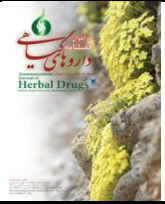




## فصل نامه داروهای گیاهی

journal homepage: [www.ojs.iaushk.ac.ir](http://www.ojs.iaushk.ac.ir)



### اثر محلول پاشی اسید جاسمونیک بر درصد و ترکیبات اسانس آویشن دنايي (*Thymus daenensis* Celak)

محمد اشرافی<sup>۱</sup>، عبدالله قاسمی پیربلوطی<sup>۱\*</sup>، مهدی رحیم ملک<sup>۳</sup>، بهزاد حامدی<sup>۱</sup>

۱. گروه گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛

۲. گروه علوم گیاهی، کالج علوم طبیعی، دانشگاه ماساچوست، ماساچوست، آمریکا؛

\* مسئول مکاتبات: E-mail: [aghasemipir@psis.umass.edu](mailto:aghasemipir@psis.umass.edu)

۳. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران؛

#### چکیده

مقدمه و هدف: امروزه تحقیقات زیادی در خصوص اثرات تنظیم کننده های رشد بر رشد و تولید گیاهان مختلف زراعی و باغی انجام گرفته است که نتایج آن حاکی از تاثیرگذاری اغلب این هورمون ها بر رشد کمی و کیفی گیاهان می باشد. کاربرد تنظیم کننده ها و بازدارنده های رشد در گیاهان دارویی علاوه بر رشد نیز ممکن است باعث تحریک تولید متابولیت های ثانویه شود. در این پژوهش اثر محلول پاشی اسید جاسمونیک روی گونه آویشن دنايي (*Thymus daenensis* Celak.) مورد بررسی قرار گرفت.

روش تحقیق: آزمایش به صورت گلدانی در سال زراعی ۹۰-۸۹ با تعداد ۶ تیمار و ۷ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارها شامل آب مقطر (شاهد)، آب مقطر و حلال هورمون (استون)، غلظت های مختلف شامل ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومول اسید جاسمونیک بودند. اعمال تیمار در مرحله قبل از گلدهی و اواسط تابستان به صورت محلول پاشی روی گیاه مورد مطالعه انجام شد. نمونه های اندام هوایی با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب اسانس گیری گردید. اسانس به دست آمده جهت شناسایی ترکیبات به دستگاه کروماتوگرافی جرمی (GC-MS) تزریق شد.

نتایج و بحث: نتایج نشان داد که غلظت های مختلف اسید جاسمونیک بر میزان ترکیبات اصلی آویشن دنايي اثرات معنی داری دارد؛ به طوری که غلظت های مختلف به کار رفته سبب کاهش یا افزایش تعدادی از ترکیبات ثانویه شدند. اختلاف معنی داری بین مقدار تیمول و کارواکرول با کاربرد غلظت ۱۰۰ میکرومول جاسمونیک اسید در مقایسه با سایر تیمارهای مورد مطالعه مشاهده شد. همچنین کاربرد حلال استون به همراه آب مقطر نیز موجب افزایش برخی از ترکیبات اسانس شد.

توصیه کاربردی / صنعتی: در زراعت متابولیک اگر تولید یک متابولیت یا متابولیت های خاص مورد هدف باشند باید با مدیریت های مهم زراعی و فراوری آن (روش های خشک کردن، اسانس گیری و غیره) به این هدف مهم یعنی افزایش میزان اسانس در قدم اول و میزان متابولیت (ها) در گام دوم دست یافت. با توجه به نتایج این مطالعه برخی متابولیت های ثانویه به خصوص ترکیبات فنولی مهم در اسانس آویشن دنايي به محلول پاشی اسید جاسمونیک تا حدودی واکنش نشان دادند.

#### شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۲/۱۹

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۰۳/۲۸

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: به زراعی - فیزیولوژی گیاهی

#### کلید واژگان:

- ✓ آویشن دنايي
- ✓ متابولیت های ثانویه
- ✓ اسید جاسمونیک
- ✓ GC-MS

#### ۱. مقدمه

می روند. مصرف روز افزون داروهای شیمیایی روز به روز مشکلاتی  
حاد از قبیل پدیده خود ایمنی بر اثر مصرف مداوم و عوارض جانبی

گیاهان دارویی از جمله ذخایر طبیعی در جهان محسوب  
می شوند که جزء منابع تأمین کننده دارو برای انسان به شمار

اکسیدانی قوی در ریحان شناخته شدند با اعمال تیمار متیل جاسمونات افزایش یافت.

