرار داده شد و به هرکدام از ظرف‌ها ۵/۲ میلی‌لیتر از محلول‌های حاوی غلظت‌های از پیش تهیه‌شده عصاره برگ سرو اضافه شد و یک پتری‌دیش هم با آب مقطر به‌عنوان شاهد کشت و آنگاه بذرها در اتاقک رشد قرار داده شدند. دستگاه اتاقک رشد با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، درجه حرارت روزانه ۲۵ و شبانه ۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۲۷ درصد تنظیم شد. بعد از ده روز، طول و وزن ساقه‌چه و ریشه‌چه‌ی دانه‌رست‌ها اندازه‌گیری شد (۳).

بررسی اثر ضد میکروبی: برای بررسی اثر ضد میکروبی عصاره برگ سرو، ابتدا عصاره‌ی به‌دست‌آمده از برگ سرو با نسبت ۱: ۱ در دی متیل سولفوکسید (DMSO) حل شد تا محلول شفافی به دست آید. اشریشیا کلی به‌عنوان یک باکتری گرم منفی و استافیلوکوکوس اورئوس به‌عنوان یک باکتری گرم مثبت برای آزمایش انتخاب شدند. ابتدا، محیط کشت مولر هینتون آگار برای کشت باکتری‌ها آماده شد. سپس غلظت نیم مک‌فارلند ($۵/۱\times۱۰^{۸}$ $\frac{cfu}{ml}$) از نمونه‌های میکروبی مورد آزمون که در مرحله رشد لگاریتمی بودند، تهیه شده و در محیط‌های کشت، کشت داده شد. چاهک-های ۵ میلی‌متری در وسط پتری‌دیش‌ها ایجاد شده و در آن ۱۲ میکرولیتر از عصاره تهیه‌شده ریخته‌شد. پتری‌دیش‌ها به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور گرماگذاری شدند. بعد از ۲۴ ساعت، قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. به‌عنوان کنترل منفی در یک پتری‌دیش مجزا چاهکی حاوی دی متیل سولفوکسید و با همان شرایط گرماگذاری شد.(۱۹)

طرح آزمایشی آماری: در مطالعه اثر غلظت‌های مختلف عصاره برگ سرو بر شاخص‌های فیزیولوژیک رشد در دانه‌رست‌های گندم، جو و کنجد، هدف ارزیابی اثر فاکتور غلظت عصاره برگ بر شاخص‌های فیزیولوژیک طول و وزن ساقه‌چه و ریشه‌چه بود. بر این اساس طرح آزمایشی پایه کاملاً تصادفی با در نظر گرفتن چهار تکرار در چهار سطح انتخاب گردید. برای تجزیه و تحلیل نتایج از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) استفاده

www.SID.ir

Archive of SID

شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید. برای ارزیابی اثرات ضد میکروبی عصاره برگ سرو نیز روش آماری فوق را به کار بردیم. همچنین، درصد مهاری از فرمول زیر محاسبه شد.(۱۰)

$$\text{درصد مهاری} = \frac{\text{قطر کلنی میانی - قطر دیسک}}{\text{قطر دیسک}} \times ۱۰۰$$

