



## تأثیر غلظت‌های مختلف نانو سفر روی و سولفات روی بر میزان تیمول در گیاه آویشن

### کوهی در شرایط درون شیشه‌ای

نونا حسنی

دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی دامغان

Nona.hasani@gmail.com

شهرام رضوان بیدختی

استادیار گروه فیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی دامغان

Shahramrezvan93@yahoo.com

#### چکیده

گیاه آویشن کوهی با نام علمی *Thymus kotschyanus* یکی از گونه‌های گیاهی ارزشمند است. پیکر رویشی آویشن کوهی از بوی مطبوعی برخوردار است که ناشی از وجود اسانس می‌باشد. مهمترین ترکیبات اسانس آویشن یک ترکیب فنلی به نام تیمول است که در درجه اول اهمیت قرار دارد که از نظر اقتصادی بسیار حائز اهمیت است. استفاده از تکنیک کشت بافت راه حلی مناسب برای تولید سریع و انبوه متابولیت‌های ثانویه می‌باشد. این پژوهش در قالب آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار صورت گرفت. در این آزمایش از گیاهچه‌ها به عنوان ریزنمونه استفاده شد، اثر نانو سفر روی در سه غلظت ۱۰/۷۵، ۲۱/۵ و ۴۳ میلی‌گرم در لیتر به عنوان فاکتور اول و سولفات روی در دو غلظت ۰ و ۸/۶ میلی‌گرم در لیتر به عنوان فاکتور دوم جهت اندازه‌گیری میزان تیمول مورد بررسی قرار گرفت. از محیط کشت پایه MS همراه با ۳ درصد ساکارز برای ریزنمونه‌ها استفاده گردید. عصاره‌های استخراج شده از اندام هوایی گیاهان مورد تحلیل قرار گرفتند. باتوجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها مشخص شد که بیشترین میزان تیمول از تیمار ۱۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر نانوسفر روی به همراه ۸/۶ میلی‌گرم بر لیتر سولفات روی بدست آمد.

**واژگان کلیدی:** آویشن کوهی، *Thymus kotschyanus*، کشت بافت، کود نانوسفر روی، تیمول.

## مقدمه

آویشن گیاهی است معطر از خانواده نعنائیان (Liacameae) که از گیاهان دارویی با ارزش و متداول طب سنتی و جدید دنیاست (Ozcan, 2004). با انجام مطالعات فلورستیکی ۲۵۰ گونه آویشن در دنیا و ۱۸ گونه در ایران مورد شناسایی قرار گرفته است. اسانس گل و برگ های آویشن دارای اثر ضد اسپاسم، ضد نفخ، ضد روماتیسم و ضد عفونی کننده قوی است. در داروسازی برای تهیه محلول های دهان شویه و شربت های ضد سرفه به کار می رود (امید بیگی، ۱۳۸۸). آویشن *Thymus kotschyanus* یکی از گیاهان دارویی، معطر و اندمیک خانواده نعناع می باشد. آویشن کوهی گیاهی چوبی، تقریباً راست، کوتاه قد، ساقه با انشعاب های زیاد، بدون شاخه های قاعده ای خوابیده. برگ های ساقه های گل دهنده تماماً مساوی، کم و بیش تخم مرغی، با قاعده بریده تا باریک، نوک گرد، با کرک های گسترده متراکم، پراکنده، یا بدون کرک، با تعداد زیادی غده ترشحی چسبیده قرمز رنگ، رگبرگ ها در سطح زیرین برگ برجسته. گل آذین اغلب کپه ای متراکم (جم زاد، ۱۳۸۸).

پراکندگی جغرافیایی: ترکیه، ایران، عراق و قفقاز.

آذربایجان، زنجان، کردستان، همدان، کرمانشاه، اصفهان، خراسان، سمنان، مرکزی، تهران، قزوین.

اکولوژی: مناطق کوهستانی در ارتفاع ۶۵۰ تا ۳۹۰۰ متر.

کشت بافت گیاهی در زمینه گیاهان دارویی کاربردهای متعددی دارد که مهمترین آنها عبارتند از: تکثیر نبوه، و سریع گیاهان دارویی یکنواخت از لحاظ محتوای ژنتیکی و کیفی، حفظ گونه های گیاهی در حال انقراض از طریق نگهداری در شرایط انجماد و تولید متابولیت های ثانویه در شرایط *in vitro* از طریق کشت سوسپانسیون سلولی و کشت اندام (Satheesh & Bhavanandan 1988).