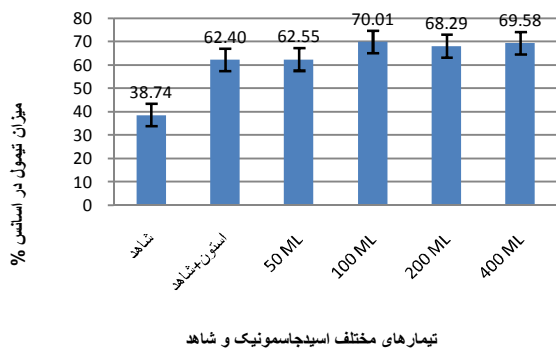
اغلب تحقیقات انجام شده در خصوص اثر اسید جاسمونیک بر روی خصوصیات فیتوشیمی گیاهان دارویی در شرایط کشت سلولی یا کشت بافت انجام شده است و براساس بررسی منابع انجام شده مطالعات کمی در خصوص محلول پاشی اسید جاسمونیک و ارزیابی اثر آن بر خصوصیات کمی و کیفی اسانس گیاهان دارویی و معطر انجام شده است لذا تحقیق حاضر با هدف مطالعه اثر جاسمونیک اسید بر فیتوشیمی گیاه آویشن دناپی به مرحله اجرا درآمد.

## ۲. مواد و روش‌ها

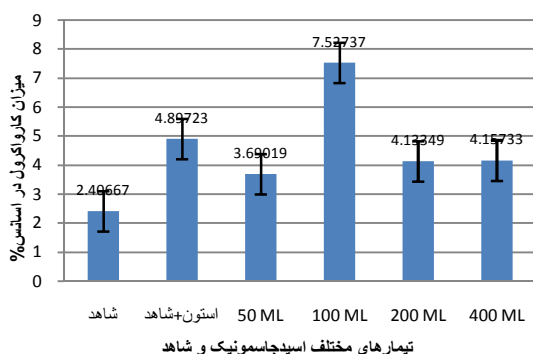
بذور آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Celak.) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. بذرها در گلدان‌های سفید (ارتفاع ۲۰ و قطر ۲۱ سانتی متر) در تاریخ ۴ فروردین ۱۳۹۰ در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد کشت شد. خاک آن‌ها ترکیبی از خاک مزرعه و کود حیوانی به نسبت ۶ به ۱ آماده شد. سپس در اواخر اردیبهشت ماه گلدان‌های حاوی آویشن دناپی پس از تنک کردن در مرحله چهار برگه به فضای مزرعه انتقال داده شدند. منطقه مورد مطالعه در عرض جغرافیایی ۳۲ درجه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه شرقی و ارتفاع ۲۱۰۰ متر از سطح دریا واقع شده است. اقلیم منطقه مطابق با روش آمبرژه نیمه خشک سرد با متوسط بارندگی سالیانه ۳۵۰ میلی متر و متوسط دمای سالیانه ۱۲ درجه سانتی گراد می باشد. تیمارهای آزمایش شامل محلول پاشی با آب مقطر (شاهد)، آب مقطر و حلال استون، ۵۰ میکرومول اسید جاسمونیک (JA)، ۱۰۰ میکرومول، ۲۰۰ میکرومول JA و ۴۰۰ میکرومول JA بودند. اعمال تیمار در مرحله رشد ۸ تا ۱۰ برگه اوایل تابستان و به صورت محلول پاشی هنگام بعدازظهر انجام گرفت. اندام‌های هوایی گیاه در حدود ۴۵ تا ۵۰ روز بعد از اعمال تیمارها در مرحله ۵۰ درصد گلدهی برداشت شد و در سایه در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد گرم‌خانه به دور از نور با شرایط تهویه مناسب به طور کامل خشک شدند. گیاهان خشک شده به وسیله آسیاب برقی، خرد شدند. سپس با استفاده از روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر عمل اسانس گیری انجام شد. سپس عملیات آب-