نتایج

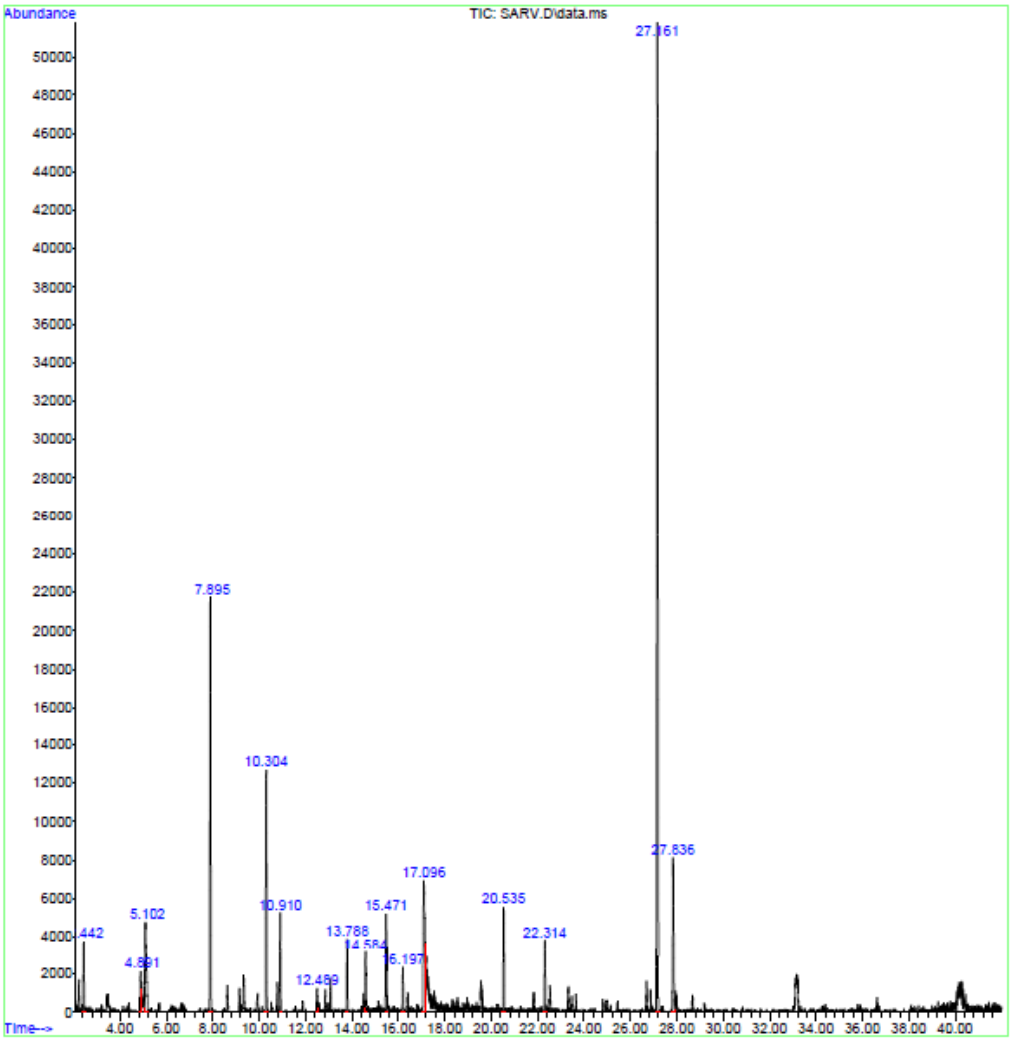
ترکیبات شیمیایی: نتیجه بررسی ترکیبات فرار عصاره برگ سرو با دستگاه GC-MS در شکل ۱ و جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- ترکیبات فرار شناسایی‌شده در عصاره متانولی برگ سرو نقره‌ای

