

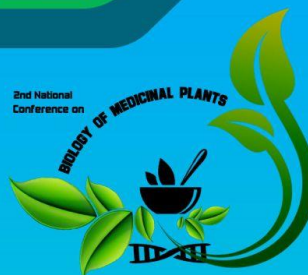
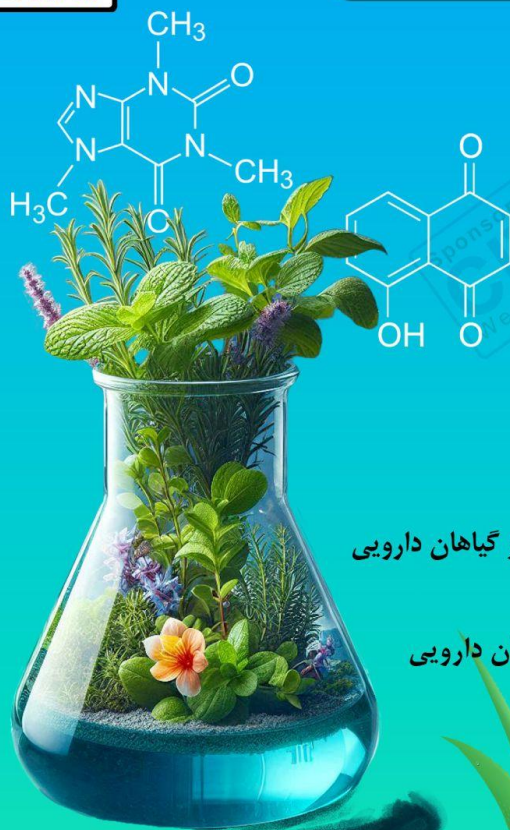




دومین کنفرانس ملی زیست شناسی گیاهان دارویی



The 2nd National Conference
on Biology of Medicinal Plants



محورهای کنفرانس:

- تنوع زیستی و رده بندی گیاهان دارویی
- فیزیولوژی تغذیه و متابولیسم گیاهان دارویی
- بیوشیمی و متابولیت های ثانویه گیاهان دارویی
- رشد و نمو و تکوین گیاهان دارویی
- زیست فناوری و ژنتیک گیاهان دارویی
- مردم گیاه شناسی و سنت های بومی در استفاده از گیاهان دارویی
- زیست شناسی جلبک ها و گلستگ های دارویی
- کاربردهای گیاهان دارویی در صنایع مختلف
- چالش ها و فرصت های پیش روی صنعت گیاهان دارویی

✉ impb2@qom.ac.ir

🌐 impb2.qom.ac.ir

☎ 025-32103081



حامیان علمی کنفرانس



۰۳۲۴۰-۸۹۸۴۵

دانشگاه قم

۸ و ۹ اسفندماه ۱۴۰۳

مجموعه مقالات ارائه شده در

دومین کنفرانس ملی

زیست شناسی گیاهان دارویی

جلد دوم

فیزیولوژی بیوشیمی و تکوین گیاهان دارویی



قطعنامه دومین کنفرانس زیست شناسی گیاهان دارویی، قم ۱۴۰۳

بسم الله الرحمن الرحيم

با یاری خداوند متعال و همیاری انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران و دانشگاه قم، دومین کنفرانس زیست شناسی گیاهان دارویی در روزهای هشتم و نهم اسفند ماه سال ۱۴۰۳ با شرکت متخصصین بین المللی، اعضای هیات علمی دانشگاه‌ها، مراکز و موسسه‌های پژوهشی، کارشناسان و دانشجویان تحصیلات تکمیلی در شهر مقدس قم برگزار شد. ارائه آخرین نوآوری‌ها و دستاوردهای علمی در کنفرانس زیست شناسی گیاهان دارویی در زمینه علوم مرتبط و ارائه راه‌حل‌های مناسب در مورد چالش‌های موجود کشور می‌تواند برای حفظ منابع طبیعی و تنوع زیستی با ارزش کشور و توسعه گیاهان دارویی و بهره‌برداری مناسب جهت ارتقا سطح سلامت جامعه مفید واقع شود.

شرکت کنندگان در این کنفرانس خواهان عنایت بیش از پیش برنامه‌ریزان، مسئولان اجرایی کشور، متخصصین و پژوهشگران به موارد زیر می‌باشند:

- ۱- شرکت کنندگان بر لزوم تدوین واژه نامه و استاندارد سازی واژه های رایج در مورد گیاهان دارویی از جمله تعیین معادل فارسی واژه اتنوباتی در فرهنگستان علوم پس از نظرخواهی از متخصصین ذیربط تاکید نمودند.
- ۲- تحقیق، ریشه یابی و کنکاش مبانی استفاده از گیاهان دارویی توسط موجودات زنده و نیز مستندات موجود در منابع کهن ایرانی و روایات اسلامی مورد تایید شرکت کنندگان قرار گرفت.
- ۳- تمرکز و اصلاح مدیریت بهره برداری از منابع طبیعی گیاهی و کاهش فشار برداشت از رویشگاه‌های طبیعی و رعایت زمان برداشت، جهت حفاظت بهینه از منابع موجود ضروری می باشد.
- ۴- ایجاد سازوکار لازم برای استفاده بهینه از ضایعات کارخانجات و صنایع کشاورزی به عنوان یک منبع ارزشمند تولیدات دارویی و متعاقبا کاهش آلودگی محیط زیستی مورد تایید قرار گرفت.
- ۵- شرکت کنندگان به منظور جلوگیری از خطرات احتمالی شناسایی نادرست گیاهان دارویی ارائه شده در عطاری ها و ارائه بهداشتی گیاهان، بر لزوم داشتن عطاری ها به یک کارشناس فنی رشته علوم گیاهی، قبل از صدور مجوز برای این شغل به عنوان شرط لازم تاکید کردند.
- ۶- شرکت کنندگان در کنفرانس به منظور ساماندهی عطاری ها، بر لزوم ایجاد یا تعیین یک سازمان متولی شبیه نظام پزشکی وزارت بهداشت به منظور صدور مجوز، استاندارد سازی، نظارت بر فعالیت و ایجاد شناسه علمی برای محصولات گیاهی تاکید نمودند.
- ۷- شرکت کنندگان بر لزوم تدوین و بازبینی برنامه درسی و روزآمد کردن سرفصل‌های دروس رشته زیست شناسی گیاهان دارویی تاکید نمودند.



۸- با عنایت به اهمیت حفظ و ارتقای سلامت مردم، لزوم جابه جایی جایگاه مدیریت فرآیند صدور مجوز، علاوه بر مدیریت کنترل و نظارت مستمر عطاری ها از وزارت صمت به وزارت بهداشت، مورد تاکید شرکت کنندگان قرار گرفت.

۹- با عنایت به افزایش روزافزون تولید و تایید داروهای گیاهی استاندارد در کشور، شرکت کنندگان در کنفرانس، گنجاندن واحد درسی داروهای گیاهی را در برنامه درسی رشته های پزشکی و داروسازی و برگزاری کارگاه های آموزشی مستمر در این خصوص مورد تاکید قرار دادند.

تمامی شرکت کنندگان از جمله اعضای هیأت مدیره انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران از همکاری های همه جانبه و مجدانه ریاست محترم، معاونین محترم، مدیران، اعضای هیات علمی، دانشجویان و کارکنان دانشگاه قم و مسئولین و مدیران محترم اجرایی شهر و استان قم در برگزاری شایسته دومین کنفرانس زیست شناسی گیاهان دارویی که زمینه تبادل یافته های علمی و پژوهشی صاحب نظران این حوزه را فراهم آوردند، صمیمانه قدردانی می نمایند.



تیم اجرایی همایش

رئیس کنفرانس: دکتر احمدحسین شریفی (ریاست محترم دانشگاه)

رئیس شورای سیاستگذاری: دکتر یعقوب نوروزی (معاون محترم پژوهشی دانشگاه)

دبیر علمی: دکتر مرتضی یوسف زادی (m.yousefzadi@qom.ac.ir; morteza110110@gmail.com)

دبیر اجرایی: دکتر رضا شیخ اکبری مهر (r.sheikhakbaei@qom.ac.ir; reza.sheikhakbari@gmail.com)

کمیته علمی همایش

نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	رشته تخصصی	سازمان
مرتضی یوسف زادی	استاد	فیزیولوژی گیاهی	دانشگاه قم
فائزه قناتی	استاد	فیزیولوژی گیاهی	دانشگاه تربیت مدرس
محسن شریفی	استاد	فیزیولوژی گیاهی	دانشگاه تربیت مدرس
علی اکبر احسانپور	استاد	فیزیولوژی گیاهی	دانشگاه اصفهان
منصور شریعتی	استاد	فیزیولوژی گیاهی	دانشگاه اصفهان
پرژک ذوفن	دانشیار	فیزیولوژی گیاهی	شهید چمران اهواز
محمود نصراله زاده	دانشیار	شیمی آلی	دانشگاه قم
رضا شیخ اکبری مهر	استادیار	سیستماتیک گیاهی	دانشگاه قم
پرویز ملک زاده	دانشیار	فیزیولوژی گیاهی	دانشگاه قم
امیرحسین بیکی	استادیار	ژنتیک گیاهی	دانشگاه قم
فریده عطار	استاد	سیستماتیک گیاهی	دانشگاه تهران
محمد حسین میرجلیلی	دانشیار	گیاهان دارویی	دانشگاه شهید بهشتی
صمد نژاد ابراهیمی	دانشیار	فیتوشیمی	دانشگاه شهید بهشتی
مریم شهبازی	دانشیار	فیزیولوژی گیاهی	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
مهناز اقدسی	دانشیار	فیزیولوژی گیاهی	دانشگاه گلستان
منصور افشار محمدیان	دانشیار	فیزیولوژی گیاهی	دانشگاه گیلان
جواد توکلی	دانشیار	فیزیولوژی گیاهی	دانشگاه زنجان
فاطمه علی اصل	استادیار	داروسازی سنتی	دانشگاه علوم پزشکی قم
فاطمه نوجوان	استادیار	طب سنتی	دانشگاه علوم پزشکی قم
ابراهیم چراغی	دانشیار	سلولی و تکوین	دانشگاه قم
شاهرخ کاظم پور اوصالو	استاد	گیاهشناسی	دانشگاه تربیت مدرس
فرخ قهرمانی نژاد	استاد	گیاهشناسی	دانشگاه خوارزمی
علیرضا یآوری	استادیار	گیاهان دارویی	دانشگاه هرمزگان
حسنعلی نقدی بادی	دانشیار	زراعت گیاهان دارویی	دانشگاه شاهد
علی سنبل	استاد	گیاهان دارویی	پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی



فهرست مطالب

فیزیولوژی بیوشیمی و تکوین گیاهان دارویی.....	۱
اثر تنش آبی و قارچ میکوریزا بر تنظیم کننده های اسمزی گیاهان دارویی.....	۲
پاسخ گیاه دارویی نعنای فلفلی به محلولپاشی پلورآمین تحت شرایط کمآبی.....	۸
تأثیر خصوصیات خاک بر ترکیبات فیتوشیمیایی اسانس گیاه پولک (<i>Stachys inflata Benth.</i>) جمع آوری شده از دو منطقه واقع در روستای کوهانی نهاوند.....	۱۵
اثر کاربرد سیلیکون بر جوانه زنی کاهو (<i>Lactuca sativa L.</i>) تحت تنش شوری.....	۲۱
بررسی ترکیبات اصلی اسانس چهارگونه دارویی (خاکشیر ایرانی، شوید، زیره سیاه ایرانی، بادرنجبویه) مورد استفاده در درمان سنتی بیماری های گوارشی در شهرستان بجنورد.....	۲۷
درمان کبد چرب با استفاده از گیاهان دارویی.....	۴۰
تأثیر علفکش DCMU بر متابولیسم ترکیبات فنلی در دونالیلا سالیانا.....	۴۹
نقش دارویی و غذایی و مشکلات پس از برداشت قارچ خوراکی <i>Agaricus bisporus</i>	۵۶
مروری بر کاربردهای هوش مصنوعی در بهبود تولید و کیفیت گیاهان دارویی.....	۷۸
سیلیمارین: گزینه ای نوین در مدیریت بیماری های کبدی و سرطان.....	۸۵
گزنه گیاهی باستانی با خواص مدرن – بررسی جامع کاربردها و فواید درمانی.....	۹۲
گیاهان حاوی افرین یک داروی بی خطر در درمان چاقی و اضافه وزن.....	۱۰۰
کومارین در دانه تونکا: پل میان طب سنتی و علم مدرن.....	۱۰۷
پروپایل فیتوشیمیایی و ویژگی های دارویی گیاه آویشن (<i>Thymus spp.</i>).....	۱۱۴
بررسی اثر اکتینو باکتریهای جداسازی شده از ریزوسفر بر رشد گیاه گل گاوزبان.....	۱۳۴
استخراج ترکیبات فنلی با استفاده از حلال های اتکتیک عمیق.....	۱۴۱
تأثیر کاربرد زئولیت بر رشد و مقدار موسیلاژ گیاه دارویی پنیرک (<i>Malva sylvestris</i>).....	۱۵۰
اثر همزیستی قارچ میکوریزا بر برخی صفات کمی گیاه مشکک، در شرایط کمآبی.....	۱۵۸
بررسی فیتوشیمیایی گونه های گیاه سس (<i>Cuscuta</i>) در شمال ایران.....	۱۶۷
تأثیر طیف های مختلف نور بر خصوصیات روزنه ای برگ گیاه بادرشویه (<i>Dracocephalum moldavica L.</i>).....	۱۷۶
بررسی برخی پارامترهای فیتوشیمیایی گیاه عشقه (<i>Hedera</i>) در شمال ایران.....	۱۸۱
مطالعه استخراج اسانس و تعیین ترکیبات مهم آن در گیاه زعفران کشت شده در استان لرستان.....	۱۹۰
تأثیر عصاره انار بر دیابت ایجاد شده در موش های سوری.....	۱۹۹
مقایسه مقدار فنل کل و فلاوونوئید در اکوتیپ های گیاه دارویی چای کوهی (<i>Stachys lavandulifolia</i>) تحت تنش پرتو یونانفش B.....	۲۰۹
ارزیابی ارتباط بین پلی آمین ها و تنش سرب در بهبود عملکرد گیاه مریم گلی (<i>Salvia officinalis L.</i>).....	۲۱۶
مسکالین یک ترکیب دارویی و روانگران در کاکتوس.....	۲۲۶
ازدیاد قلمه ریشه گیاه دارویی انار شیطان.....	۲۳۴
اثر آپیزنین بر بیان پروتئین TNF- α در بیضه موش های تیمار شده با کادمیوم.....	۲۴۴