برخی از داروها را به وجود می‌آورند. به دلیل مشکلات مقاومت عوامل بیماری‌زا به داروهای شیمیایی و عوارض جانبی و ناخواسته آن‌ها، استفاده از عصاره‌های گیاهی و گیاهانی که فعالیت ضد میکروبی دارند در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است (قاسمی، ۱۳۸۸). مواد موثره موجود در داروهای گیاهی به دلیل همراه بودن با مواد دیگر پیوسته از حالت زیستی برخوردارند، لذا در بدن انباشته نمی‌شوند و اثرات جانبی از خود به جای نمی‌گذارند و این امر سبب برتری آن‌ها نسبت به داروهای شیمیایی شده است (قاسمی، ۱۳۸۸). از این رو روش‌هایی که بتواند شناسایی، تولید و افزایش ترکیبات ثانویه را در گیاهان دارویی موجب گردد در حال گسترش می باشد. یکی از جنبه‌های افزایش ترکیبات موثره گیاهان دارویی را می توان کاربرد مواد تنظیم کننده گیاهی دانست. مواد تنظیم کننده رشد گیاهی در تمام جنبه‌های چرخه حیاتی گیاه کاربرد دارد. به طوری که این مواد می توانند اثر عمیقی بر روی واکنش‌های گیاه داشته باشند (Creelman & Mullet, 1997). اسید جاسمونیک و مشتقات آن یعنی متیل جاسمونات تنظیم کننده‌های رشد درونی یا بازدارنده‌های رشد گیاه هستند که نقش کلیدی در رشد، نمو و پاسخ به تنش‌های محیطی ایفا می کنند (Hildmann et al., 1992; Sembdner & Parthier, 1993). این مولکول‌ها منجر به القای فعالیت آنزیم‌های ویژه ای می شوند که واکنش‌های بیوسنتزی مربوط به تولید ترکیبات دفاعی مانند پلی فنل‌ها، آلکالوئیدها و پروتئین‌های مربوط به میکروب‌های بیماری‌زا را کاتالیز می کنند (Martin et al., 2002). جاسمونات‌ها گروهی از ترکیبات ویژه حلقوی سیکلوپنتان می باشند که در دهه ۱۹۶۰ به عنوان متابولیت‌های ثانویه در اسانس گیاه گل یاس یافت شد (قناتی و هم‌کاران، ۱۳۸۹؛ Martin et al., 2002؛ Zhao et al., 2005). اثرات فیزیولوژیکی جاسمونات‌ها در گیاهان بسته به گونه گیاهی، مرحله نمو، نوع جاسمونات و غلظت به کار رفته متفاوت است (Martin et al., 2002). در مطالعه ای (Kim et al., 2005) اثر متیل جاسمونات بر متابولیت‌های ثانویه گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) مشخص شد که محتوای فنول کل پس از اعمال تیمار ۰/۱ و ۰/۵ میلی مول افزایش یافت. دو ترکیب فنلی روزمارینیک اسید و کافنیک اسید که به عنوان ترکیبات آنتی

میزان پاراسیمن در تیمار ترکیبی شاهد و استون از بیشترین میزان (۹٪) و در شاهد کمترین مقدار (۴٪) برخوردار بود (شکل ۳). بین شاهد و محلول پاشی با اسید جاسمونیک در غلظت های مختلف تفاوت معنی داری از لحاظ مقدار ترکیب مذکور حاصل شد. بین تیمارهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومول اسید جاسمونیک اختلاف معنی داری مشاهده نشد. تیمار ۱۰۰ میکرومول اسید جاسمونیک دارای بالاترین میزان (۶٪) پاراسیمن بود.



شکل ۱: میزان تیمول در اسانس پس از اعمال تیمارهای مختلف



شکل ۲: میزان کارواکرون در اسانس پس از اعمال تیمارهای مختلف

از نظر میزان ۸ و ۱ سینئول، بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی داری وجود داشت؛ به طوری که میزان آن در تیمار شاهد از بیشترین میزان و در تیمار ۴۰۰ میکرومول جاسمونیک از کمترین میزان برخوردار بود (شکل ۴).

نتایج در خصوص میزان ترکیب کاروفیلین در اسانس گیاه نشان داد که بین برخی از تیمارهای اختلاف معنی داری وجود ندارد. اما بین تیمارهای مختلف اسید جاسمونیک تیمار ۱۰۰ میکرومول در مقایسه با تیمارهای ۵۰ و ۲۰۰ میکرومول از تفاوت

گیری با استفاده از سولفات سدیم انجام و اسانس ها جهت شناسایی ترکیبات به دستگاه GC مدل Agilent 7890A و GC/MS مدل Agilent 5975C مجهز به ستون موبینه HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میکرون با محدوده دمایی آن ستون از ۶۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی گراد تزریق گردید. شناسایی طیف ها به کمک شاخص باز داری آن ها و مقایسه آن با شاخص های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف های جرمی ترکیبات استاندارد انجام گرفت (Adams, 2007).