شماره پیک	ترکیب شناسایی‌شده	زمان ثبت (RT) دقیقه	درصد
۱	Pent-2-ynal 1,2,4-Triazine	۴۴۲/۲	۹۸۰/۱
۲	Methanamine, N-hydroxy-N-methyl Hydrazine, 1,2-dimethyl	۸۹۱/۴	۲۰۵/۱
۳	Formaldehyde, methyl(2-propynyl)hydrazone 3,3,3-Trifluoropropene	۱۰۲/۵	۳۴۲/۵
۴	2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene 1R- α-Pinene 1S- α-Pinene	۸۹۵/۷	۵۲۴/۱۲
۵	3-Carene 3,7,7-trimethyl-bicyclo[4.1.0]hept-3-ene	۳۰۴/۱۰	۴۹۴/۷
۶	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1- methylethyl) α-Phellandrene β-Phellandrene	۹۱۰/۱۰	۶۹۴/۲
۷	2-Heptenal, 2-methyl 2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-3,4-dimethyl 2-Hydroxy-3,5-dimethyl cyclopent-2- en-1-one	۴۸۹/۱۲	۰۴۵/۱
۸	3-Carene Cyclohexene, 4-methylene-1-(1-methylethyl) Ocimene	۷۸۸/۱۳	۹۷۸/۱
۹	4(1H)-Pyridone Aminopyrazine 1,2,3,6-Tetrahydropyridine	۵۸۴/۱۴	۹۱۹/۱
۱۰	Bicyclo[3.1.0]hex-3-en-2-one, 4-me thyl-1-(1-methylethyl) Phenol,2-methyl	۴۷۱/۱۵	۲۴۹/۳
۱۱	2-Cyclopenten-1-one, 2,3,5-trimeth yl-4-methylene 1, 4-cyclohexadiene 1-methyl-4-(1-methylethyl) Ocimene	۱۹۷/۱۶	۲۲۸/۱
۱۲	3,5-Hexadien-2-ol, 2-methyl 2H-Pyrrol-2-one, 1,5-dihydro-1-methyl Imidazole, 2-methylamino	۰۹۶/۱۷	۹۶۹/۷
۱۳	Limonene Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methyle thenyl), (S) D-Limonene	۵۳۵/۲۰	۰۵۰/۳
۱۴	trans-α-bergamotene 3-Carene 2,8-Decadiyne	۳۱۴/۲۲	۴۶۷/۲
۱۵	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl) 1H-3a,7-Methanoazulene,2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl, [3R-(3α,3aβ,7β,8aα)] Di-epi.alpha.cedrene	۱۶۱/۲۷	۷۸۲/۳۹
۱۶	Di-epi.alpha.cedrene, Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6-dime thyl-6-(4-methyl-3-pentenyl) 1H-3a,7-Methanoazulene,2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl, [3R-(3α,3aβ,7β,8aα)]	۸۳۶/۲۷	۰۷۳/۶

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- نتیجه آنالیز ترکیبات فرار عصاره برگ سرو با دستگاه GC-MS

آنالیز عصاره متانولی برگ سرو با دستگاه GC-MS نشان داد که ترکیبات فرار مختلفی در این عصاره وجود دارد. در مدت‌زمان تقریبی ۲۸ دقیقه، ۱۶ پیک ثبت شد. ترکیبات اصلی، درصد و زمان ثبت پیک در جدول ۱ نشان داده شده است. بیشترین فراوانی مربوط به پیک شماره ۱۵ با فراوانی ۷۸/۳۹ درصد و بعد از آن مربوط به پیک شماره ۴ با فراوانی ۵۲/۱۲ درصد بود. در پیک شماره ۱۵ ترکیب دی اپی آلفا سدرین و در پیک شماره ۴ ترکیب آلفا پینن شناسایی شد. ترکیب دی اپی آلفا سدرین در پیک شماره ۱۶ نیز شناسایی گردید که در مجموع حدود ۴۵/۸۵ درصد ترکیبات فرار عصاره را ترکیب دی اپی آلفا سدرین تشکیل می‌دهد. ترکیبات شناخته شده ایی همچون ۳-کارن و لیمونن از اجزای تشکیل دهنده ترکیبات فرار عصاره برگ سرو نقره‌ایی هستند که شناسایی شدند.