- ارزیابی ارتباط بین پلی آمین ها و تنش سرب در بهبود عملکرد گیاه بادرنبویه (*Melissa officinalis* L.) ۲۴۹
- اثر عصاره آبی گیاه ختمی (*A. officinalis* L.) بر روی سلول های سرطانی پستان از طریق تغییر پتانسل ردوکس ۲۵۹
- بررسی اثرات کادمیم بر شاخص های جوانه زنی و بنیه بذر گیاه دارویی پنیرک (*Malva sylvestris* L.) ۲۶۸
- ارزیابی ریسک گسترش آلودگی صنعتی بر روی گیاهان دارویی با استفاده از رویکرد اکولوژی انسانی ۲۸۰
- تکوین گرده در گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) از تیره نعنائیان ۲۸۸
- بررسی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاه زیره سبز تحت تنش خشکی و محلول پاشی نانوذره سیلیکون ۳۰۱
- بهینه سازی فرآیند استخراج روغن از بادام تلخ (*Prunus amygdalus* var. *amara*): بررسی تأثیر روش های مختلف و پیش تیمارها بر کیفیت و بازده ۳۰۸
- اثر عصاره الکلی گیاه ختمی (*Althaea officinalis* L.) بر روی سلول های سرطانی پستان از طریق تغییر پتانسل ردوکس ۳۱۹
- مقایسه تاثیر مالاشیت گرین و کریستال ویوله بر جوانه زنی زیرین گیاه (*Dracocephalum kotschi*)، تحت تنش H_2O_2 ۳۲۸
- تاثیر پرایمینگ بذر گیاه دارویی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*) با ZnO-NPs بر شاخص های جوانه زنی تحت تنش شوری ۳۳۵
- بهبود جوانه زنی و طول گیاهچه گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum*) با محیط غذایی جاسون، تحت تنش خشکی ۳۴۲
- بررسی ترکیبات تشکیل دهنده اندام هوایی گیاه سوزن چوپان (*Erodium oxyrhynchum*) جمعآوری شده از منطقه رویشی قاین ۳۴۸
- بررسی تاثیر محلولپاشی برخی محرک های زیستی بر کاروتنوئید و رنگیزه های فتوسنتزی اسطوخودوس (*Lavendula angustifolia* L.) ۳۵۸
- نیکوتین: شمشیری دو لبه در عرصه سلامت و اعتیاد ۳۶۸
- عوامل مؤثر بر رشد و افزایش متابولیت های ثانویه در گیاهان دارویی کشت شده به روش هیدروپونیک ۳۷۹
- بررسی سنجش خواص ضد میکروبی عصاره گزنه به روش های چاهک، قطرهاله عدم رشد، خیساندن در اتانول و احیا رادیکال آزاد (DPPH) ۳۸۷
- سنجش و بررسی محتوای کلروفیل، کاروتنوئید و آنتوسیانین در دو گونه سنبله کوهسری (*Stachys acerosa*) و سنبله ارغوانی (*Stachys inflata*) ۴۰۱
- ارزیابی رشد و عملکرد گیاه نعناع فلفلی تحت تأثیر نیتروژن و دمای آب آبیاری ۴۱۰
- تاثیر کلرید سدیم و پتاسیم بر آنزیم های آنتی اکسیدانی دانه کلزای تیمار شده با نمک های کلریدی ۴۱۶
- اثر تعدیلی پوترسین بر ویژگی های متابولیکی و فیزیولوژیکی گیاه آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) تحت تنش کم آبی ۴۲۹
- بررسی تاثیر سلنیوم بر افزایش عملکرد مرزه (*Satureja hortensis* L.) ۴۴۴
- تأثیر کاربرد پروتئین های هیدرولیز شده گیاهی بر شاخص های رشدی، میزان کلروفیل و اسانس گیاه دارویی آگاستاکه (*Agastache foeniculum*) تحت شرایط تنش خشکی ۴۴۹



پاسخهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و آنتیاکسیدانی آگاستاکه (*Agastache foeniculum*) به کاربرد پروتئینهای هیدرولیز شده گیاهی تحت تنش خشکی ۴۵۵

تأثیر میدان الکترومغناطیس بر رشد، ساختار تشریحی و برخی ویژگیهای فیزیولوژیکی-آنتی اکسیدانی گیاه دارویی زبیا (*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague) ۴۶۱

تأثیر نانوتیوبهای کربنی عامل دار شده با کربوکسیلیک اسید بر تولید وین بلاستین و وین کریستین در گیاه دارویی L. *Catharanthus roseus* ۴۷۷

بررسی اثرات همزمان تنش کادمیوم و محلول پاشی پوترسین بر خصوصیات رشدی ریحان (*Ocimum basilicum*) ۴۸۸

مروری بر خصوصیات گیاه شناسی، فیتوشیمیایی و فارماکولوژیکی گیاه دارویی به لیمو (*Aloysia citrodora*) ۴۹۴

بررسی اثر رویشگاه بر روی تنوع مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی جمعیت های *Artemisia sieberi* Besser ۵۰۲

مکانیسم اثر و نقش شاخص های مقاومت به تنش در گیاهان دارویی و تولید اسانس ۵۱۱

تأثیر اسیدسالیسیلیک بر برخی ویژگی های فیزیولوژیک زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.) تحت تنش شوری ۵۱۹

بررسی متابولیت ها و اثرات دارویی گیاه گزنه سفید *Lamium album* L. subsp. *Crinitum* در رویشگاه طبیعی دره تنگ شهرستان الشتر ۵۲۹

ارزایی کربن کوانتوم دات در بهبود پاسخ های بیوشیمیایی و متابولیت های ثانویه آویشن دناپی در شرایط تنش شوری ۵۳۶

افزایش تولید متابولیت های ثانویه و سازگاری بیوشیمیایی اسطوخودوس تحت تنش خشکی با استفاده از نانوذرات منگنز ۵۴۲

اثر نهاده های تغذیه ای مختلف بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی زیره سبز در شرایط کم آبیاری ۵۴۹

تأثیر نانو کلات کامل بر برخی از خصوصیات بیوشیمیایی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) ۵۵۸

تأثیر تنش شوری بر آنتیاکسیدانهای آنزیمی و غیر آنزیمی گیاه گل مغربی صورتی (*Oenothera speciosa* Nutt.) ۵۶۸

اثر کیتوزان بر میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در کشت کالوس گیاه خار مریم ۵۷۶

مکانسیم های بیوشیمیایی زعفران (*Crocus Sativus* L.) در درمان بیماری ها ۵۸۱

مطالعه ای ترپنوئیدهای گیاه دارویی *Jubertia aucheri* ۵۸۹

بررسی میزان فنول، فلاونوئید، آنتوسیانین و ظرفیت آنتیاکسیدانی عصاره زغال اخته ۵۹۷

زعفران و زردچوبه دو گیاه دارویی در درمان افسردگی ۶۰۳

سنجش برخی متابولیت های ثانویه گیاه دارویی آوندول در دو مرحله مختلف تکوینی ۶۱۰

سنجش میزان فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی دو مرحله تکوینی در گل راعی ۶۱۷

بررسی مقادیر فنول و فلاونوئید کل دو مرحله تکوینی گیاهان دارویی *Allium jesdianum* و *Nectaroscordum tripedale* ۶۲۳

مطالعه ای خواص ضدباکتریایی گیاه دارویی *Jubertia aucheri* ۶۲۹

بررسی شاخص های بیوشیمیایی جمعیت های آویشن زوفایی در استان ایلام ۶۳۵

تأثیر شرایط اقلیمی بر روی رنگیزه های فتوسنتزی آویشن زوفایی ۶۴۲

تأثیر بیوپار بر روی گیاهان دارویی ۶۴۸

تأثیر آب مغناطیسی شده و هوادهی ریشه بر جذب مواد غذایی توسط گیاهان ۶۶۱



مقایسه عملکرد سیستم آنتی اکسیدانت اکوتیپ های گیاه دارویی *Nepeta Crassifolia* تحت تنش شدت نور بالا و پرتوافرنش ۶۶۸

بهینه سازی استخراج وزیکولهای خارج سلولی پوست برگ گیاه آلوئه ورا ۶۷۹

مطالعه مروری پرتو یونیزه کننده گاما و کاربرد آن در نگهداری محصولات پس از برداشت ۶۸۴

بررسی اکوفیزیولوژی، ترکیبات دارویی و مصارف صنعتی گیاه هلپه (*Teucrium polium* L.) ۶۹۰

بررسی تأثیر محلول پاشی ملاتونین بر ویژگی های فیزیولوژیکی ریحان در شرایط تنش شوری ۶۹۷

بررسی اثر نانوکمپلکس های سیلیکون، بر خصوصیات مورفو-فیتوشیمیایی و جذب عناصر معدنی در آویشن شیرازی *Zataria multiflora* Boiss. ۷۰۵

تأثیر بیوچار بر مقاومت به تنش شوری در گیاهان ۷۲۰

مقایسه عملکرد فلورسانس کلروفیل اکوتیپ های گیاه دارویی *Stachys lavandulifolia* تحت تنش پرتوافرنش ۷۲۸

اهمیت رنگدانه های فتوسنتزی گیاه اسفناج در سلامت انسان، خواص دارویی و پایداری محیط زیست ۷۳۹

مروری بر اثرات نسترن کوهی و محصولات جانبی آن در بیماری های مختلف انسان ۷۴۶

اثر سیلیکون بر خصوصیات مورفو-فیتوشیمیایی به لیمو (*Lippia citriodora*) تحت تنش خشکی ۷۵۵

اثر منیزیم و اسید سالیسیلیک بر رشد و تولید برخی مواد موثره در گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) ۷۶۲

اثر نانوذرات نقره بر محتوای رزمارینیک اسید و تغییرات فعالیت و بیان ژن آنزیم های کلیدی مسیر بیوسنتز آن در *L. Salvia officinalis* ۷۶۹

اثرات درمان با عصاره آبی الکلی مریم نخودی بر درد دهانی صورتی القا شده با فرمالین در موشهای صحرایی ۷۸۱

ارزایی فعالیت آنتی اکسیدانی چهار گونه بومادران (*Achillea* spp.) با روش های مختلف ۷۸۸

نانوامولسیون های روغن در آب حاوی بربرین در روغن زیتون: مکانیسم های اتصال به آلبومین سرم انسانی یا هولوترانسفرین و شبیه سازی های QMMD ۷۹۶

بررسی اثر بیوچار و تغذیه گوگردی بر خصوصیات موفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی مرزه ۸۱۱

استفاده از محرک های زیستی، راهکاری مناسب جهت افزایش مقاومت گیاهان به تنش آبی ۸۱۹

آنالیز شیمیایی و شناسایی ترکیبات غالب اسانس گیاه دارویی گل بی مرگ (*Helichrysum ocephalum*) ۸۲۴

بررسی میزان ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی گیاه *Centaurea balsamita* ۸۳۲

بررسی پروفایل فنولی و سمیت سلولی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) تحت تیمار الیستورهای زیستی ۸۴۳

تأثیر ترامادول و متادون بر سلامت ارگان های بدن: یک مرور سیستماتیک ۸۵۱

ترکیبات شیمیایی و اثرات درمانی شیرین بیان (liquorice) در انسان ۸۶۱

تعیین دماهای بهینه بذور گیاه دارویی کاپاریس (*Capparis spinosa*) در مرحله جوانه زنی ۸۶۸

تأثیرات ضد درد و ضدالتهابی آلكالوئیدهای تاتوره: یک مرور جامع بر خواص و کاربردها ۸۷۴



فیزیولوژی بیوشیمی و تکوین گیاهان دارویی



اثر تنش آبی و قارچ مایکوریزا بر تنظیم کننده های اسمزی گیاهان دارویی

علی رحیمی^{۱*}، محمدرضا چاکراالحسینی^۲، یوسف عسکری^۱

^{۱*} بخش تحقیقات جنگلها، مراتع و آبخیزداری، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کهگیلویه و بویراحمد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران. (rahimi.ali1362@yahoo.com)

^۲ بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کهگیلویه و بویراحمد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران.

^۱ بخش تحقیقات جنگلها، مراتع و آبخیزداری، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کهگیلویه و بویراحمد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران.

چکیده

گیاهان دارویی در محیط، دائماً در معرض تنش قرار می گیرند و برای سازگاری با این شرایط، تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در ترکیب های خود از جمله تغییر در تنظیم کننده های اسمزی پرولین و قندهای محلول ایجاد می کنند تا با این تنش ها مقابله نمایند. قندهای محلول نیز به عنوان یکی از مواد اسمزی نقش چشمگیری در ثبات غشاهای سلولی و حفظ تورژسانس سلول ها دارند. در حقیقت، در گیاهانی که قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی تجمع می یابند، تنظیم اسمزی بهتر صورت می گیرد. وقتی پتانسیل آب خاک کاهش می یابد، گیاهان دارویی برای حفظ قدرت جذب آب باید پتانسیل آب درونی را به قدری کاهش دهند تا به یک شیب مطلوب برسند. برای ایجاد جریان آب از خاک به داخل ریشه ها، مهمترین مکانیسم، تنظیم اسمزی نامیده می شود که گیاه پتانسیل اسمزی را توسط انباشتگی فعال یون های آلی یا مواد محلول کاهش می دهد. مواد محلولی که در تنظیم اسمزی نقش دارند، شامل یون های غیر آلی (مثل پتاسیم، کلسیم و کلر) یا ترکیبات غیر یاردار آلی مثل پرولین و یا قندهای محلول هستند. با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده می توان دریافت که تنش آبی به دلیل کاهش جذب آب و عناصر غذایی گیاه و ایجاد اختلال در عمل روزه ها و سیستم فتوسنتزی، موجب افزایش تنظیم کننده های اسمزی (پرولین و کربوهیدرات) گیاهان مختلف شده است و قارچ مایکوریزا به دلیل افزایش جذب آب و مواد غذایی و انتقال بهتر این مواد در اندام گیاهی و همچنین افزایش فتوسنتز گیاه منجر به ساخته شدن مواد فتوسنتزی بیشتر و موجب کاهش تنظیم کننده های اسمزی (پرولین و کربوهیدرات) گیاهان مختلف شده است.