**موضوع مورد بررسی در این پژوهش:** بررسی میزان تیمول در جداکشت های تیمار شده با غلظت های مختلف نانوسفر روی و سولفات روی.

**تئوری و پیشینه تحقیق:** مقیمی پور و همکاران (۲۰۱۴) بر روی تأثیر محلول پاشی نانو کلات روی و سولفات روی بر روی صفات مورفولوژیکی و غده کرک ریحان مطالعاتی انجام دادند. در این تحقیق تیمار نانو کلات روی (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ gr/li) و سولفات روی (۱، ۱/۵ gr/li) استفاده شد. نتایج نشان داد که اثر محلول پاشی کود روی بر صفات ارتفاع بوته، تعداد شاخه، تعداد برگ، اندازه برگ (طول و عرض)، سطح برگ، قطر برگ، طول گل آذین، تعداد گل آذین، وزن تر، وزن خشک ساقه، توزیع و اندازه گیری کرک های غده ای ریحان در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود. بالاترین میزان صفات ذکر شده در غلظت ۱/۵ gr/li نانو کلات روی به دست آمد.

## روش تحقیق

تکثیر گیاه آویشن کوهی از طریق بذر و با استفاده از تکنیک کشت بافت مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا از محیط کشت موراشیک و اسکوگ (MS) به منظور کشت بذر و جداکشت های آویشن کوهی استفاده شد. پس از آماده سازی محیط کشت و استریل نمودن، بذرها به منظور جوانه زنی به مدت ۲ دقیقه در ۳۰ میلی لیتر محلول آب مقطر استریل حاوی ۲ قطره توپین ۲۰٪ و سپس به مدت ۲ دقیقه در محلول الکلی ۷۰٪ (V/V) قرار داده شد، سپس بذرها دو مرتبه با آب مقطر استریل به مدت ۵ دقیقه شستشو داده شد و بعد از آن ۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ غوطه ور گردید و در نهایت سه مرتبه در آب مقطر به ترتیب به مدت ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه شستشو داده شد و در محیط استریل شده در زیر هود لامینار داخل شیشه های دارای محیط کشت MS اتوکلاو شده (در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه) کشت داده شدند. شیشه های حاوی نمونه در اتاق رشد با دمای ۳±۲۳ درجه سانتی گراد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی تحت نور سفید سرد فلئوروسنس ۲۲۰۰ لوکس به مدت ۲ ماه نگهداری شدند. پس از دو ماه که گیاهچه ها به دست آمدند، گیاهان را به صورت مریستم دوگره (۴ تا ۶ برگ) به صورت مورب برش زده و در محیط کشت با غلظت های ۱۰/۷۵، ۲۱/۵ و ۴۳ میلی گرم در لیتر کود نانو سفر روی و غلظت های ۰ و ۸/۶ میلی گرم در لیتر سولفات روی کشت دادیم. هر تیمار شامل سه تکرار و در هر



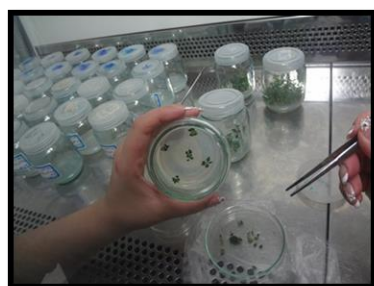
تکرار ۵ ریزنمونه قرار دادیم. سپس محیط های کشت حاوی نمونه به اتافک رشد منتقل شدند. جهت بررسی رشد گیاه پس از ۳۰ روز گیاهچه ها از محیط کشت جهت اندازه گیری میزان تیمول خارج شدند.



ب) رشد بذور آویشن پس از دو ماه



الف) کشت بذور آویشن در محیط MS



د) کشت مریستم ها در محیط کشت های بیماری



ج) برش مریستم دوگرهی

### یافته ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل با سه فاکتور بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و تجزیه تحلیل آماری با نرم افزار SAS انجام شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. (جدول ۱)

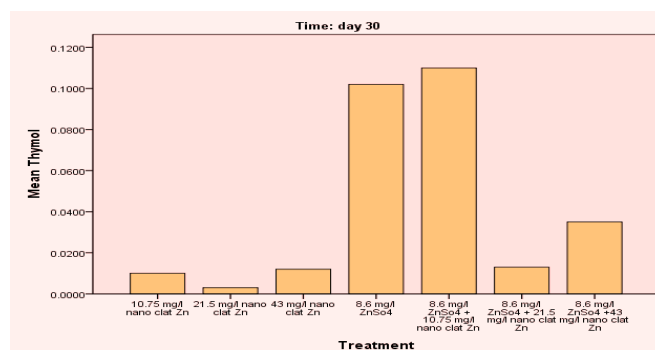
جدول ۱ مقایسه میانگین اثر سولفات روی و نانو سفر روی بر روی صفات مورد بررسی در گیاه آویشن کوهی