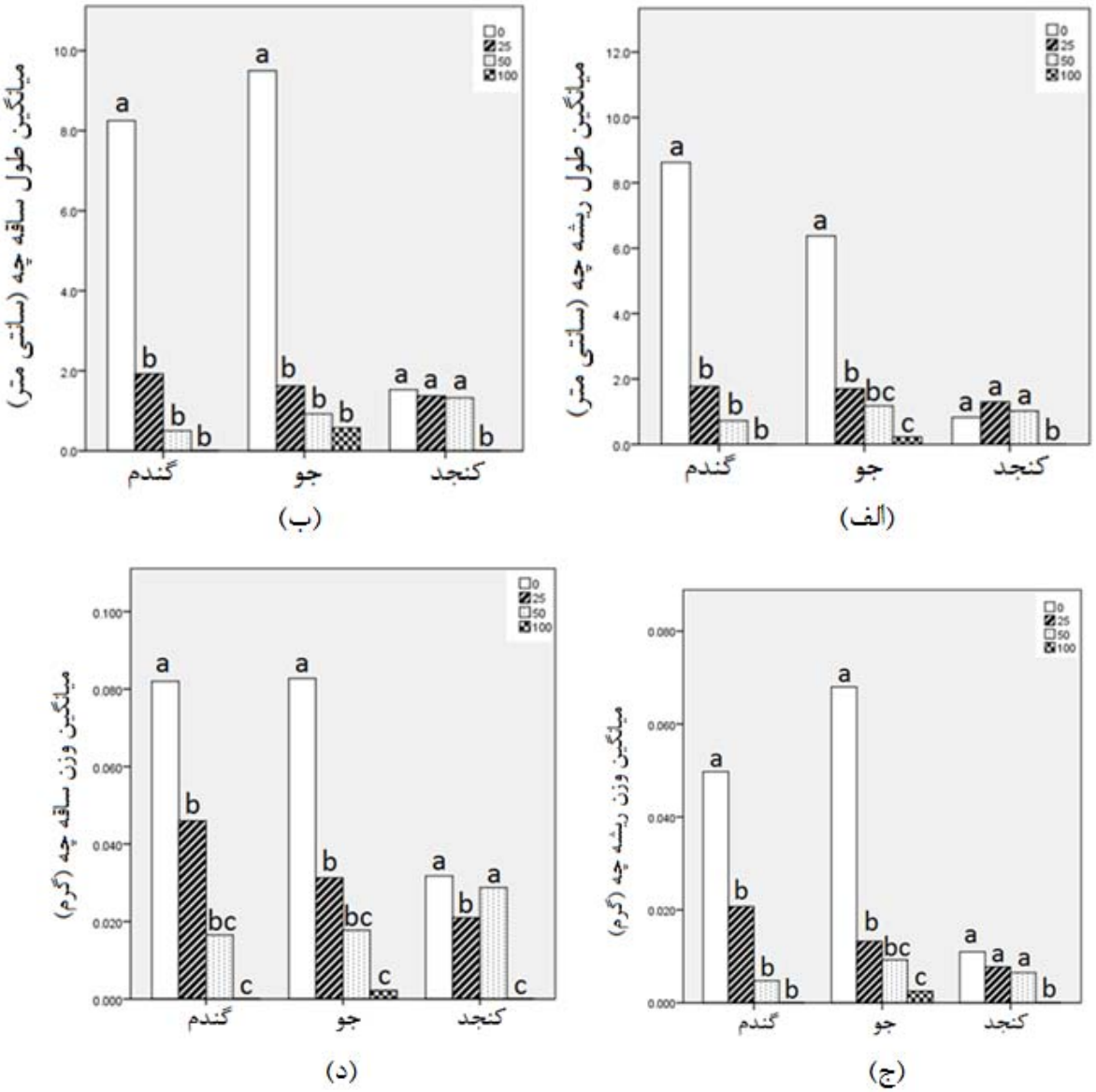
آللوپاتی: نمودارهای (الف) تا (د)، اثر غلظت‌های مختلف عصاره برگ سرو (۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم بر لیتر) را بر شاخص‌های فیزیولوژیک طول و وزن ساقه‌چه و ریشه‌چه دانه‌رست‌های گندم، جو و کنجد نشان می‌دهند. نتایج حاصل از بررسی اثر آللوپاتی عصاره برگ سرو نشان داد این عصاره اثر آللوپاتی دارد. در بالاترین غلظت از عصاره برگ سرو (۱۰۰ گرم بر لیتر)، جوانه‌زنی در بذرهای گندم

www.SID.ir

Archive of SID

و کنجد به‌طور کامل متوقف شد. در غلظت‌های پایین‌تر از عصاره برگ سرو (۵۰ و ۲۵ گرم بر لیتر) بذرهای هر سه گونه موفق به جوانه‌زنی شدند. در گونه‌های گندم و جو، با افزایش غلظت عصاره، میانگین طول و وزن ساقه‌چه و ریشه‌چه کاهش یافت. در مورد گونه کنجد با افزایش غلظت عصاره، تغییرات معناداری در طول و وزن ساقه‌چه و ریشه‌چه مشاهده نشد.