واژگان کلیدی: پرولین، تنظیم کننده های اسمزی، قندهای محلول، کمبود آب، گیاهان دارویی، مایکوریزا



۱. مقدمه

گیاهان در محیط، دائماً در معرض تنش قرار می گیرند و برای سازگاری با این شرایط، تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در ترکیب های خود از جمله تغییر در تنظیم کننده های اسمزی پرولین و قندهای محلول ایجاد می کنند تا با این تنش ها مقابله نمایند. قندهای محلول نیز به عنوان یکی از مواد اسمزی نقش چشمگیری در ثبات غشاهای سلولی و حفظ تورژسانس سلول ها دارند. در حقیقت، در گیاهانی که قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی تجمع می یابند، تنظیم اسمزی بهتر صورت می گیرد. بر اساس اظهارات (Aliasgharzad et al., 2006) وقتی پتانسیل آب خاک کاهش می یابد، گیاهان برای حفظ قدرت جذب آب باید پتانسیل آب درونی را به قدری کاهش دهند تا به یک شیب مطلوب برسند. برای ایجاد جریان آب از خاک به داخل ریشه ها، مهمترین مکانیسم، تنظیم اسمزی نامیده می شود که گیاه پتانسیل اسمزی را توسط انباشتگی فعال یون های آلی یا مواد محلول کاهش می دهد. مواد محلولی که در تنظیم اسمزی نقش دارند، شامل یون های غیر آلی (مثل پتاسیم، کلسیم و کلر) یا ترکیبات غیر یاردار آلی مثل پرولین و یا قندهای محلول هستند (Aliasgharzad et al., 2006). در مطالعه اثر اعمال تنش خشکی در گونه های چچم (*Lolium Perenne*, *Festucarubral*) دریافتند که همزمان با کاهش محتوای نسبی آب، تجمع بیشتری از پرولین مشاهده شد، در حالی که در تیمار شاهد، میزان پرولین بدون تغییر ماند (Bendruska and Jozwiak, 2010). (رضاپور و همکاران، ۱۳۹۰) دریافتند که تحت تنش خشکی میزان دو تنظیم کننده اسمزی قندهای محلول و پرولین گیاه سیاه دانه افزایش و از درصد اسانس و عملکرد اسانس دانه کاسته شد. یکی از مهمترین چالش ها در تولید گیاهان دارویی، عدم آگاهی از اثر عوامل محیطی است که گیاهان دارویی را تحت تنش قرار می دهد و از سویی، نظر به تأثیر قارچ مایکوریزا بر تعدیل تأثیر برخی تنش ها، از جمله تنش آبی، در این پژوهش به بررسی اثر تنش آبی و قارچ مایکوریزا بر تنظیم کننده های اسمزی گیاهان پرداخته می شود.

۲. مواد و روش ها

نویسنده با استفاده از نتایج یافته های بدست آمده از مطالعات و تحقیقات مرتبط و با کمک و استنادات از سایت های نشریات علمی معتبر و مرتبط و نیز کتب سایر محققین برای ارزیابی و مقایسه با استفاده از نظریه ها، ایده ها و تحقیقات مرتبط، به موضوع اثر تنش آبی و قارچ مایکوریزا بر تنظیم کننده های اسمزی گیاهان پرداخته است.

۳. نتایج

نتایجی نشان دادند تنش آب باعث افزایش پرولین آویشن شد (Bahrinejad et al., 2013). (علی آبادی فراهانی و همکاران، ۱۳۸۶) دریافتند که اثر تنش خشکی بر میزان تجمع پرولین گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. بیشترین میزان تجمع پرولین در شرایط تنش بدست آمد. تأثیر قارچ مایکوریزا بر میزان تجمع پرولین معنی دار نبود. نتایج این آزمایش نشان داد که میزان پرولین در شرایط تنش خشکی افزایش یافت. (جلیلوند و همکاران، ۱۳۹۰) نشان دادند که تنش خشکی اثر معنی داری بر انباشت پرولین گیاه مرزه داشت و با افزایش تنش خشکی، میزان



پرولین برگ افزایش یافت. تلقیح با قارچ میکوریزا (*Glomus etunicatum* و *Glomus versiformis*)، میزان پرولین برگ گیاه را در شرایط تنش خشکی در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده به طور معنی داری کاهش داد. نتایج حاصل از پژوهشی دیگر نشان داد که با افزایش تنش خشکی، میزان پرولین گیاه گشنیز، بطور معنی داری افزایش یافت (احمدیان و نورزاد، ۱۳۹۳). تأثیر تنش خشکی بر پرولین گیاه دارویی بادرنجبویه در سطح یک درصد معنی دار بود. مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بیشترین تجمع پرولین مربوط به تیمار ۲۰ درصد ظرفیت زراعی بود. نتایج این بررسی نشان داد که گیاه برای مقاومت به خشکی مقدار پرولین را افزایش می دهد (عباسزاده و همکاران، ۱۳۸۶).

تجزیه آماری داده های یک بررسی نشان داد که تنش خشکی تأثیر معنی داری بر میزان تنظیم کننده اسمزی پرولین گیاه دارویی سیاه دانه دارد، به طوری که تحت تنش خشکی میزان تنظیم کننده اسمزی پرولین افزایش یافت (رضاپور و همکاران، ۱۳۹۰). نتایج یک بررسی نشان داد که در پاسخ به تنش خشکی، فرآیندهای تنظیم اسمزی در گیاه مرزه فعال شد و میزان پرولین در برگ ها افزایش یافت. تلقیح با قارچ میکوریزا، میزان پرولین برگ را کاهش داد (اسماعیل پور و همکاران، ۱۳۹۲). نتایج یک بررسی نشان داد که تنش خشکی، کود زیستی نیتروژنه و برهمکنش آنها بر تمام صفات گیاه دارویی همیشه بهار تأثیر معنی داری داشت، به طوری که با افزایش سطح خشکی، محتوی پرولین افزایش یافت. بیشترین محتوی پرولین، زمانی حاصل شد که از کود زیستی بصورت بذرمال استفاده شد (جعفرزاده و همکاران، ۱۳۹۳). میزان پرولین گیاه گندم نیا (*Aegilops triuncialis*) با افزایش تنش خشکی افزایش یافت (تقی پور و همکاران، ۱۳۹۳). در آزمایشی، افزایش سطح تنش خشکی بر میزان پرولین در بافت سبز برگ گیاه دارویی بابونه افزود. نتایج نشان داد که برای مقاومت به خشکی مقدار پرولین افزایش می یابد (آرمجو و همکاران، ۱۳۸۹). نتایج تجزیه های آماری نشان داد که تنش خشکی اثر معنی داری بر انباشت پرولین آویشن (*Thymus vulgaris* L.) داشت. با افزایش تنش خشکی میزان پرولین افزایش یافت (بابایی و همکاران، ۱۳۸۹). همچنین بر اساس نتایج آزمایشی، تنش خشکی باعث افزایش میزان پرولین شد. میکوریزا باعث افزایش معنی دار صفات مورد بررسی گردید. اثر متقابل میکوریزا و تنش خشکی بر میزان پرولین معنی دار نبود. کاربرد هر دو گونه قارچ *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae* تأثیر بیش تری نسبت به عدم کاربرد روی صفت اندازه گیری نشان داد. تأثیر کاربرد هر دو گونه قارچ *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae* تقریباً یکسان بود (سلطانیان و تدین، ۱۳۹۴).

تأثیر تنش خشکی بر میزان پرولین گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) معنی دار بود، به طوری که تنش شدید، پرولین برگ را به میزان ۳۶ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. قارچ های میکوریزا (*G. versiform*, *G. mosseae*, *G. intraradices*)، بر میزان پرولین برگ تأثیر معنی داری نداشت (بیژنی و همکاران، ۱۳۹۴). نتایجی نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، میزان پرولین برگ تره فرنگی و دو توده تره ایرانی افزایش یافت، ولی میزان پرولین در گیاهان میکوریزایی کمتر بود که می تواند به دلیل کاهش تنش توسط قارچ میکوریزا در گیاه باشد (قاسم جوکار و همکاران، ۱۳۹۴). نتایج یک بررسی نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش پرولین در گیاه ماش سبز (*Vigna radiate* L.) *Gram Green* گردید، اما قارچ میکوریزا باعث کاهش صفات مذکور شد (Prabhu et al., 2013). میزان پرولین در گیاه گوش خر صحرایی (*Knautia arvensis*) در پاسخ به شرایط تنش خشکی افزایش نشان داد، اما تجمع کمتری از پرولین در گیاه تلقیح شده با قارچ میکوریزا



نسبت به گیاه غیر مایکوریزایی بود (Doubková et al., 2013). در گیاه دارویی بادرنجبویه، تأثیر تنش خشکی بر قندهای محلول در سطح یک درصد معنی دار بود. مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بالاترین مقدار قند محلول متعلق به تیمار ۶۰ درصد ظرفیت زراعی بود. نتایج این بررسی نشان داد که گیاه برای مقاومت به خشکی مقدار قندهای محلول را افزایش می دهد (عباس - زاده و همکاران، ۱۳۸۶). نتایج حاصل از پژوهشی نشان داد که با افزایش تنش خشکی، میزان کربوهیدرات گیاه گشنیز، بطور معنی داری افزایش یافت (احمدیان و نورزاد، ۱۳۹۳). در آزمایشی، بالا رفتن سطح تنش خشکی بر میزان کربوهیدرات در بافت سبز برگ گیاه دارویی بابونه افزود. نتایج نشان داد که برای مقاومت به خشکی مقدار کربوهیدرات افزایش می یابد (آرمزجو و همکاران، ۱۳۸۹). همچنین در یک بررسی دیگر، تحت تنش خشکی میزان تنظیم کننده اسمزی کربوهیدرات گیاه دارویی سیاه دانه افزایش یافت (رضاپور و همکاران، ۱۳۹۰). نتایجی نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی، قندهای محلول گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) افزایش یافت (جعفرزاده و همکاران، ۱۳۹۳). تأثیر تنش خشکی بر میزان کربوهیدرات گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) معنی دار بود، به طوری که تنش شدید، کربوهیدرات برگ را به میزان ۳۶/۰۴ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. قارچ های مایکوریزا (*G. intraradices*, *G. versiform*, *G. mosseae*)، بر میزان قندهای محلول برگ تأثیر معنی داری نداشت (بیژنی و همکاران، ۱۳۹۴). نتایج یک بررسی نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش قند محلول، پرولین و محتوای آب نسبی در ماش سبز (*Gram Green (vigna radiata* L.) گردید، اما قارچ مایکوریزا باعث کاهش صفات مذکور شد (Parba et al., 2013). نتایج یک بررسی نشان داد که بیشترین میزان قند محلول گیاه دارویی پروانش (*Periwinkle (Catharanthus roseus* L.) در شرایط تلقیح با قارچ مایکوریزا *G. versiform* حاصل شد (Rehmatzadeh and Kazemitabar, 2013). در یک تحقیقی تنش کمبود آب در گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) میزان قند محلول را کاهش داد، در صورتی که تلقیح قارچ مایکوریزا با گیاه مرزنجوش، تأثیری بر قند محلول نداشت و گیاه تلقیح شده با قارچ مایکوریزا مقاومت بیشتری به تنش خشکی نشان داد (Khalil and Neumani, 2015).

۴. بحث و نتیجه گیری

بنابراین با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده می توان دریافت که تنش آبی به دلیل کاهش جذب آب و عناصر غذایی گیاه و ایجاد اختلال در عمل روزه ها و سیستم فتوسنتزی، موجب افزایش تنظیم کننده های اسمزی (پرولین و کربوهیدرات) گیاهان دارویی مختلف شده است و قارچ مایکوریزا به دلیل افزایش جذب آب و مواد غذایی و انتقال بهتر این مواد در اندام گیاهی و همچنین افزایش فتوسنتز گیاه منجر به ساخته شدن مواد فتوسنتزی بیشتر و موجب کاهش تنظیم کننده های اسمزی (پرولین و کربوهیدرات) گیاهان دارویی شده است.

منابع

احمدیان، ا. و س. نورزاد. ۱۳۹۳. بررسی تأثیر تنش کم آبی و مراحل برداشت بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) در شرایط تربت حیدریه. نشریه بوم شناسی کشاورزی، ۶ (۱): ۱۳۰-۱۴۱.