اثرات	Thymol (میلی گرم)	
	انحراف معیار ± میانگین	گروه بندی
<b>نانو سفر روی</b>		
۱۰/۷۵	۰/۰۴۲±۰/۰۴۹	a
۲۱/۵	۰/۰۰۸±۰/۰۰۶	a
۴۳	۰/۰۲۴±۰/۰۱۳	a
<b>سولفات روی</b>		
۰ Zn	۰/۰۰۸±۰/۰۰۴	b
۸/۶ Zn	۰/۰۴۱±۰/۰۳۸	a
<b>سولفات روی * نانو سفر روی</b>		
۰Zn - ۱۰/۷۵	۰/۰۱±۰	a
۰Zn - ۲۱/۵	۰/۰۰۳±۰/۰۰۱	a
۰Zn - ۴۳	۰/۰۱۲±۰/۰۰۲	a
۸/۶Zn - ۱۰/۷۵	۰/۰۷۴±۰/۰۰۵۴	a
۸/۶Zn - ۲۱/۵	۰/۰۱۳±۰/۰۰۳	a
۸/۶Zn - ۴۳	۰/۰۳۵±۰/۰۰۵	a

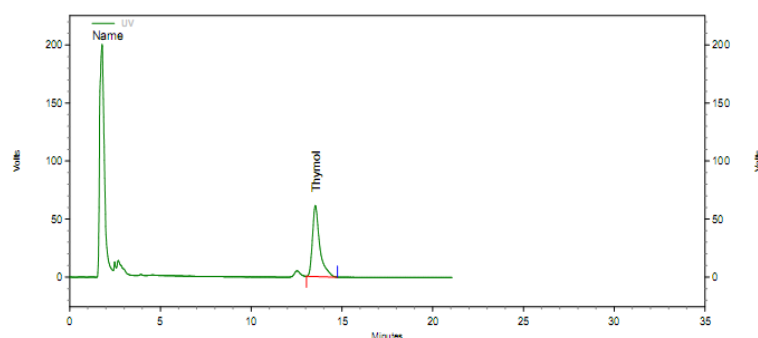
تیمارهای دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی دار ندارند.

**بحث و نتیجه گیری**

به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که کاربرد نانو سفر روی باعث تغییر برخی صفات کمی و گیاه دارویی آویشن کوهی در شرایط کشت بافت گردید و کاربرد این نانو کود در افزایش صفات کمی و کیفی می باشد. عصاره های استخراج شده از اندام های هوایی گیاهان باتوجه به جدول تجزیه واریانس داده ها و مقایسه میانگین مشخص شد که بیشترین میزان تیمول از تیمار ۱۰/۷۵ میلی گرم بر لیتر نانو سفر روی به همراه ۸/۶ میلی گرم بر لیتر سولفات روی حاصل گردید. (نمودار ۱ و ۲)



نمودار ۱- مقایسه میانگین تیمول



نمودار ۲- اندازه گیری تیمول توسط دستگاه HPLC

**پیشنهادات**

- ۱- بر اساس نتایج این پژوهش، ۸/۶ میلی گرم در لیتر سولفات روی به همراه ۱۰/۷۵ میلی گرم در لیتر نانو سفر روی به منظور افزایش میزان تیمول آویشن کوهی پیشنهاد می گردد.
- ۲- بررسی تأثیر غلظت های مختلف نانو سفر روی بر مسیر بیوسنتز متابولیت ثانویه تیمول در گیاه آویشن کوهی
- ۳- بررسی تأثیر غلظت های مختلف نانو سفر روی بر روی صفات مرفولوژیک در گیاه آویشن کوهی

## منابع

- امیدبیگی، ر. ۱۳۸۸. تولید و فراوری گیاهان دارویی، انتشارات آستان قدس رضوی، ۱: ۲۴۰-۲۴۵.
- جمزاد، ز. ۱۳۸۸. آویشن ها و مرزه های ایران. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور. ۴۱۵ صفحه.
- Moghimi Pour z, Mahmoodi Sourestani M, Alamzade Ansari N, Ramezani Z, Eskandari F. 2014. The influence of foliar application of nano zinc chelate and zinc sulphate on morphological traits and glandular trichomes of holy basil (*Ocimum Sanctum*). National Congress on Medicinal Plants. Mashhad- Iran, 14, 15 May, pp: 5-67.
- Ozcan, M. and Chalchat, J.C., 2004. Aroma profile of thymus vulgaris L. growing wild in Turkey. *Bulg. J. plant physiol.* 30:68-73.
- Satheesh KK. Bhavanandan KV. 1988. Micropropagation of *Plumbago rosea* Linn. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 15: 275-278.