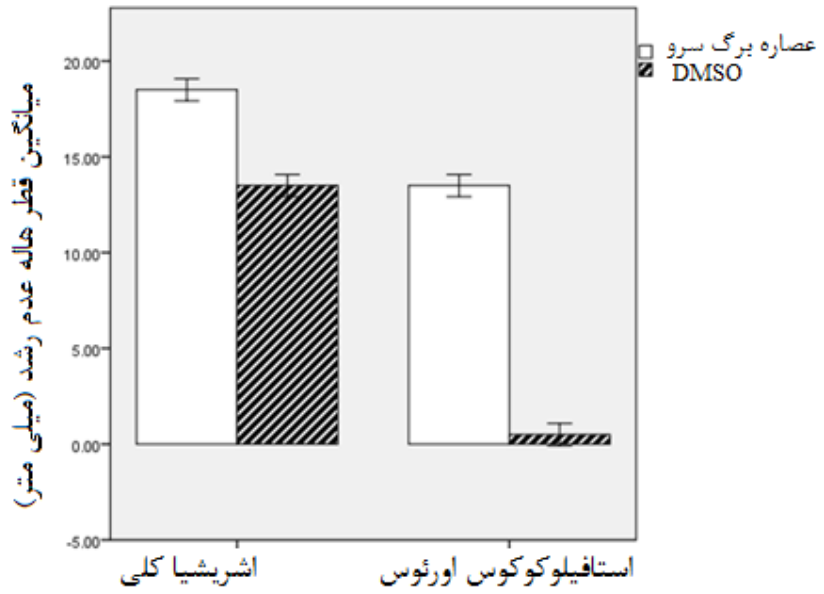
اثر ضد میکروبی: شکل ۳، اثر مهاری عصاره برگ سرو بر باکتری‌های اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس را نشان می‌دهد. (DMSO) دی متیل سولفوکسید به‌عنوان کنترل منفی استفاده شده است.



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف عصاره برگ سرو (۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم بر لیتر) بر طول ریشه‌چه (الف)، طول ساقه‌چه (ب)، وزن ریشه‌چه (ج) و وزن ساقه‌چه (د) گونه‌های گندم، جو و کنجد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- مقایسه اثر عصاره برگ سرو بر باکتری‌های اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس

نتایج حاصل از بررسی اثر ضد باکتری عصاره برگ سرو نشان داد این عصاره اثرات ضد باکتریایی دارد. اثر مهاری آن بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر بود. به‌صورتی که درصد مهاری برای استافیلوکوکوس اورئوس ۹۶ درصد و برای اشریشیا کلی ۲۷ درصد به دست آمد.

بحث و نتیجه‌گیری

مزاری و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند ترکیبات اصلی برگ گونه‌های سرو کوهی و سرو معمولی هیدروکربن‌های مونوترپن بوده و ترکیبات مختلفی همچون آلفا پینن، بتا فلاندرین، سدرول و آلفا ترپنیل استات در این عصاره‌ها وجود دارد. همچنین نشان دادند عصاره‌ی هر دو گونه اثر مهاری بر رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی دارد (۱۴). اشراقی و همکاران (۱۳۸۸) نشان دادند در عصاره سرو کوهی ساپونین و مقدار کمی تانن وجود دارد و این عصاره اثر مهاری قابل‌توجهی بر سوش‌های بیماری‌زای نوکاردیا دارد (۱). میلوس و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند ترکیب اصلی روغن‌های فرار پوست تر و پوست خشک گونه‌ی ارس خاردار (*Juniperus oxicedrus*) آلفا پینن است (۱۷). امامی و همکاران (۲۰۰۶) روغن‌های فرار میوه، شاخه و برگ گونه‌های سرو معمولی و سرو زربین (*Cupressus horizontalis*) را بررسی کردند و نشان دادند ترکیب اصلی در برگ و میوه سرو معمولی، آلفا پینن و دلتا۳--کارن و در مورد سرو زربین آلفا پینن و دلتا۲--کارن می‌باشد. همچنین نشان دادند روغن‌های فرار برگ سرو زربین اثر مهاری علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی ندارد اما روغن‌های فرار برگ و میوه‌های سرو معمولی اثر ضد باکتری قوی علیه این باکتری‌ها دارد (۱۳). بوچرا و همکاران (۲۰۰۳) ترکیبات اصلی ۲۵ گیاه دارویی مراکشی را شناسایی کردند و نشان دادند ترکیبات اصلی در برگ سرو معمولی سابینین، ترپنین ۴-اول، آلفا پینن، گاما ترپتین و میرسین است. همچنین محتوای اصلی مخروط این گونه، آلفا پینن و ۳-کارن بود (۸). چریف و همکاران (۲۰۰۷) روغن‌های فرار موجود در عصاره آبی برگ‌ها، شاخه‌ها و مخروط ماده‌ی سرو نقره‌ای را بررسی کرده و نشان دادند ترکیبات مهم در مخروط، آلفا پینن، در برگ دلتا۳- کارن و در شاخه‌ها *cis*-muurola-4(14),5-diene بود (۱۰). چانگریا و همکاران (۱۹۹۷) روغن‌های فرار موجود در