- آرزمجو، ا.، م. حیدری، ا.، قنبری، ب. سیاهسر، ا. احمدیان. ۱۳۸۹. تأثیر سه نوع کود بر درصد اسانس، رنگدانه‌های فتوسنتزی و تنظیم-کننده‌های اسمزی در بایونه تحت تنش خشکی. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ۳ (۱): ۲۳-۳۳.
- اسماعیل‌پور، ب.، پ. جلیل‌وند، و ج. هادیان. ۱۳۹۲. تأثیر تنش خشکی و قارچ میکوریزا بر برخی از صفات مورفوفیزیولوژیک و عملکرد مرزه (*Satureja hortensis* L.). نشریه بوم‌شناسی، ۵ (۲): ۱۶۹-۱۷۷.
- بابایی، ک.، م. امینی‌دهقانی، س. ع. مدرس ثانوی و ر. جباری. ۱۳۸۹. اثر تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک، میزان پرولین و درصد تیمول در آویشن (*Thymus vulgaris* L.). فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۶ (۲): ۲۳۹-۲۵۱.
- بیژنی، م.، پ. یدالهی ده‌چشمه، م. ر. اصغری‌پور و م. حیدری. ۱۳۹۴. تأثیر تلقیح میکوریزایی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و عملکرد شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) تحت تنش خشکی. نشریه علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، ۳ (۵۳): ۳۳۷-۳۵۲.
- تقی‌پور، ز.، ر. اصغری زکریا، ن. زارع و پ. شیخ زاده. ۱۳۹۳. ارزیابی برخی صفات فیزیولوژیکی در جمعیت‌هایی از *Aegilops triuncialis* تحت تنش خشکی. دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۲۲ (۱): ۵۵-۶۶.
- جعفرزاده، ل.، ح. امید و ع. ا. بستانی. ۱۳۹۳. بررسی تنش خشکی و کود زیستی نیتروژنه بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲ (۲): ۱۸۰-۱۹۳.
- جلیل‌وند، پ.، ب. اسماعیل‌پور، ج. هادیان و ع. رسول زاده. ۱۳۹۰. تأثیر تنش خشکی و قارچ میکوریزا بر رشد و متابولیت‌های ثانویه مرزه. هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران، دانشگاه صنعتی اصفهان. ۲ ص.
- رضایپور، ع. ر.، م. حیدری، م. گلوی و م. رمودی. ۱۳۹۰. تأثیر تنش خشکی و مقادیر مختلف کود گوگرد بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه و تنظیم‌کننده‌های اسمزی در گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.). فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۷ (۳): ۳۸۴-۳۹۶.
- سلطانیان، م. و ع. تدین. ۱۳۹۴. اثر همزیستی قارچ میکوریزای آربوسکولار بر برخی از خصوصیات زراعی بزرک (*Linum ussitatissimum* L.) تحت شرایط تنش خشکی در منطقه شهرکرد. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، ۲۲ (۲): ۲-۲۴.
- عباس‌زاده، ب.، ا. شریفی عاشورآبادی، م. ح. لباسچی، م. نادری، ح. ب. کندی و ف. مقدمی. ۱۳۸۶. اثر تنش خشکی بر میزان پرولین، قندهای محلول، کلروفیل و آب نسبی (RWC) بادرنبویه (*Melissa officinalis* L.). فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۳ (۴): ۵۰۴-۵۱۳.
- علی‌آبادی فراهانی، ح.، م. ح. لباسچی، ا. ح. شیرانی راد، س. ع. ولدآبادی، آ. حمیدی و ع. عزیزاده سهازی. ۱۳۸۶. تأثیر قارچ *Glomus hoi* سطوح مختلف فسفر و تنش خشکی بر تعدادی از صفات فیزیولوژیکی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.). فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۳ (۳): ۴۰۵-۴۱۵.
- قاسم‌جوکار، ن.، ح. ا. نادیان، ب. خلیل‌مقدم، م. حیدری و م. ح. قرینه. ۱۳۹۴. تأثیر همزیستی میکوریزایی بر رشد و میزان پرولین در تره فرنگی (*Allium porrum* L.) و دو توده تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* ssp. *persicum* L.) تحت تنش خشکی. نشریه تولیدات گیاهی، ۳۸ (۱): ۱۵-۲۶.

Aliasgharzad, N., M. R. Neyshabouri and G. Salimi. (2006). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium japonicum* on drought stress of soybean. *Biologia Bratislava*, 19: 324-328.

- Bahreininejad, B., J. Razmjooa and M. Mirzab. (2013). Influence of water stress on morpho-physiological and phytochemical traits in *Thymus daenensis*. International Journal of Plant Production, 7(1): 151-166.
- Bandurska, H. and W. Jozwiak. (2010). A comparison of the effects of drought non proline accumulation and peroxidases activity in leaves of *Festucarubral* L. and *Lolium perenne* L. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 2: 111-116.
- Doubková, P., E. Vlasáková and R. Sudová. (2013). Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviates drought stress imposed on *Knautia arvensis* plants in serpentine soil. Plant and Soil, 37 (1): 149-161.
- Khalil, S. S. and A. S. A. Noemani. (2015). Effect of bio-fertilizers on growth, yield, water relations, photosynthetic pigments and carbohydrates contents of *Origanum vulgare* L. plants grown under water stress conditions. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture, 9(4): 60-73.
- Prabhu, D., T. Shankar., V. Sathyavathe and S. Sankaralingam. (2013). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of green Gram (*Vigna radiata* L.) grown under water stress conditions. World Applied Sciences Journal, 25 (4): 561-567.
- Rahmatzadeh, S. and S. K. Kazemitabar. (2013). Biochemical and antioxidant changes in regenerated periwinkle plant lets due to mycorrhizal colonization during acclimatization. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5 (14): 1535-1540.

پاسخ گیاه داروئی نعنای فلفلی به محلول پاشی پلور آمین تحت شرایط کم آبی

حمید محمدی^{*۱}

^{*۱} گروه زاعت و گیاهان داروئی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز (hamidmohammadi78280@gmail.com)

چکیده

تنش آبی یکی از محدودیت های اصلی در تولید محصول جهانی است و احتمالاً در طول دهه های اخیر، افزایش می یابد، استفاده از مواد طبیعی در محصولات کشاورزی به منظور افزایش تحمل، رشد و تولید گیاهان دارویی و معطر افزایش یافته است. در میان این ترکیبات، محرک های زیستی گیاهی وجود دارد که ممکن است در ترکیبات آنها آمینو اسیدها باشند. هدف از این تحقیق، ارزیابی تأثیر استفاده از اسید آمینه های پلور آمین بر رشد و واکنش های فیزیولوژیک گیاه نعنای فلفلی بود. آزمایش به صورت گلخانه ای در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار با کاربرد آمینو اسید پلور آمین (صفر، ۱/۵ و ۲/۵ گرم بر لیتر) تحت شرایط کم آبی بر گیاه نعنای فلفلی انجام شد. نتایج نشان داد که تنش آب به طور معنی داری باعث کاهش ماده خشک کل، وضعیت آب و محتوای کلروفیل شد که با استفاده از محلول پاشی برگ پلور آمین به طور معنی داری بهبود یافت. گیاهان محلول پاشی شده با پلور آمین، تحمل بیشتری نسبت به تنش آب با توجه به محتوای آب نسبی و درصد اسانس بالاتر، و کاهش محتوای مالون دی آلدئید، پراکسید هیدروژن نشان دادند.

واژگان کلیدی: القاء کننده، تحمل به تنش، نعنای فلفلی



۱. مقدمه

نیاز روزافزون به استفاده از گیاهان دارویی در سطح جهانی، اهمیت کشت و تولید این گیاهان را روشن تر می سازد. رویکرد به سمت گیاهانی که بومی ایران بوده و از گذشته ها مورد استفاده قرار می گرفته است و امکان کشت در مناطق مختلف کشور در مزارع آبی و دیم را دارند حائز اهمیت می باشند، گیاه دارویی نعنای فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. و با نام عمومی Peppermint یکی از مهم ترین گیاهان دارویی معطر و چند ساله از تیره نعنائیان (Lamiaceae) می باشد. برخی از محققان معتقدند که این گیاه هیبریدی از تلاقی بین پونه آبی و نعنای پونه سنبله ای است. ارتفاع آن ۹۰-۳۰ سانتی متر بوده، که ساقه قائم و چهار گوش آن به صورت بالا رونده و شاخه دار رشد می کند. برگ های آن بیضوی، متقابل، دارای راس حاد، دندانه دار و کمی پوشیده از کرک به طول ۹-۴ سانتی متر و به عرض ۴-۱/۵ سانتی متر است. گل ها کامل، نامنظم، اکثراً دوجنس یا هر مافروdit و مجتمع به صورت گروهی در روی ساقه و در انتهای ساقه ظاهر می شوند گل ها در ماه های مرداد و شهریور ظاهر می شوند. رنگ گل ها روشن یا کم و بیش ارغوانی مایل به بنفش می باشد. تکثیر این گیاه از طریق تکثیر رویشی بوده و توسط استولون های آن پخش می شود، که در صورت قرار گرفتن در هر جایی با شرایط مناسب می تواند رشد کند. این گیاه به طور کلی در مکان های مرطوب و سایه دار رشد مطلوب دارد. از کل اندام هوایی این گیاه استفاده می شود، در زمان شروع باز شدن کامل گل ها جمع آوری می شوند، نعنای فلفلی به طور خودرو در زیستگاه های مرطوب، از جمله کناره های جویبار و خندق های زهکشی وجود دارد (Singh et al., 2015). اسانس نعنای فلفلی از سرشاخه های گلدار آن بدست می آید و طعم تندی دارد، اسانس این گیاه دارای درصد بالایی منتول است و همچنین استرهای منتون و کربوکسیل، به ویژه استات متیل نیز جزو مواد موثره آن می باشد. اسانس این گیاه همچنین حاوی مقادیر کمی از بسیاری از ترکیب ها از جمله لیمونن، کاریوفیلن و پینن است (Dai et al., 2010).

پلورآمین (Pluramin) یک ترکیب پودری از اسیدهای آمینه است که به شکل سریع قابل جذب است و برای زمانی که گیاه در شرایط تنش قرار دارد توصیه شده است. پلورآمین به عنوان محرک زیستی توصیه شده و همچنین می تواند به عنوان یک حامل مواد مغذی (به ویژه عناصر کمیاب) به گیاهان، به واسطه جذب ریشه ها و جذب برگ مفید باشد. پلورآمین حاوی ۱۴ درصد نیتروژن کل، ۱۳/۸ درصد نیتروژن آلی، ۰/۲ درصد نیتروژن آمونیومی، ۹۲ درصد ماده آلی و ۹۰ درصد آمینواسید کل می باشد. بنابراین، یک ترکیب فعال کننده متابولیکی است (<http://www.gppw.co>).

خشکی از مهم ترین تنش های غیر زیستی هست که تولید محصولات زراعی را به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک با الگوی بارندگی نامنظم محدود می کند. گیاهان از طریق تغییر متابولیسم سلولی شان و مکانیسم های دفاعی مختلف می توانند به تنش رطوبتی واکنش نشان داده و سازگار شوند (Mohammadi et al., 2018). یکی از نشانه های کمبود آب، کاهش تورژسانس و در نتیجه رشد و توسعه سلول به ویژه در ساقه و برگ ها است. به همین دلیل اولین اثر محسوس کم آبی را می توان از اندازه کوچکتر برگ ها یا ارتفاع گیاهان تشخیص داد. بدنال کاهش سطح برگ، جذب نور نیز کم شده و باعث کاهش ظرفیت کل فتوسنتزی گیاه شده و رشد و در نهایت عملکرد آن دچار نقصان می شود (Taiz and Zaiger, 2010). خشکی بر جنبه های مختلف رشد گیاه تأثیر گذاشته و موجب کاهش و به تأخیر انداختن جوانه زنی، کاهش رشد اندام های هوایی و کاهش



تولید ماده خشک می گردد. در صورتی که شدت تنش آب زیاد باشد، موجب کاهش شدید فتوسنتز و مختل شدن فرآیندهای فیزیولوژیکی، توقف رشد و سرانجام مرگ گیاه می شود (Zargar et al., 2017).

سنتز متابولیت های ثانویه یک سازگاری بسیار مهم گیاهان دارویی نسبت به شرایط نامطلوب محیطی می باشد. تولید متابولیت های ثانویه در گیاهان دارویی تحت کنترل ژنتیک گیاه است. ولی عوامل محیطی مانند عوامل تنش زا نقش عمده ای در کمیت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی دارد. معمولاً تحت شرایط تنش به طور معنی داری سنتز ترکیبات متابولیت های ثانویه افزایش می یابد (Pant et al., 2021). نتایج بیشتر تحقیقات انجام گرفته حکایت از کاهش مقدار و عملکرد اسانس گیاهان دارویی در اثر تنش کم آبی دارد.

با توجه به اهمیت گیاهان دارویی در تأمین سلامت جامعه و اثرات تنش کم آبی بر رشد و عملکرد و تغییرات مواد مؤثره گیاهان دارویی، و همچنین اثرات فعال کننده های متابولیک گیاهی و کودهای زیستی در کاهش اثرات تنش های محیطی، آزمایشی طراحی شد که هدف از اجرای آن، ارزیابی تأثیر القاء کننده پلورآمین بر تحمل به تنش کم آبی در گیاه نعنای فلفلی بود.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. منطقه مورد مطالعه

به منظور بررسی اثرات القاء کننده پلورآمین و تنش خشکی بر رشد و واکنش های فیزیولوژیک گیاه نعنای فلفلی، یک آزمایش گلخانه ای در گلخانه دانشگاه شهید مدنی آذربایجان انجام شد.

۲-۲. روش تحقیق

آزمایش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی شامل فاکتور اول (پلورآمین در سه سطح: صفر، ۱/۵ و ۲/۵ گرم بر لیتر)، فاکتور دوم سطوح تنش (تنش کم آبی و بدون تنش) بود که با TDR کنترل گردید. در اوایل گلدهی، بوته های گلدهی مربوط به هر تیمار را خارج کرده و سپس بخش هوایی آن را جدا کرده و بسته بندی کرده و درون محفظه ای خنک و مملو از یخ به آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان زراعی انتقال داده شد. در آزمایشگاه نمونه های جمع آوری شده به منظور بررسی صفات فیزیولوژیک به تعداد یکسان و به صورت تصادفی به دو نمونه گیاهی تر و خشک تقسیم بندی گردیدند. نمونه های تر را درون زیپ کیپ بسته بندی و سپس در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد فریز شدند، بقیه نمونه ها به آزمایشگاه گیاهان دارویی انتقال داده شدند و در شرایط سایه خشک شدند. در این آزمایش صفات وزن خشک بخش هوایی، محتوای رنگیزه های فتوسنتزی (Lichtenthaler and Buschmann, 2001)، محتوای رطوبت نسبی برگ (Barrs and Weatherley, 1962)، محتوای مالون دی آلدئید (Heath and Packer, 1968)، محتوای پراکسید هیدروژن (Velikova et al., 2000) و درصد اسانس (Anonymous, 1984) اندازه گیری شد.