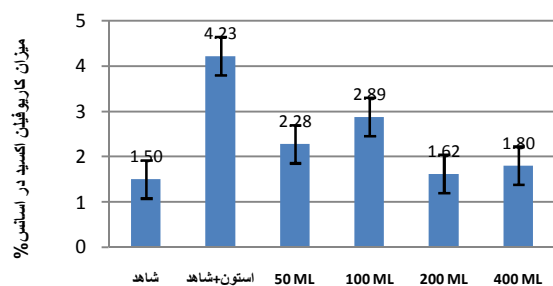
### ۳. نتایج و بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان عملکرد اسانس حاصل از تیمارهای مختلف در دامنه‌ی بین ۰/۸ تا ۰/۹ درصد (حجم به وزن) براساس وزن خشک دارای اختلاف معنی داری نبودند. نتایج تجزیه فیتوشیمیایی اسانس آویشن دناپی در تیمارهای مختلف با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MC) نشان می دهد که مهمترین ترکیبات شناسایی شده در اسانس آویشن دناپی در تیمارهای مختلف عبارت از تیمول، کارواکرون، بتاپینن، پاراسیمن، ۸ و ۱ سینئول، کاروفیلین و کاروفیلین اکسید می باشد. همان گونه که مشخص است تیمارهای مختلف اثر متفاوتی بر برخی ترکیبات ثانویه در اسانس آویشن دناپی داشته است. به طوری که دامنه ترکیب تیمول بین ۳۸ تا ۷۰ درصد، ترکیب کارواکرون ۲/۴ تا ۷/۵ درصد، پاراسیمن بین ۴ تا ۹ درصد، ۸ و ۱ سینئول بین ۲ تا ۱۳ درصد و کاروفیلین اکسید بین ۱/۵ تا ۴/۲ درصد بودند.

بین میزان تیمول در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری ( $p < 0.05$ ) مشاهده شد؛ به طوری که میزان تیمول در تیمار ۱۰۰ میکرومول جاسمونیک از بیشترین میزان (۷۰٪) درحالی که میزان آن در شاهد از کمترین مقدار (۲۳٪) برخوردار بود (شکل ۱).

بین شاهد و تیمارها اختلاف معنی داری به لحاظ میزان کارواکرون در سطح ۵ درصد مشاهده شد؛ به طوری که میزان کارواکرون در تیمار ۱۰۰ میکرومول جاسمونیک از بیشترین میزان (۷/۴٪) درحالی که میزان آن در شاهد از کمترین مقدار (۲/۴٪) برخوردار بود (شکل ۲).

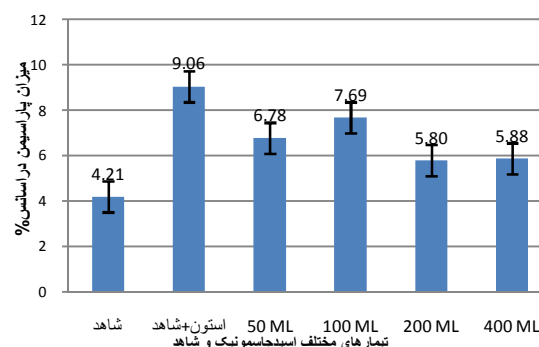
آن در تیمار شاهد (۱/۵٪) به دست آمد. بین تیمارهای اسید جاسمونیک نیز تیمار ۱۰۰ میکرومول اختلاف معنی داری با سایر تیمارها داشت (شکل ۶).