www.SID.ir

Archive of SID

برگ چهار گونه‌ی سرو را در الجزایر بررسی کرده و نشان دادند ترکیب اصلی سرو نقره‌ای، آلفا پینن و اومبللون است (۹).

مقایسه نتایج این پژوهش‌ها نشان می‌دهد ممکن است عواملی مانند زمان و فصل نمونه‌برداری، موقعیت جغرافیایی و عواملی مانند عرض و طول جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا و شیب دامنه در ترکیب و درصد اجزای شیمیایی تشکیل‌دهنده برگ سرو نقره‌ای اثر گذاشته باشد. تفاوت این گزارش‌ها را می‌توان به این عوامل نسبت داد. یکی دیگر از دلایل تفاوت اینست که برخی محققین ترکیبات فرار اسانس و برخی همه ترکیبات موجود (فرار و غیرفرار) را گزارش کرده اند. نتایج این پژوهش با نتایج امامی و همکاران (۲۰۰۶)، بوچرا و همکاران (۲۰۰۳) و چانگریا و همکاران (۱۹۹۷) در اینکه تشکیل دهنده اصلی ترکیبات فرار سرو معمولی را ترکیب آلفا پینن گزارش کرده‌اند همخوانی دارد. ترکیب دی اپی آلفا سدرین در مجموع با بیشترین فراوانی(۴۵/۸۵ درصد) مربوط به پیکهای شماره ۱۶ و ۱۵ که در این پژوهش گزارش گردید در این مقالات گزارش نشده است.

نتایج این پژوهش و نتایج مزاری و همکاران (۲۰۱۰) هر دو تایید کننده اثرات ضد باکتریایی عصاره برگ سرو نقره-ای است. نازدار و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند عصاره‌های آبی و آبی – الکلی برگ‌های گیاهان کاج توپی، سرو نقره-ای، اقاقیا و افرا ، جوانه‌زنی بذر و شاخصهای های جوانه-زنی چمن‌های یارندی و فستوکا را به‌طور معنی‌داری کاهش دادند (۶). کامل و همکاران(۲۰۱۷) نیز مهارکنندگی و فعالیت علف کشی ترکیبات فرار دو گونه سرو و کاج در شرایط طبیعی و در غلظتها و زمانهای متفاوت را برای کنترل علفهای هرز ارزیابی و گزارش کرده اند که علف-کشهای مبتنی بر گونه‌های سرو با قدرت مهارکنندگی ۳۳/۸۷ درصد بازدارنگی قویتری نسبت به علفکشهای مبتنی بر گونه های کاج با قدرت مهارکنندگی ۱۴ درصد دارند (۱۸).

در مقایسه مطالعات آللوپاتی ترکیبات شیمیایی یک گونه آنچه که باید مورد توجه قرارگیرد اینست که غلظت عصاره و متغیرهای اندازه‌گیری شده باید یکسان باشند تا این نتایج باهم قابل مقایسه گردد. اثرات ضد میکروبی متفاوت ممکن است به دلیل تفاوت در اجزای شیمیایی تشکیل‌دهنده باشد.