۳. نتایج

ماده خشک کل تحت تأثیر اثر متقابل تنش کم آبی و پلورآمین قرار گرفت (جدول ۱). ماده خشک با کاربرد پلورآمین در هر دو رژیم آبیاری افزایش پیدا کرد (جدول ۲). علاوه بر این، نتایج نشان داد که حداکثر ماده خشک در پلورآمین ۲/۵ گرم بر لیتر به دست آمد، در حالی که کمترین میزان ماده خشک با عدم کاربرد پلورآمین در شرایط تنش آبی مشاهده شد. ماده خشک نعنای فلفلی با تنش آب کاهش یافت؛ با این حال، در گیاهانی که پلورآمین در اندام هوایی استفاده شد، این کاهش در مقایسه با سایر تیمارها کمتر بود. کاربرد پلورآمین در اندام هوایی سبب ایجاد تأثیرات معنی داری بر ماده خشک تحت شرایط تنش و کنترل (عدم تنش آب) شد. احتمالاً تأثیر مثبت پلورآمین بر رشد منجر به افزایش محتوای آمینو اسیدهایی می شود که می توانند به عنوان منبع انرژی و کربن هنگامی که میزان کربوهیدرات ها در گیاهان کاهش می یابد، مورد استفاده قرار گیرند. فرم های آمینی و اسیدهای آلی که اسیدآمین در ابتدا از آن ها تشکیل شده، انتشار می یابد. سپس اسیدهای آلی برای تجزیه و آزادسازی انرژی از طریق تنفس وارد چرخه کربس می شوند، از سوی دیگر، اسیدهای آمینه مستقیماً نیتروژن قابل دسترس سلول های گیاهی را فراهم می کنند، که معمولاً توسط سلول ها سریع تر از نیتروژن معدنی ذخیره می شود (Sadak et al., 2015).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس برخی صفات مورد مطالعه

میانگین مربعات							
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک بخش هوایی	RWC	محتوای کلروفیل کل	محتوای کاروتنوئید	محتوای MDA	محتوای H_2O_2
درصد اسانس							
بلوک	۲	۰/۱۰ ns	۲/۰۴ ns	۰/۰۱ ns	۰/۰۱ ns	۰/۰۶ ns	۰/۰۳ ns
تنش کم آبی (a)	۱	۱۶/۷۰ **	۲۸۵/۰۴ **	۱/۹۴ **	۰/۰۵ *	۲/۲۷ **	۳/۹۴ **
محلول پاشی با پلورآمین (b)	۲	۱۸/۰۶ **	۱۷۵/۰۱ **	۰/۷۸ **	۰/۰۱ *	۳/۳۰ **	۱/۳۸ **
اثر متقابل a*b	۲	۰/۵۹ *	۲۶/۸۲ **	۰/۰۶ **	۰/۰۴ **	۰/۳۷ **	۰/۹۴ **
اشتباه	۱۰	۰/۱۸	۳/۱۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۶	۰/۰۳	۰/۰۱

ns عدم اختلاف معنی دار، * و ** معنی داری در سطح احتمال ۵ و یک درصد

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه

تنش کم آبی	محلول پاشی با پلورآمین (گرم بر لیتر)	وزن خشک هوایی	RWC	محتوای کلروفیل کل	محتوای کاروتنوئید	محتوای MDA	محتوای H_2O_2	درصد اسانس
بدون تنش	۱/۵	۹/۴۰ b	۸۵/۶۹ b	۲/۶۱ b	۰/۳ b	۱/۶۷ c	۰/۷۳ cd	۱/۴۵ c
	صفر	۷/۶۲ c	۸۲/۳۴ b	۲/۲۹ c	۰/۳ b	۱/۸۵ bc	۰/۸۲ cd	۱/۲۴ e



۱/۶۵ b	۰/۶۵ d	۰/۸۱ e	۰/۳۷ a	۲/۸۱ a	۸۸/۹۶ a	۱۰/۴۶ a	۲/۵
۱/۳۱ d	۲/۶۱ a	۳/۱۳ a	۰/۳ b	۱/۴۵ e	۶۹/۷۵ d	۵/۱۴ d	صفر
۱/۶۴ b	۱/۵۱ b	۲/۱۱ b	۰/۳ b	۱/۹۲ d	۷۸/۷۰ c	۷/۳۴ c	تنش کم -
۱/۸۷ a	۰/۸۸ c	۱/۲۲ d	۰/۲۸ b	۲/۳۷ c	۸۴/۶۶ b	۹/۲۲ B	آبی

* حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی داری است.

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر متقابل دو جانبه بین رژیم رطوبتی و پلورآمین به طور قابل ملاحظه ای RWC را تحت تأثیر قرار داد (جدول ۱). تنش آب به طور قابل توجهی RWC را در گیاهان نعنای فلفلی کاهش داد. محتوای نسبی آب از عوامل اصلی رشد است که تحت تأثیر تنش آب قرار می گیرد (Jaleel et al., 2009). با این حال کاربرد پلورآمین در اندام هوایی باعث اثرات افزایشی روی RWC در هر دو شرایط تنش کم آبی و عدم تنش شد (جدول ۲). افزایش محتوای RWC، منجر به باز شدن روزنه و دسترسی گیاهان به CO₂ می شود (Qiao, 2024). کاربرد پلورآمین می تواند نمو گیاه را با ارائه آب طولانی مدت از طریق جذب مولکول های آب در خاک و نگهداری و سپس آزاد شدن آب موقع نیاز گیاهان، افزایش دهد. RWC از مهمترین شاخص های رشد و فیزیولوژیکی است که میزان اعمال تنش آب را نشان می دهد. میزان RWC در گیاهانی که مقاومت زیادی در برابر تنش آب دارند نسبت به سایر گیاهان بیشتر است. به عبارت دیگر، گیاه دارای ماده خشک بیشتر تحت تنش آب باید RWC بالاتری داشته باشد. (Alizadeh et al., 2020).

رژیم های آبی و کاربرد پلورآمین در اندام هوایی، محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئید را به طور معنی دار تحت تأثیر قرار داد (جدول ۱). نتایج نشان داد که مقدار کلروفیل کل تحت تنش آب کاهش یافت، اما با کاربرد پلورآمین، محتوای کلروفیل و کاروتنوئید افزایش یافت (جدول ۲). مطالعات نشان می دهد پلورآمین منجر به تاخیر در تجزیه کلروفیل شده و باعث افزایش کارایی جذب نور در نتیجه بهبود سرعت فتوسنتزی خالص می شود. اسپری کردن پلورآمین در اندام هوایی گیاهان با غلظت های مختلف، رنگدانه های فتوسنتزی گیاهان را افزایش می دهد. این افزایش در محتوای کلروفیل ممکن است به دلیل دسترسی گیاهان تیمار شده به سطوح بالاتر آمینواسیدها باشد که به افزایش میزان کلروفیل و کاروتنوئید کمک می کند و این می تواند منجر به بهبود رشد شود (Awad et al., 2007).

نتایج نشان داد تنش کم آبی محتوای مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن را افزایش داد در حالی که استفاده از پلورآمین محتوای هر دو ترکیب یاد شده را در گیاهان نعنای فلفلی کاهش داد (جدول ۲). محتوای مالون دی آلدئید به عنوان عاملی از آسیب ناشی از تنش در گیاهان اندازه گیری می شود. مقدار بالاتر مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن در تیمارهای کمبود آب، نشان می دهد تنش آب، بر غشاهای این گیاهان به طور جدی مؤثر است. محتوای بالاتر مالون دی آلدئید، مشخص می کند که سیستم مقاومت آنزیم آنتی اکسیدانی کاهش یافته و پراکسیداسیون لیپید افزایش یافته است (Sedaghat et al., 2017). بالاخره، واضح است که پلورآمین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را افزایش داد، که منجر به کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از محتوای مالون دی آلدئید می شود. همچنین نتایج نشان داده که پلورآمین به وضوح پاسخ تنش آب را تنظیم می کند (Mohammadi et al., 2021). از سوی دیگر، مطالعات نشان می دهد اثر بهبودی پلورآمین می تواند منجر به افزایش ثبات

غشاهای تیلاکوئیدی شود. پلورآمین‌ها می‌توانند به گروه‌های بزرگ فسفولیپیدی در غشاها متصل شوند، در نتیجه بر ویژگی‌های نفوذپذیری و ثبات این غشاها اثر بگذارند (Chattopadhyay et al., 2002).

نتایج تجزیه واریانس محتوای اسانس گیاه نعناع فلفلی نشان داد، اثرات کاربرد پلورآمین و تنش آب و اثر متقابل بین آنها معنی‌دار بود (جدول ۱). درصد اسانس با افزایش کمبود آب بهبود یافت؛ همچنین کاربرد پلورآمین، درصد اسانس را بهبود بخشید (جدول ۲). مطالعات نشان می‌دهد بیشترین مقدار اسانس تحت تنش آب می‌تواند به این دلیل باشد که گیاهان تحت شرایط تنش رطوبتی غلظت‌های بالای ترپن را به علت تعمیم کمتر کربن به رشد تولید می‌کنند، و به توازن مبادله بین رشد و مقاومت کمک می‌کنند (Turtola et al., 2003). همچنین افزایش محتوای اسانس ناشی از استفاده از آمینواسیدها در گیاه بابونه آلمانی مشاهده شده (El-din and El-wahed, 2005) و مشخص شده آمینواسیدها نقش مهمی در پیام‌رسانی، پاسخ به تنش و متابولیسم ثانویه در گیاهان معطر دارند (Hildebrandt et al., 2015).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

نتیجه این آزمایش نقش مثبت پلورآمین سینتتیک را در شرایط تنش آبی نشان داد. تنش آب باعث کاهش رشد، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی شد ولی محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدهید را افزایش داد و باعث ایجاد تنش در گیاه نعناع فلفلی شد. در گیاه نعناع فلفلی محلول‌پاشی شده با پلورآمین تحت تنش، پیشنهاد می‌شود که پلورآمین خارجی، منجر به کاهش اثرات آسیب‌رسان تنش آب از طریق افزایش مقدار پلورآمین داخلی، افزایش محتوای قندهای محلول و پرولین، افزایش درصد اسانس و فعال کردن بیان ژن‌های آنزیم آنتی‌اکسیدانی می‌شود. بنابراین این آمینواسید می‌تواند نقش مهمی برای کاربرد در شرایط تنش و بهبود عملکرد محصول باز کند و از این طریق به رفع مشکلات تغییر اقلیم، خشکی و تولید غذا کمک کند.

منابع

- Alizadeh Yeloojeh, K., Saeidi, G., and Ehsanzadeh, P. (2020). Effectiveness of physiological traits in adopting safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes to water deficit condition. *International Journal of Plant Production*, 14(1): 155-164.
- Anonymous, M. (1984). *Hungarian pharmacopoeia*, VII Kiadas, Kotet, Medicine Publication, Hungary.
- Awad, E.M., and El-Shall, Z.S. (2007). Effect of glycine, lysine and nitrogen fertilizer rates on growth, yield and chemical composition of potato. *Journal of Plant Production*, 32(10): 8541-8551.
- Barrs, H.D., and Weatherley, P.E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15(3): 413-428.
- Chattopadhyay, M.K., Tiwari, B.S., Chattopadhyay, G., Bose, A., Sengupta, D.N., and Ghosh, B. (2002). Protective role of exogenous polyamines on salinity-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 116(2): 192-199.
- Dai, J., Orsat, V., Raghavan, G.V., and Yaylayan, V. (2010). Investigation of various factors for the extraction of peppermint (*Mentha piperita* L.) leaves. *Journal of Food Engineering*, 96(4): 540-543.
- El-Din, K.M.G., and El-Wahed, M.S.A. (2005). Effect of some amino acids on growth and essential oil content of chamomile plant. *International Journal of Agriculture and Biology*, (7): 376-380.
- Heath, R.L., and Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1): 189-198.



- Hildebrandt, T.M., Nesi, A.N., Araújo, W.L., and Braun, H.P. (2015). Amino acid catabolism in plants. *Molecular Plant*, 8(11): 1563-1579.
<http://www.gppw.co>
- Jaleel, C.A., Manivannan, P.A., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H.J., Somasundaram, R.A., and Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11(1): 100-105.
- Lichtenthaler, H.K., and Buschmann, C. (2001). Extraction of photosynthetic tissues: chlorophylls and carotenoids. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1(1): F4-2.
- Mohammadi, H., Ghorbanpour, M., and Brestic, M. (2018). Exogenous putrescine changes redox regulations and essential oil constituents in field-grown *Thymus vulgaris* L. under well-watered and drought-stress conditions. *Industrial Crops and Products*, 122, 119-132.
- Mohammadi, H., Saeedi, S., Hazrati, S., and Brestic, M. (2021). Physiological and phytochemical responses of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) to pluramin application and inoculation with *Pseudomonas fluorescens* PF-135 under water-deficit stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 68: 909-922.
- Pant, P., Pandey, S., and Dall'Acqua, S. (2021). The influence of environmental conditions on secondary metabolites in medicinal plants: A literature review. *Chemistry & Biodiversity*, 18(11): e2100345.
- Qiao, M., Hong, C., Jiao, Y., Hou, S., and Gao, H. (2024). Impacts of drought on photosynthesis in major food crops and the related mechanisms of plant responses to drought. *Plants*, 13(13): 1808.
- Sadak, S.H., Abdelhamid, M.T., and Schmidhalter, U. (2015). Effect of foliar application of amino acids on plant yield and some physiological parameters in bean plants irrigated with seawater. *Acta Biológica Colombiana*, 20(1): 141-152.
- Sedaghat, M., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Emam, Y., and Mokhtassi-Bidgoli, A. (2017). Physiological and antioxidant responses of winter wheat cultivars to strigolactone and salicylic acid in drought. *Plant Physiology and Biochemistry*, 119: 59-69.
- Singh, R., Shushni, M.A., and Belkheir, A. (2015). Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3): 322-328.
- Taiz, L., and Zeiger, E. (2010). *Plant physiology*. Sinauer associates.
- Turtola, S., Manninen, A. M., Rikala, R., and Kainulainen, P. (2003). Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, 29: 1981-1995.
- Velikova, V., Yordanov, I., and Edreva, A.J.P.S. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1): 59-66.
- Zargar, S.M., Gupta, N., Nazir, M., Mahajan, R., Malik, F.A., Sofi, N.R., and Salgotra, R.K. (2017). Impact of drought on photosynthesis: Molecular perspective. *Plant gene*, 11: 154-159.

تأثیر خصوصیات خاک بر ترکیبات فیتوشیمیایی اسانس گیاه پولک (*Stachys inflata* Benth.) جمع آوری شده از دو منطقه واقع در روستای کوهانی نهاوند

مهتاب صالحی^{*۱}

^{*۱} گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، مجتمع آموزش عالی نهاوند (mahtab.salehi@basu.ac.ir)

چکیده

پولک (*Stachys inflata* Benth.) گیاه دارویی متعلق به تیره نعنائیان است که در طب سنتی و بومی، کاربرد گسترده‌ای دارد. به منظور بررسی خصوصیات خاک بر اجزای تشکیل دهنده اسانس گیاه پولک، این گیاه از دو منطقه واقع در روستای کوهانی نهاوند جمع آوری گردید. سپس نمونه‌های جمع آوری شده به مدت دو هفته در سایه خشک گردید. نمونه‌های خشک شده بادستگاه کلونجر، اسانس گیری شد و برای تعیین اجزای تشکیل دهنده اسانس، به دستگاه GC-MS تزریق گردید. تنوع زیادی در تعداد و نوع ترکیبات تشکیل دهنده اسانس مشاهده گردید. مهم ترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس در منطقه یک عبارت بود از: بی سیکلوژرماکرن (۸/۱۳٪)، ولی مهم ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در منطقه دو، شامل ژرماکرن دی (۲۳/۰۷٪)، بی سیکلوژرماکرن (۱۴/۱۷٪)، آلفا - پینن (۹/۸۹٪)، زد - بتا - اُسیمن (۶/۷۴٪) و اسپاتولنول (۶/۵۱٪) بود.