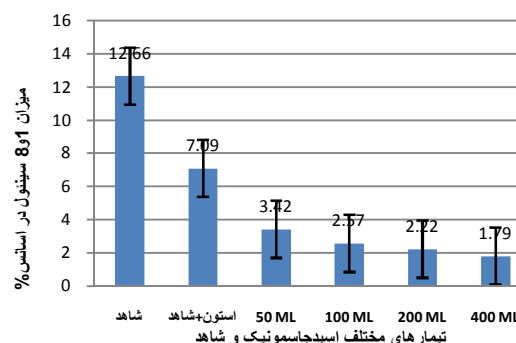
تیمارهای مختلف اسیدجاسمونیک و شاهد

شکل ۶: میزان کاربویکسید در ترکیب اسانس پس از اعمال تیمارهای مختلف جاسمونات‌ها یکی از تنظیم کننده های رشد گیاهی بوده که نقش تحریک کننده یا بازدارنده در گیاهان دارند. اسید جاسمونیک و متیل استر آن (متیل جاسمونات) جزء ترکیبات سیکلوپنتان-پایه‌ی مشتق از اسید لینولنیک هستند که در قلمرو گیاهی پراکنش گسترده‌ای دارند (Hildmann et al., 1992; Mizukami et al., 1993). کاربرد خارجی آن‌ها در گیاهان دارویی مانند آویشن دناپی ممکن است منجر به تغییرات میزان برخی از ترکیبات ثانویه مهم مثل تیمول شود. نتایج این تحقیق با یافته‌های حاصل از پژوهش انجام گرفته در خصوص اثر اسید جاسمونیک بر میزان هیپرسیسین در گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) تا حدودی همخوانی داشت (Hamedi et al., 2012). بیشترین میزان هیپرسیسین مربوط به تیمار ۲۰۰ ماکرولیترا اسید جاسمونیک گزارش شده بود. هم-چنین نتایج موسوی (۱۳۹۰) گزارش کرد که ۱ بین تیمارهای محلول پاشی با اسید جاسمونیک از نظر میزان کارتنوئید و میزان پلی فنل در سطح ۱ درصد و برای میزان فلاونوئید کل در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری مشاهده شد. ایشان پیشنهاد کرد که محلول پاشی جاسمونیک ۱۰۰ میکرولیتر اثرات مطلوبی بر میزان ترکیبات موثره فوق و همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH را در عصاره گل همیشه بهار داشته اند. طاهری و هم‌کاران (۱۳۸۸) گزارش کردند که محلول پاشی متیل جاسمونات در گل سوسن شرقی (*Nymphaea micrantha*) رقم سوربون بر سنتز

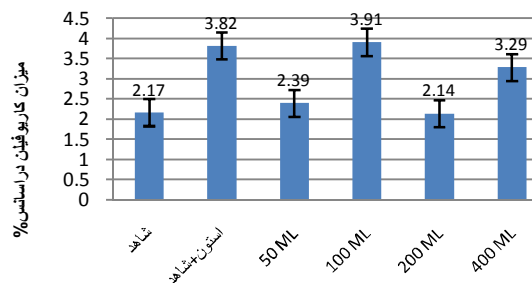
معنی داری برخوردار بود ولی در مقایسه تیمار ۱۰۰ میکرومول با تیمار ۴۰۰ میکرومول اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۵).



شکل ۳: میزان پاراسین در اسانس پس از اعمال تیمارهای مختلف



شکل ۴: میزان ۸-اوسینپول در اسانس پس از اعمال تیمارهای مختلف



تیمارهای مختلف اسیدجاسمونیک و شاهد

شکل ۵: میزان کاربویکسید در ترکیب اسانس پس از اعمال تیمارهای مختلف

همان طور که در شکل ۶ ملاحظه می شود تیمار ترکیبی آب مقطر و استون در مقایسه با سایر تیمارها از تفاوت معنی داری برخوردار بود؛ به طوری که میزان کاربویکسید در تیمار ترکیبی آب مقطر و استون دارای بیشترین میزان (۴/۲٪) و کمترین مقدار

#### ۵. منابع

طاهری، ش.، حاتم زاده، ن.، بخشی، ع.، قاسم نژاد، د. ۱۳۸۸. تأثیر متیل جاسمونات بر سنتز آنتوسیانین در گل سوسن شرقی. ششمین کنگره علوم باغبانی ایران. ۱۳۸۸.

قاسمی، ع. ۱۳۸۸. گیاهان دارویی و معطر، شناخت و بررسی اثرات آن ها. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد. صفحات ۲۵۵، ۴۷۴ تا ۴۷۶.

قناتی، ف.، بختیاران، س.، عبدالملکی، پ.، ۱۳۸۹. تأثیر متیل جاسمونات بر متابولیت‌های ثانویه گیاه همیشه بهار. مجله علوم و فن آوری زیستی مدرس. دوره ۱: ۲۱ تا ۳۳.

موسوی، ع. ۱۳۹۰. اثر محلول پاشی اسید جاسمونیک بر خصوصیات فیتوشیمیایی گل همیشه بهار. پایان نامه کارشناسی ارشد مهندسی کشاورزی-گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد.