عصاره برگ سرو حاوی ترکیبات زیادی با فراوانی‌های مختلف می‌باشد. برای بررسی دقیق‌تر ترکیبات و اجزای فرار و غیرفرار این عصاره بکارگیری تلفیقی گاز کروماتوگرافیGC و کروماتوگرافی مایع HPLC پیشنهاد می‌شود. برای بررسی دقیق‌تر و پاسخ به این پرسش که اثر آللوپاتی و اثر ضد باکتریایی عصاره مربوط به چه ترکیب یا ترکیباتی است، تکنیک‌ها و روش‌های جداسازی دقیق‌تری لازم است. اثر آللوپاتی این عصاره قابل‌توجه است. پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده رابطه آللوپاتی ترکیبات مختلف عصاره برگ سرو با علف‌های هرز مورد بررسی قرار گرفته تا بتوان از این پتانسیل جهت تولید علف‌کش-های طبیعی و سازگار با محیط‌زیست استفاده کرد. خاصیت ضد باکتری عصاره برگ سرو قابل توجه است ، پس از جداسازی ماده مؤثره این عصاره می‌توان اثر مهاری آن را در برابر باکتری‌های پاتوژن انسانی مورد بررسی قرار داده و از آن به عنوان منبعی برای تولید آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی استفاده کرد.

منابع

۱ اشراقی، س. امین، غ و اطاری، ا. ۱۳۸۸. بررسی اثرات ضد باکتریایی و مروری بر ۱۰ گونه گیاهی علیه سوش‌های بیماری‌زای نوکاردیا .فصلنامه گیاهان دارویی، سال هشتم، دوره چهارم، شماره سی و دوم.

۲ انتشاری، ش و اهرابی، ف. ۱۳۹۰. تأثیر کومارین بر برخی شاخص-های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه کلزا رقم هایولا ۴۰۱. مجله زیست‌شناسی گیاهی، سال سوم، شماره دهم، صفحه ۳۶-۲۳.

www.SID.ir

Archive of SID

۳ بهداد ، آ. ابریشم چی، پ. جنگجو، م. ۱۳۹۴. ارتباط فنولوژی، محتوای ترکیبات فنلی و خاصیت آللوپاتی گیاه درمنه خراسانی (*Artemisia khorassanica* Karsch)و اثر آن بر رشد و فیزیولوژی گیاهچه (*Bromus kopetdaghensis*.Drobov) بروموس کپه داغی. مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران) ، جلد ۲۸ ، شماره ۲، ۲۵۶-۲۴۳.

۴ محمودزاده حسینی، م. سفیدکن، ف .صالحی شانجانی، پ. نجفی، غ. ۱۳۹۴. استخراج، شناسایی و مقایسه ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس گل، برگ، ساقه و سرشاخه گلدار بومادران کوهستانی Achillea vermicularis Trin . دوماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۳۱ ، شماره ۵، ۷۵۲-۷۴۳ .

۵ فارسی، م و ذوالعلی، ج.۱۳۹۰. اصول بیوتکنولوژی گیاهی. چاپ پنجم. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

۶ نازدار، ط، موسوی بزاز، آ و آرویی، ح. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر آللوپاتیکی عصاره برگ کاج توپی، سرو نقره‌ای، افرا و اقاقیا بر جوانه‌زنی بذور چمن‌های یارندی و فستوکا. *هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران*، اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان،

7 Ahmad, S., J. Asili, M. Rahimizadeh, and B. S. Fazly-bazzaz, 2006. Chemical and Antimicrobial Studies of *Cupressus sempervirens L*. and *Cupressus horizentalis M*. Essential Oils, vol. 2, no. 2, pp. 103–108.

8 Bouchra, C. A, M ohamed. I. H. Mina and M. Hmamouchi. 2003. Antifungal activity of essential oils from several medicinal plants against four post-harvest citrus pathogens. *Phytopathol. Mediterr.* vol. 42, no. 3, pp. 251–256.

9 Chanegriha, N. A. Baaliouamer, B.Y. Meklati, J. R. Chretien, and G. Keravis, 1997. GC and GC-MS Leaf Oil Analysis of Four Algerian Cypress Species. Journal of Essential Oil Research , Volume 9, Issue 5, pp. 555–559.

10 Chéraif, I. H. Ben Jannet, M. Hammami, M. L. Khouja, and Z. Mighri, 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of Cupressus arizonica Greene. pp. 813–820.

11 Chengxu,W. Z. Mingxing, Xuhui, C. and Bo, Q. 2011 . Procedia Engineering Review on Allelopathy of Exotic Invasive Plants. Procedia Engineering J. vol. 18.