واژگان کلیدی: اسانس، پولک، خصوصیات خاک.



۱. مقدمه

در طب سنتی، *Stachys inflata Benth.* به پولک یا گل ارغوانی مشهور بوده و سرشاخه‌های این گیاه به عنوان داروی ضد عفونت‌های ریوی، آسم و بیماری‌های التهابی استفاده می‌شود (مظفریان، ۱۳۷۵). همچنین اسانس این گیاه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد سرفه، ضد اضطراب و ضد سرطان می‌باشد (Goren et al., 2011).

گونه *S. inflata Benth.* از پراکندگی فراوانی در سراسر جهان و به‌طور خاص در منطقه مدیترانه برخوردار است و از جمله رویشگاه‌های طبیعی این گونه، کشور ایران می‌باشد. این گونه در مناطق مختلف استان همدان، پراکنش وسیعی دارد (جم‌زاد، ۱۳۹۱). تأثیر عوامل محیطی بر تولید مواد مؤثره دارویی، مسئله بسیار پیچیده‌ای است و این عوامل از جمله نور، آب و هوا، خشکی محیط، ارتفاع از سطح دریا و عوامل خاک می‌توانند بر مقدار کل ماده مؤثره، اجزای اسانس و بیوماس تولیدی گیاه تأثیر گذار باشند (امیدیگی، ۱۳۹۲).

مطالعات صورت گرفته، بیانگر وجود تنوع درون و بین گونه‌ای قابل ملاحظه اجزای اسانس این گیاه است. در مطالعه‌ای روی گیاه *S. schtschegleevii Sosn.* که از جلفا در استان آذربایجان جمع‌آوری گردید، مهم‌ترین اجزای تشکیل دهنده اسانس، آلفا - پینن (۲۷/۴۳٪)، بتا - فلاندرن (۱۴/۶۸٪)، ژرمارکرن دی (۱۴/۱۲٪)، بتا - پینن (۱۰/۲۵٪) و آلفا - فلاندرن (۴/۷۰٪) گزارش گردید (Norouzi-Arasi et al., 2004). در بررسی *S. inflata Benth.* جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف استان مازندران، اصلی‌ترین اجزای تشکیل دهنده اسانس، بی‌سیکلو ژرمارکرن (از ۱۱/۲ تا ۱۶/۶ درصد) و ژرمارکرن دی (از ۸/۷ تا ۱۶/۹ درصد) بیان گردید (علی‌بخشی و همکاران، ۱۳۹۳).

نتایج مطالعه بر روی اسانس *S. inflata Benth.* جمع‌آوری شده از سپیدان واقع در کهکیلویه و بویراحمد، ۳۲ ترکیب را نشان داد. مهم‌ترین اجزای تشکیل دهنده اسانس شامل سیس - کریزانتیل استات (۲۹/۲٪)، سیس - پینوکاروتول (۱۴/۷٪)، کارواکول (۷/۴٪)، لینالول (۷/۲٪)، کاراهانانون (۶/۵٪) و بتا - کاریوفیلولن (۴/۶٪) بود (Omidbaigi et al., 2006).

هدف از این پژوهش، ارزیابی تأثیر خصوصیات خاک بر اجزای تشکیل دهنده اسانس گیاه پولک در دو منطقه واقع در روستای کوهانی نهاوند بود.

۲. مواد و روش‌ها

پیکره رویشی گلدار گیاه پولک در مرحله گلدهی کامل در اردیبهشت‌ماه سال ۱۴۰۳ از دو منطقه واقع در روستای کوهانی نهاوند در ارتفاع ۱۷۲۵ متر از سطح دریا و مختصات جغرافیایی $34^{\circ} 9'$ و $48^{\circ} 24'$ با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی متفاوت خاک جمع‌آوری گردید. به منظور بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، نمونه‌های خاکی تا عمق ۳۰ سانتی‌متری از هر دو منطقه، جمع‌آوری شد. نمونه خاک‌ها به آزمایشگاه منتقل شد و نتایج آنالیز خاک، در جدول ۱ آمده است. نمونه‌های گیاهی پس از جمع‌آوری در مرحله گلدهی کامل، در سایه در دمای حدود ۳۰ - ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند. سپس تا زمان اندازه‌گیری صفات فیتوشیمیایی، در پاکت کاغذی در آزمایشگاه با دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد و دور از نور خورشید به مدت یک ماه نگهداری شدند.



برای اسانس گیری از نمونه‌ها، مقدار ۵۰ گرم پیکر رویشی (اندام هوایی) را آسیاب و سپس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت سه ساعت اسانس گیری شد (British pharmacopoeia). آبیگری نمونه‌ها با استفاده از سولفات سدیم خشک انجام شد. جهت تجزیه نمونه‌های اسانس و اندازه گیری ترکیبات موجود در آن، از دستگاه کروماتوگراف گازی GC و کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/Mass) در پژوهشکده گیاهان دارویی کرج استفاده شد. دستگاه کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداري آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و با استفاده از طیف‌های جرمی و ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه دیجیتال دستگاهی صورت گرفت (Khalighi-Sigaroodi *et al.*, 2012).

جدول ۱ - خصوصیات فیزیکی - شیمیایی خاک دو منطقه در روستای کوهانی

رویشگاه	اسیدیته گل اشباع (pH)	کربنات کلسیم معادل (%)	نیتروژن قابل جذب (%)	فسفر قابل دسترس (ppm)	پتاسیم قابل دسترس (ppm)	کربن آلی (%)	هدایت الکتریکی (ds.m ⁻¹)
منطقه ۱	۷/۵	۱۴/۴	۰/۱۷	۲۸/۸	۱۸۰	۱/۶	۰/۵۳
منطقه ۲	۸	۱۱	۰/۲۸	۲۶	۵۴۰	۲/۸	۱/۳

۳. نتایج

در این مطالعه، براساس نتایج GC و GC-MS، ۱۶ ترکیب در اسانس پولک جمع‌آوری شده از منطقه یک و ۳۲ ترکیب در اسانس پولک منطقه دو شناسایی شد (جدول ۲ و ۳). مهم‌ترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس در منطقه یک عبارت بود از: بی‌سیکلوزرمارکرن (۸/۱۳٪)، ولی مهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در منطقه دو، شامل ژرمارکرن دی (۲۳/۰۷٪)، بی‌سیکلوزرمارکرن (۱۴/۱۷٪)، آلفا - پینن (۹/۸۹٪)، زد - بتا - آسیمن (۶/۷۴٪) و اسپاتونول (۶/۵۱٪) بود. کروماتوگرام‌های اسانس پولک مناطق ۱ و ۲، در شکل‌های ۱ و ۲ آمده است.

جدول ۲ - ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس پولک جمع‌آوری شده از منطقه ۱ در روستای کوهانی

ردیف	ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس	درصد	زمان بازداری (RT)
۱	α -Pinene	۱/۱۲	۱۱/۶۹
۲	β -Pinene	۰/۷۳	۱۴/۰۳
۳	Limonene	۰/۵۰	۱۶/۷۵
۴	Linalool	۱/۳۳	۲۰/۵۲
۵	Octanol acetate	۰/۳۵	۲۵/۹۷
۶	2E- Decanal	۰/۷۴	۲۷/۸۱
۷	(E,E)-2,4-undecadienal	۱/۸۸	۳۵/۶۲
۸	Germacrene D	۰/۵۴	۳۸/۱۱
۹	Bicyclogermacrene	۸/۱۳	۳۸/۷۲



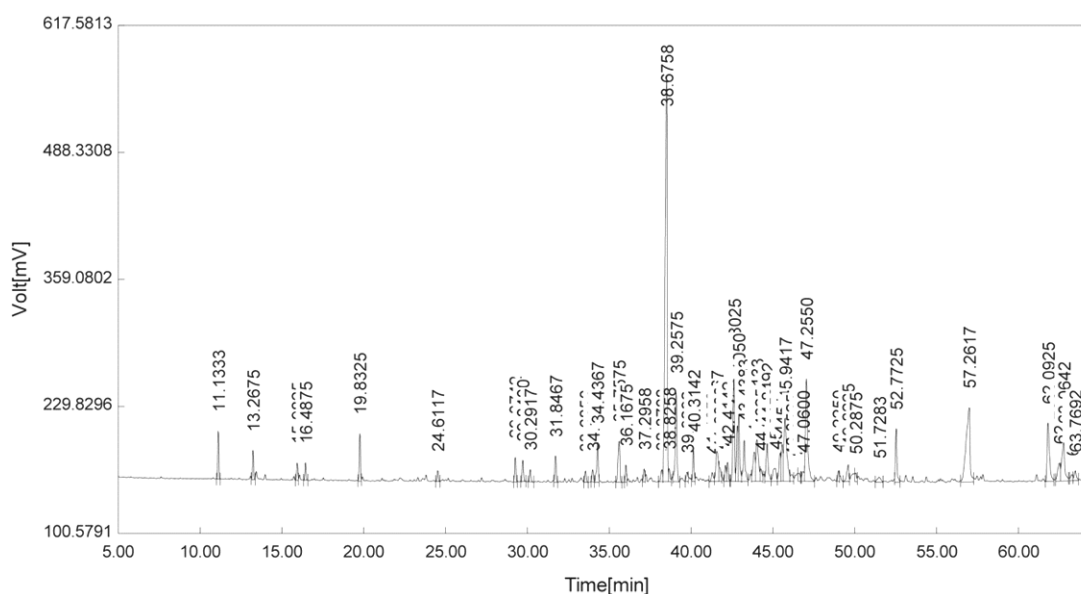
۴۱/۴۴	۰/۵۸	Dodecanoic acid	۱۰
۴۲/۱۵	۴/۰۷	Spathulenol	۱۱
۵۱/۴۰	۱/۹۶	Hexahydrofarnesyl acetone	۱۲
۵۵/۵۷	۳/۷۱	Hexadecanoic acid	۱۳
۶۰/۰۱	۳/۶۱	Phytol	۱۴
۶۰/۸۹	۱/۳۲	Methyl linoleate	۱۵
۶۱/۵۴	۰/۵۴	Incensole	۱۶

جدول ۳ - ترکیبات تشکیل دهنده اسانس پولک جمع آوری شده از منطقه ۲ در روستای کوهانی

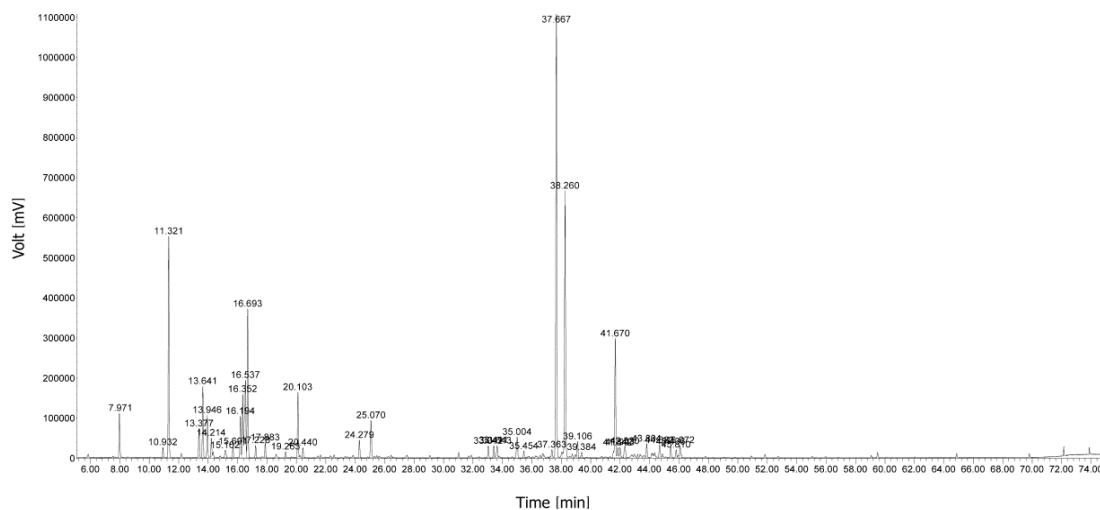
ردیف	ترکیبات تشکیل دهنده اسانس	درصد	زمان بازداری (RT)
۱	(E)-3-Hexenal	۱/۹۳	۷/۶۹
۲	α -Thujene	۰/۴۶	۱۰/۹۳
۳	α -Pinene	۹/۸۹	۱۱/۳۲
۴	Sabinene	۱/۳۲	۱۳/۳۸
۵	β -Pinene	۳/۳۵	۱۳/۶۳
۶	1-Octen-3-ol	۱/۹۰	۱۳/۹۴
۷	β -Myrcene	۰/۷۶	۱۴/۲۱
۸	α -Phellandrene	۰/۵۴	۱۵/۱۶
۹	α -Terpinene	۰/۵۲	۱۵/۶۹
۱۰	Cymene	۱/۹۴	۱۶/۱۹
۱۱	Limonene	۳/۰۵	۱۶/۳۵
۱۲	Eucalyptol	۵/۴۱	۱۶/۵۳
۱۳	(Z)- β -Ocimene	۶/۷۴	۱۶/۶۹
۱۴	(E)- β -Ocimene	۰/۵۶	۱۷/۲۳
۱۵	γ -Terpinene	۰/۷۲	۱۷/۸۸
۱۶	Terpinolene	۰/۲۸	۱۹/۲۶
۱۷	Linalool	۲/۸۳	۲۰/۱۰
۱۸	Nonanal-n	۰/۴۹	۲۰/۴۴
۱۹	Terpinen-4-ol	۰/۸۷	۲۴/۲۸
۲۰	α -Terpineol	۲/۰۳	۲۵/۰۶
۲۱	α -Ylangene	۰/۵۶	۳۳/۰۴
۲۲	β -Bourbonene	۰/۵۹	۳۳/۴۱
۲۳	β -Elemene	۰/۷۳	۳۳/۶۴
۲۴	Caryophyllene E	۱/۲۸	۳۵/۰۰
۲۵	α -Amorphene	۰/۵۷	۳۷/۳۶
۲۶	Germacrene D	۲۳/۰۷	۳۷/۶۶
۲۷	Bicyclogermacrene	۱۴/۱۷	۳۸/۲۵
۲۸	δ -Cadinene	۰/۸۳	۳۹/۱۰
۲۹	(E)- γ -Bisabolene	۰/۳۱	۳۹/۳۸



۴۱/۶۶	۶/۵۱	Spathulenol	۳۰
۴۲/۳۳	۰/۹۲	γ -Gurjunene	۳۱
۴۵/۴۳	۰/۵۹	Valeranone	۳۲



شکل ۱ - کروماتوگرام اسانس پولک منطقه ۱



شکل ۲ - کروماتوگرام اسانس پولک منطقه ۲



۴. بحث و نتیجه گیری

ترکیبات اصلی موجود در اسانس گیاه پولک که از دو منطقه واقع در روستای کوهانی نهاوند با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی متفاوت خاک، جمع آوری شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنوع و تفاوت زیادی در تعداد، نوع و درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاهان دو منطقه وجود دارد. این تغییر در تعداد، نوع و درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در دو منطقه با طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریای یکسان، ولی با خصوصیات فیزیکی - شیمیایی متفاوت خاک، نشان دهنده تأثیر و اهمیت خصوصیات فیزیکی - شیمیایی خاک بر اجزای تشکیل دهنده اسانس گیاهان است.