Adams RP. 2007. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*, 4th Ed., p. 456, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL.

Creelman, R. A. and Mullet, J. E. 1997. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.*, 48: 355-381.

Hamed, B., Ghasemi Pirbalouti, A. and Moradi, P. 2012. The effect of foliar application of jasmonic acid on hypericin of *Hypericum perforatum* L. *Planta Medica.*, 78 - PF17.

Hildmann, T., Ebneith, M., Peña-Cortés, H., Sánchez-Serrano, J.J., Willmitzer L. and Prat S. 1992. General roles of abscisic acid and jasmonic acid in gene activation as a result of mechanical damage, *Plant Cell.*, 4: 1157-1170.

Kim, H.J., Chen, F., Wang, X. and Rajapakse, N. C. 2005. Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) *Journal of Agriculture and Food Chemistry.*, 53: 3696-3701.

Martin, D., Tholl, D., Gershenzon, J., Bohlmann, J. 2002. Methyl jasmonate induces traumatic resin

رنگریزه آنتوسیانین و ارتباط آن با کیفیت و ماندگاری گل اثرات مطلوبی داشته است. نتایج یک مطالعه حاکی از آن بود که متیل جاسمونات سبب تحریک سیلی مارین در گیاه خارمریم *Silybum marianum* L در کشت سوسپانسیون سلولی شده است. در یک بررسی دیگر جاسمونیک توانست ماده موثره گیاه جینگ سینگ به نام جینسنوزید را در کشت سلولی افزایش دهد (Yu et al., 2002). در این مطالعه نیز نتایج نشان داده شد که اسید جاسمونیک بر میزان ترکیبات و مواد موثره آویشن دنیایی تاثیرگذار بوده به طوری که غلظت‌های مختلف به کار رفته نوع و مقدار ترکیبات ثانویه اسانس را کاهش یا افزایش دادند.

#### ۴. نتیجه گیری

گیاه آویشن دنیایی (*Thymus daenensis* Celak.) یکی از گونه های مهم جنس آویشن است که یکی از گونه های مهم و انحصاری ایران محسوب می شود. این گونه اغلب به صورت وحشی و خودرو در مناطق مرکزی و غرب ایران به خصوص رشته کوه های زاگرس پراکنش دارد. مطالعه بر روی به زراعی و روش های دستیابی به کیفیت و کمیت مطلوب اسانس این گونه ارزشمند از نظر اقتصادی بسیار مهم است. در زراعت متابولیک اگر تولید یک متابولیت هدف به طور مثال تیمول باشد باید با مدیریت های مهم زراعی و فرآوری آن (روش های خشک کردن، اسانس گیری و غیره) به این هدف مهم یعنی افزایش میزان اسانس در قدم اول و میزان تیمول در گام دوم دست یافت. تحقیق حاضر با مطالعه واکنش فیتوشیمیایی گیاه آویشن دنیایی به محلول پاشی یک بازدارنده یا محرک به نام جاسمونیک اسید انجام شده است. با توجه به نتایج این مطالعه ممکن است محلول پاشی اسید جاسمونیک سبب افزایش و یا کاهش برخی متابولیت های ثانویه به خصوص ترکیبات فنلی مهم در اسانس آویشن دنیایی شود.

- ducts, terpenoid resin biosynthesis, and terpenoid accumulation in developing xylem of Norway spruce stems. *Plant Physiology*, 129: 1003-1018.
- Mizukami, H., Tabira, Y. and Ellis, B.E. 1993. Methyl jasmonate-induced rosmarinic acid biosynthesis in *Lithospermum erythrorhizon* cell suspension cultures, *Plant Cell Reports*, 12: 706-709.
- Sanchez-Sampedro, M. A., Fernandez-Tarrago, J. and P. Corchete. 2005. Yeast extract and methyl jasmonate-induced silymarin production in cell cultures of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. *Journal of Biotechnology*. 119: 60 –69.
- Sembdner, G. and Parthier, B. 1993. The biochemistry and the physiological and molecular actions of jasmonates. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 44: 569-589.
- Yu, K.W., Gao, W., Hahn, E.J. and Paek, K.Y. 2002. Jasmonic acid improves ginsenoside accumulation in adventitious root culture of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Biochemistry Engineering Journal*, 11: 211–215.
- Zhao, J., Lawrence, C.D. and Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 23: 283–333.