12 Devi, S. R. and Prasad,M. N. V 1992. Effect of ferulic acid on growth and hydrolytic enzyme activities of germinating maize seeds. J. Chem. E., vol. 18, no. 11, pp. 1981–1990.

13 Emami,S. A. M. H. Khayyat, M. Rahimizadeh, B. S. Fazly-Bazzaz, and J. Assilia, 2004 .Chemical Constituents of Cupressus sempervirens L . cv . Cereiformis Rehd . Essential Oils. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, vol. 1, no. 1, pp. 39–42,.

14 Mazari KH, N. Bendimerad, CH. Bekhechi, and X. Fernandez, 2010. .Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. Journal of Medicinal Plants, vol.4, no. 10. pp. 959–964,

15 Mishra, A., 2015. Allelopathy : Natural and an Eenvironment-friendly Unique Tool. Int. J. Adv. Res. Eng. Appl. Sci. vol. 4, no. 1, pp. 26–31

16 Moradi, H. S. Sheikhpour, M. Fahramand, and A. Keshtehgar, 2013 .Effect of allelopathy on crop weeds control. Int. J. Agric. Crop Sci. no. 2001, pp. 1426–1428.

17 Milos M. and A.Radonic, 2000 .Gas chromatography mass spectral analysis of free and glycosidically bound volatile compounds from Juniperus oxycedrus L. pp. 333–338.

18 Kamel, M., BABA, K., AISSA1 and et al .2017. Herbicidal activity and inhibitory potency of two essential oils on weeds under natural condition. Columella – Volume 4, Number 1 ,suppl.

19 Ng, T. B. J. M. L. Ling, Z. Wang, J. N. Cai, and Xu, G. J. 1996. Examination of Coumarins, Flavonoids and Poly saccharic peptide for Antibacterial Activity. Gen Pharmacol. Oct; 27(7):1237-40.

20 Schulz, C. P. Knopf, and T. Stützel. 2005. Identification key to the Cypress family (Cupressaceae). *Feddes Repert.* vol. 116, no. 1–2, pp. 96–146.

21 Wang, Z.H. Li, Q. X. Ruan, C.D. Pan, and Jiang, D.A. 2010 .Phenolics and plant allelopathy. Molecules, vol. 15, no. 12, pp. 8933–8952.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of chemical compounds, antibacterial and allelopathic properties of cedar leaf extract (*Cupressus arizonica*)

Haidarizadeh M., Lotfi V. and Ghanei alvar M.

Biological Science Dept., Faculty of Basic Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, I.R. of Iran

Abstract

Several species of cedar genus known as medicinal plants are used in traditional medicine. The study of various plants in order to identify natural compounds with medicinal value is of interest to researchers. The aim of this study is to identify the chemical volatile compounds of cedar leaf extract, and to measurement the antibacterial effect of Cedar leaf extracts on Escherichia coli and Staphylococcus aurous and its allopathic effect on seedlings of wheat, barley and sesame. The completely randomized experimental design with four replications was chosen to consider. The results showed the existence of 16 different volatile compounds in the extract. Di epi alpha cedrene overall (45.85%) and alpha pinene (12. 52%) were the most volatile compounds in the extract. The allelopathy results showed that the 100(g/ L) concentrations of cedar leaf extract, wheat and sesame seed germination stops completely. In Concentrations of 50 and 25 (g/ L) leaf extract of cedar, seeds of three species were able to germinate. In wheat and barley, with increasing concentration, length and weight of shoot and root was significantly reduced. In Sesame with increasing in the concentration of the extract a significant change in the length and weight of shoot and root weren't observed. The results showed that cedar leaf extract has antibacterial properties. It has more inhibitory effect on Staphylococcus aureus. Percentage inhibition for Staphylococcus aureus and Escherichia coli were 27% and 96%, respectively. Allelopathic potential of different volatile compounds of Cedar leaf extracts can be used to produce of natural and environmentally friendly herbicides. Cedar leaf extract has significant antibacterial properties. Its inhibitory effect could be evaluated against human pathogenic bacteria and could be used as a source of natural antibiotics.

Key words: Allelopathy, Antibacterial properties, *Cupressus arizonica*, Natural compounds

www.SID.ir