منابع

- امیدیگی، ر. ۱۳۹۲. رهیافت های تولید و فرآورده های گیاهان دارویی. جلد اول، چاپ هفتم، مشهد، به نشر (وابسته به آستان قدس رضوی).
- جم زاد، ز. فلور ایران: تیره نعنا (Lamiaceae). تهران، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، مؤسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع.
- علی بخشی، م.، مهدوی، س.خ.، محمودی، ج. و قلیچ نیا، ح. ۱۳۹۳. بررسی فیتوشیمیایی اسانس گیاه *Stachys inflata* در رویشگاه های مختلف استان مازندران. مجله اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۲(۲): ۵۶ - ۶۸.
- مظفریان، و. ۱۳۷۵. فرهنگ نام های گیاهان ایران. تهران، انتشارات فرهنگ معاصر.
- British pharmacopoeia. (1988). Vol. 2, London, HMSO, Pp: A137-A138.
- Goren, A.C., Piozzi, F., Akcicek, E., Kiliç, T., Çarikçi, S., Mozioğlu, E., and Setzer, W.N. (2011). Essential oil composition of twenty-two *Stachys* species (mountain tea) and their biological activities. Photochemistry Letters, 4: 448-453.
- Khalighi-Sigaroodi, F., Ahvazi, M., Yazdani, D., and Kashefi, M. (2012). Cytotoxicity and antioxidant activity of five plant species of Solanaceae family from Iran. Journal of Medicinal Plants, 11(43): 41-53.
- Norouzi-Arasi, H., Yavari, I., and Alibabaei, M. (2004). Chemical constituents of the essential oil of *Stachys schtschegleevii* Sosn. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 16(3): 231-232.
- Omidbaigi, R., Omidbaigi, M.A., and Bastan, M.R. (2006). The Essential Oil Content and Composition of *Stachys inflata* Benth from Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plant, 9(1): 60-64.

اثر کاربرد سیلیکون بر جوانه زنی کاهو (*Lactuca sativa* L.) تحت تنش شوری

مهتاب صالحی^{۱*}، فاطمه کیانی^۱

^۱گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، مجتمع آموزش عالی نهاوند (ویژه دختران) (mahtab.salehi@basu.ac.ir)

چکیده

کاهو با نام علمی *Lactuca sativa* L. گیاهی یکساله از خانواده کاسنیان می باشد. در کتب طب، به خواص درمانی این گیاه به طور وسیعی اشاره شده است. کاهو در خون سازی و پاک کنندگی سموم کبد، شیرافزایی و خاصیت ضد دردی در طب سنتی و بومی کاربرد گسترده ای دارد. تنش شوری در گیاهان منجر به کاهش رشد آنها می شود. طیف گسترده ای از گیاهان تنش شوری را تحمل می کنند، اما در همان گیاهان نیز مشاهده شده که این تحمل، با کاهش رشد توأم است. سیلیکون می تواند رشد اولیه و استقرار گیاهان را در شرایط تنش زا از طریق افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی، ظرفیت فتوسنتزی و ضریب تعرق پایین، بهبود بخشد. به منظور بررسی اثر سیلیکون بر جوانه زنی کاهو تحت تنش شوری، این مطالعه به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل شوری (در سه سطح) و سیلیکون (در سه سطح) و چهار تکرار در مجتمع آموزش عالی نهاوند انجام شد. نتایج نشان داد که کاهو در مرحله جوانه زنی، دارای تحمل نسبتاً بالایی به تنش شوری است. تیمار ۳ میلی مولار سیلیکون و تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار شوری توانستند بالاترین وزن تر و خشک گیاهچه را ایجاد کنند. بالاترین سرعت جوانه زنی نیز، در تیمارهای شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار به دست آمد.

واژگان کلیدی: جوانه زنی، سیلیکون، شوری، کاهو.



۱. مقدمه

گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی در تأمین بهداشت و سلامت جوامع هم به لحاظ درمان و هم پیشگیری از بیماری‌ها برخوردارند. در ایران که یکی از هفت کشور آسیایی با بیشترین گیاهان دارویی است نیز این گزارش وجود داشته و در سه دهه گذشته، شاهد روند رو به رشد استفاده از داروهای گیاهی و احیای طب سنتی هستیم (Sayyah *et al.*, 2004). کاهو حاوی مقادیر زیادی مواد معدنی ضروری مانند کلسیم، فسفر، آهن، پتاسیم، سدیم و همچنین مقادیر کمی منیزیم و گوگرد برای سلامتی انسان است و منبع غنی از ویتامین‌های A، B، K و C می‌باشد (Decoteau, 2000). جوانه زدن بذر، از مهم‌ترین مراحل در چرخه زندگی گیاهان عالی است. جوانه‌زنی شامل تمام فرایندهای فیزیولوژیکی درون دانه است که با جذب آب (برای شروع تنفس، سنتز پروتئین و سایر فعالیت‌های متابولیکی) شروع می‌شود و با ظهور ریشه جنینی پایان می‌یابد (Ouji *et al.*, 2015). تنش شوری منجر به تنش اسمزی و تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌شود (Gratão *et al.*, 2012). با این حال، اثرات تنش شوری بر گیاهان، بستگی به غلظت شوری، زمان قرار گرفتن در معرض نمک، ژنوتیپ گیاه و عوامل محیطی دارد (Alves *et al.*, 2018).

اگرچه سیلیکون یک ماده مغذی ضروری برای اکثر گیاهان در نظر گرفته نمی‌شود، اما بسیاری از مطالعات، اثرات مفید سیلیکون را در کاهش خسارات ناشی از عوامل تنش‌زا نشان داده‌اند (Alsaedi *et al.*, 2017). سیلیکون با بهبود عملکرد جوانه‌زنی و توانایی بذر در تحمل شرایط نامطلوب، در کاهش اثرات منفی تنش شوری نقش دارد. برخی مکانیسم‌های احتمالی که سیلیس از طریق آن می‌تواند تحمل به شوری را در گیاهان افزایش دهد عبارتند از: بی‌حرکت کردن یون سدیم سمی، کاهش جذب سدیم در گیاه و افزایش جذب پتاسیم (Maghsoudi and Emam, 2016). سیلیکون یک پیش‌ساز شناخته‌شده برای سنتز لیگنین است و بنابراین ممکن است نقش اساسی در مقاومت پوشش دانه ایفا کند (Toledo *et al.*, 2011).

نتایج مطالعه (لموس نتو و همکاران، ۲۰۱۸) نشان داد که سیلیکون اثرات مضر تنش شوری بر کیفیت فیزیولوژیکی بذر و مرحله رشد اولیه کاهو را کاهش داد (Lemos Neto *et al.*, 2018). براساس گزارش (سکو و همکاران، ۲۰۱۰)، تنش شوری باعث کاهش وزن ماده خشک گیاهچه‌های طالبی شد (Secco *et al.*, 2010). این کاهش به دلیل تأثیر غلظت کلرید سدیم بر کاهش تحرک آب (مکانیسم‌های هیدرولیز) و در نتیجه، کاهش سرعت جذب دانه است که به نوبه خود، بر سنتز پلیمرهای زیستی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و میزان هورمون‌های تنظیم‌کننده سلول گیاهی تأثیر می‌گذارد (Murillo-Amador *et al.*, 2001).

اگرچه استفاده از سیلیکون برای کاهش اثرات شوری بر جوانه‌زنی بذر در محصولات می‌مانند گوجه‌فرنگی قبلاً تأیید شده است (Almutairi, 2016)، اما مطالعاتی که برای کاهش اثرات منفی شوری از این ماده مغذی استفاده می‌کنند، برای اکثر سبزیجات، هنوز اندک است. در مورد کاهو، چنین مطالعاتی محدودتر است. این مطالعه برای بررسی اثر سیلیکون بر جوانه‌زنی کاهو تحت تنش شوری انجام شد.



۲. مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر سیلیکون بر جوانه‌زنی کاهو، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل شوری در سه سطح (شامل: صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) و سیلیکون در سه سطح (شامل: صفر، ۱/۵ میلی مولار و ۳ میلی مولار) با ۴ تکرار در آزمایشگاه کشاورزی مجتمع آموزش عالی نهاوند انجام شد. قبل از شروع آزمایش، پتری‌دیش‌ها ضدعفونی گردید. سپس کاغذ صافی در داخل هر پتری‌دیش قرار گرفت و ۱۰ عدد بذر کاهو در داخل هر کدام قرار داده شد. محلول‌های شوری با استفاده از NaCl شرکت مرک تهیه گردید. غلظت‌های مورد نیاز سیلیکون نیز تهیه شد. سپس تیمارهای مورد نظر بر هر پتری‌دیش اعمال شد. پتری‌دیش‌ها در داخل ژرمیناتور با دمای روز ۲۰ درجه و دمای شب ۱۸ درجه سانتی گراد، و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفت. تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز یادداشت گردید. سپس سرعت جوانه‌زنی براساس فرمول ۱ و درصد جوانه‌زنی نیز با فرمول ۲ محاسبه شد.

$$GR = \sum \frac{ni}{ti} \quad (\text{Verma et al., 2005}) \quad (GR) \text{ سرعت جوانه‌زنی (۱) فرمول}$$

ni: تعداد بذره‌های جوانه‌زده در هر روز؛ ti: تعداد روزها پس از شروع آزمایش

$$GP = \frac{n}{N} \times 100 \quad (\text{Ikic et al., 2012}) \quad (GP) \text{ درصد جوانه‌زنی (۲) فرمول}$$

n: مجموع کل بذره‌های جوانه‌زده در پایان آزمایش؛ N: تعداد کل بذرها

بعد از اتمام آزمایش، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن تر و وزن خشک گیاهچه‌ها اندازه‌گیری گردید. اعداد به دست آمده با کمک نرم افزار SAS مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. از آزمون LSD برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

۳. نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که شوری و سیلیکون بر طول ساقه‌چه، وزن تر و وزن خشک گیاهچه دارای اثر بسیار معنی‌دار بودند. همچنین شوری بر روی سرعت جوانه‌زنی، دارای اثر معنی‌دار بود. اثر متقابل سیلیکون و شوری نیز بر صفت طول ساقه‌چه، بسیار معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱ - تجزیه واریانس اثر سیلیکون بر جوانه‌زنی کاهو تحت تنش شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	وزن تر گیاهچه	وزن خشک گیاهچه
شوری	۲	۱۱۹/۴۴ ^{ns}	۴/۳۹*	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۷۹**	۰/۰۰۳**	۲/۹۱**
سیلیکون	۲	۱۶۹/۴۴ ^{ns}	۲/۵۰ ^{ns}	۱/۲۰ ^{ns}	۳/۸۱**	۰/۰۰۱**	۱/۴۳**
شوری × سیلیکون	۴	۲۸۶/۱۱ ^{ns}	۱/۶۳ ^{ns}	۱/۰۵ ^{ns}	۰/۸۷**	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۲/۳۸ ^{ns}
خطا	۲۷	۲۵۰/۹۲	۰/۹۴	۰/۵۳	۰/۱۳	۰/۰۰۰۰۹	۰/۰۰۰۰۰۰۹

ns، * و ** به ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن، معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد و معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد است.



نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که بالاترین وزن تر و خشک گیاهچه در شوری با سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار به دست آمد. همچنین بالاترین سرعت جوانه زنی نیز در شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار ایجاد شد (جدول ۲). ذرتی پور و همکاران (۱۳۹۸) گزارش کردند که بیشترین عملکرد کاهو با کاربرد بالاترین سطح شوری (۵۰ دسی زیمنس بر متر) به دست آمد.

جدول ۲ - مقایسه میانگین اثر شوری بر جوانه زنی کاهو

تیمار شوری	سرعت جوانه زنی (روز)	وزن تر گیاهچه (گرم)	وزن خشک گیاهچه (گرم)
صفر میلی مولار	۱/۶۴B	۰/۰۳B	۰/۰۰۱۰B
۵۰ میلی مولار	۲/۵۴A	۰/۰۶۱A	۰/۰۰۱۸۴A
۱۰۰ میلی مولار	۲/۷۹A	۰/۰۶۲A	۰/۰۰۱۸۴A

در هر ردیف، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت آماری معنی داری در سطح ۵ درصد ندارند.

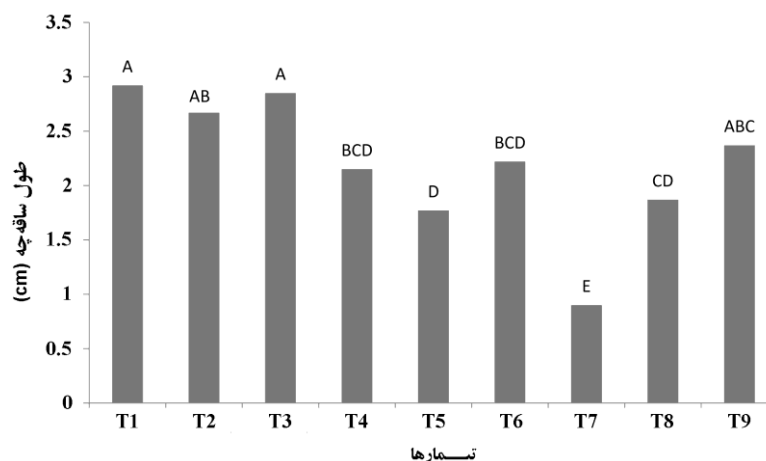
نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که بالاترین وزن تر و خشک گیاهچه، با کاربرد تیمار سیلیکون در سطح ۳ میلی مولار به دست آمد (جدول ۳).

جدول ۳ - مقایسه میانگین اثر سیلیکون بر جوانه زنی کاهو

تیمار سیلیکون	وزن تر گیاهچه (گرم)	وزن خشک گیاهچه (گرم)
صفر میلی مولار	۰/۰۴۶B	۰/۰۰۱۴B
۱/۵ میلی مولار	۰/۰۴۴B	۰/۰۰۱۳B
۳ میلی مولار	۰/۰۶۵A	۰/۰۰۱۹A

در هر ردیف، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت آماری معنی داری در سطح ۵ درصد ندارند.

بیشترین طول ساقه چه در تیمار شاهد بدون کاربرد شوری و سیلیکون به دست آمد که از نظر آماری با تیمارهای بدون شوری و کاربرد سیلیکون در سطوح ۱/۵ و ۳ میلی مولار و همچنین تیمار بالاترین سطح شوری و سیلیکون، تفاوت معنی داری نداشت. کمترین طول ساقه چه در بالاترین سطح شوری بدون کاربرد سیلیکون به دست آمد (شکل ۱). زو و مو (۲۰۱۵) گزارش کردند که رقم کاهو برگی نسبت به شوری مقاوم است و حساسیت ارقام مختلف کاهو به شوری متفاوت است (Xu and Mu, 2015).





شکل ۱: اثر متقابل شوری و سیلیکون بر طول ساقه چه کاهو

- T1 (شوری صفر × سیلیکون صفر)؛ T2 (شوری صفر × سیلیکون ۱/۵ میلی مولار)؛ T3 (شوری صفر × سیلیکون ۳ میلی مولار)؛
T4 (شوری ۵۰ میلی مولار × سیلیکون صفر)؛ T5 (شوری ۵۰ میلی مولار × سیلیکون ۱/۵ میلی مولار)؛ T6 (شوری ۵۰ میلی مولار × سیلیکون ۳ میلی -
مولار)؛
T7 (شوری ۱۰۰ میلی مولار × سیلیکون صفر)؛ T8 (شوری ۱۰۰ میلی مولار × سیلیکون ۱/۵ میلی مولار)؛ T9 (شوری ۱۰۰ میلی مولار × سیلیکون ۳
میلی مولار)

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کاهو در مرحله جوانه زنی دارای تحمل نسبتاً بالایی به تنش شوری است. بیشترین وزن تر و خشک گیاهچه، در تیمارهای شوری با سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار و نیز تیمار سیلیکون ۳ میلی مولار به دست آمد. کاربرد سیلیکون در مورد صفت طول ساقه چه توانست اثر تنش شوری را تا حدود زیادی خنثی کند به طوری که اثر متقابل بالاترین سطح شوری و سیلیکون، یکی از تیمارهایی بود که بیشترین طول ساقه چه را ایجاد کرد.

منابع

- ذرتی پور، ا.، سلطانی محمدی، ا.، عالمزاده انصاری، ن. ۱۳۹۸. بررسی عملکرد و بهره‌وری مصرف آب کاهو برگی تحت تنش خشکی و شوری در شرایط گلخانه‌ای. نشریه علمی آبیاری و زهکشی ایران، ۱۳(۲): ۴۵۰ - ۴۶۱.
- Almutairi, Z.M. (2016). Effect of nano-silicon application on the expression of salt tolerance genes in germinating tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings under salt stress. *Plant Omics Journal*, 9(1): 106-114.
- Alsaedi, A., El-Ramady, H., Alshaal, T.A., and Almohsen, M. (2017). Enhancing seed germination and seedlings development of common bean (*Phaseolus vulgaris*) by SiO₂ nanoparticles. *Egyptian Journal of Soil Science*, 57(4): 407-415.
- Alves, R.C., Santana de Medeiros, A., Nicolau, M.C.M., Neto, A.P., Oliveira, F.A., Lima, L.W., Tezotto, T., and Gratão, P.L. (2018). The partial root-zone saline irrigation system and antioxidant responses in tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 127: 366-379.
- Decoteau, D.R. (2000). *Vegetable Crops*. Prentice-Hall, Inc., New Jersey, US., 464 pages.
- Gratão, P.L., Monteiro, C.C., Carvalho, R.F., Tezotto, T., Piotto, F.A., Peres, L.E.P., and Azevedo, R.A. (2012). Biochemical dissection of diageotropica and Never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 56: 79-96.
- Ikić, I., Maričević, M., Tomasović, S., Gunjača, J., Šatović, Z., and Šarčević, H. (2012). The effect of germination temperature on seed dormancy in Croatian-grown winter wheats. *Euphytica*, 188: 25-34.
- Lemos Neto, H.S., Guimarães, M.A., Sampaio, I.M.G., Hendges, A.R.A.A., Bosco de Oliveira, A., Filho, S.M. (2018). Silicon (Si) reduces the effects of salt stress on germination and initial growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Australian Journal of crop science*, 12(09): 1410-1418.
- Maghsoudi, K., and Emam, Y. (2016). The effect of exogenous silicon on seed germination and seedling growth of wheat cultivars under salt stress conditions. *Iran Agricultural Research*, 35(2): 1-8.
- Murillo-Amador, B., Troyo-Diéguez, E., López-Cortés, A., Jones, H.G., Ayala-Chairez, F., and Tinoco-Ojanguren, C.L. (2001). Salt tolerance of cowpea genotypes in the emergence stage. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41(1): 81-88.
- Ouji, A., El-Bok, S., Mouelhi, M., Ben Younes, M., and Kharrat, M. (2015). Effect of salinity stress on germination of five Tunisian lentil (*Lens culinaris* L.) genotypes. *European Scientific Journal*, 11(21): 63-75.

- Sayyah, M., Hadidi, N., and Kamalinejad, M. (2004). Analgesic and anti-inflammatory activity of *Lactuca sativa* seed extract in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 92: 325- 329.
- Secco, L.B., Queiroz, S.O., Dantas, B.F., Souza, Y.A., Pereira da Silva, P. (2010). Qualidade de sementes de acessos de melão (*Cucumis melo* L.) em condições de estresse salino. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 5(2): 1-11.
- Toledo, M.Z., Garcia, R.A., Merlin, A., and Fernandes, D.M. (2011). Seed germination and seedling development of white oat affected by silicon and phosphorus fertilization. *Scientia Agricola*, 68(1): 18-23.
- Verma, S.K., Bjpai, G.C., Tewari, S.K., and Singh, J. (2005). Seedling index and yield as influenced by seed size in pigeon pea. *Legume Research*, 28(2): 143-145.
- Xu, C., and Mou, B. (2015). Evaluation of lettuce genotypes for salinity tolerance. *HortScience*, 50(10): 1441-1446.

بررسی ترکیبات اصلی اسانس چهار گونه دارویی (خاکشیر ایرانی، شوید، زیره سیاه ایرانی،**بادرنجبویه) مورد استفاده در درمان سنتی بیماری های گوارشی در شهرستان بجنورد**مجید حلیمی خلیل آباد^۱، محبت نداف^{۲*}، رضا امیدی پور^۳^۱ گروه شیمی، دانشکده علوم پایه و فنی و مهندسی، دانشگاه کوثر بجنورد، ایران.^{۲*} گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی دانشکده علوم پایه، دانشگاه کوثر بجنورد، بجنورد، ایران. (M_nadaf@kub.ac.ir)^۳ گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.**چکیده**

ایران کشوری چهار فصل و دارای شرایط محیطی بی نظیر می باشد که این تنوع در خصوصیات محیطی و آب و هوایی موجب گسترش و استقرار تنوع گیاهی بسیار زیادی در مناطق مختلف کشور شده است. با توجه به افزایش تنوع و هزینه بیماری ها و درمان های شیمیایی آنها و همچنین با در نظر گرفتن عوارض و اثرات نامطلوب بسیاری از داورهای شیمیایی، استفاده از داروهای گیاهی یکی از رویه های مرسوم در درمان بسیاری از بیماری ها می باشد. از طرفی، استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان بیماری ها در موارد بسیاری دارای هزینه کمتر نیز می باشد. به همین دلیل اطلاع از خواص درمانی گیاهان مختلف برای استفاده بهتر و کاربردی تر از آنها ضروری است. در این تحقیق، ابتدا لیست گیاهان دارویی مورد استفاده در شهر بجنورد پس از مصاحبه با تمام فروشگاه های فروش گیاهان دارویی موجود در سطح شهر (عطاری ها) تهیه و پس از بررسی چهار گونه پر استفاده تر شامل خاکشیر ایرانی (*Descurainia sophia*)، شوید (*Anethum graveolens*)، زیره سیاه ایرانی (*Bunium persicum*) و بادرنبویه (*Meliss officinalis*) انتخاب و ترکیبات شیمیایی گزارش شده در منابع مختلف گردآوری و مورد بررسی قرار گرفته است.

واژگان کلیدی: تنوع زیستی، سلامت، گیاهان دارویی، خراسان شمالی.



۱. مقدمه

بشر از دیرباز از گیاهان برای درمان بیماری‌ها و حفظ سلامتی استفاده می‌کند (Toghranegar *et al.*, 2020). امروزه داروهای گیاهی سهم بزرگی از فرآورده‌های دارویی را به خود اختصاص داده و به عنوان نوآوری‌های زیستی در عرصه پزشکی جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی هستند و یا بسیاری از گیاهان که امروزه مصرف می‌شوند منشأ گیاهی دارند (Ziaei *et al.*, 2014). بیماری‌های گوارشی از معضلات نظام سلامت در دنیا و از علل شایع مرگ و میر می‌باشند. در بین بیماری‌های گوارشی، سوءهاضمه و ریفلکس جزء شایع‌ترین بیماری‌های گوارشی هستند که باعث کاهش کیفیت زندگی و بار اقتصادی سنگین می‌شوند. بر اساس نتایج تحقیقات، شیوع زخم معده در دنیا ۱۵-۶ درصد است اما در ایران حدود ۴۱ درصد تخمین زده شده است، مطابق با مطالعات انجام شده اسهال از جمله بیماری‌های عفونی شایع دیگر است که بین ۱۹ تا ۸۳ نفر از هر صد نفر بسته به منطقه جغرافیایی به آن مبتلا می‌شوند. اسهال علاوه بر این اختلالات، تهوع، بیماری‌های انگلی، بیماری‌های عفونی، نفخ، یبوست، سندروم روده تحریک‌پذیر، التهاب روده، کبد چرب و نارسای‌های کبدی از شایع‌ترین اختلالات گوارشی هستند (Toghranegar *et al.*, 2020). ایجاد بیماری‌های گوارشی وابسته به الگوهای غذا خوردن، محدود بودن مواد غذایی، روزه‌داری یا پرخوری و وعده‌های غذایی نامنظم می‌باشد (Ziaei *et al.*, 2014).

روغن‌های اسانس می‌توانند به طرق مختلفی به بهبود سلامت گوارشی کمک کنند. خواص ضد میکروبی یکی از مزایای استفاده از ترکیبات گیاهی از قبیل روغن و اسانس است. بطور کلی، روغن‌هایی مانند اورگانو و آویشن می‌توانند با باکتری‌ها، قارچ‌ها و انگل‌های مضر در روده مبارزه کنند و به بهبود سلامت دستگاه گوارش کمک کنند (Lira *et al.*, 2020). اثرات ضد التهاب نیز یکی دیگر از مزایای این فرآورده‌های گیاهی است. برای مثال، روغن‌هایی مانند زنجبیل و زردچوبه می‌توانند به کاهش التهاب در دستگاه گوارش کمک کنند و علائم شریانی مانند گاستریت و بیماری‌های التهابی روده را کاهش دهند (Bekkouch *et al.*, 2023). همچنین کمک به هضم از دیگر مزایای این مشتقات گیاهی بشمار می‌رود. برای مثال، روغن نعناع می‌تواند به کاهش علائم سوءهاضمه، نفخ و گاز معده کمک کند. این روغن عضلات معجری گوارشی را شل کرده و می‌تواند ناراحتی را تسکین دهد (Shabbir *et al.*, 2020). از سوی دیگر، روغن‌ها و اسانس‌های گیاهی موجب کاهش حالت تهوع می‌شوند. بطور کلی، روغن‌های زنجبیل و لیمو به طور سنتی برای کاهش حالت تهوع و استفراغ مورد استفاده قرار می‌گیرند، که می‌تواند برای شرایطی مانند بیماری حرکتی یا حالت تهوع بارداری مفید باشد (Lete & Allué, 2016). کاهش استرس نیز یکی دیگر از مزایای این فرآورده‌های گیاهی است. برای مثال، برخی روغن‌های اسانس، از جمله اسطوخودوس و بابونه، می‌توانند به کاهش استرس و اضطراب کمک کنند که معمولاً به مشکلات گوارشی منجر می‌شود (Sattayakhom *et al.*, 2023). در نهایت، تحریک عملکرد گوارشی نیز جزو خواص روغن‌ها و اسانس گیاهان ذکر شده است. در این زمینه گزارش شده است که روغن‌های اسانس می‌توانند تولید آنزیم‌های گوارشی و صفرا را تحریک کنند و در نتیجه هضم و جذب مواد مغذی را بهبود بخشند (Su *et al.*, 2021). با توجه به اهمیت نوع ترکیبات موجود در اسانس گیاهان دارویی و اثرات هر کدام از این اجزا بر سلامت انسان، هدف از مطالعه حاضر، معرفی ترکیبات اصلی اسانس چهار گیاه دارویی مهمی است که در عطاری‌های شهرستان بجنورد واقع در استان خراسان شمالی جهت درمان بیماری‌های گوارشی مصرف می‌شوند.

۲. مواد و روش‌ها

۱-۲. منطقه مورد مطالعه

شهر بجنورد مرکز استان خراسان شمالی با ۳۶ کیلومتر مربع مساحت، در شمال شرق ایران در طول جغرافیایی ۵۷ درجه و ۲۰ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۲۸ دقیقه در جنوب رشته کوه کپه داغ و شرق رشته کوه آلاداغ و شمال رشته کوه البرز واقع شده است. ارتفاع بجنورد از سطح دریا ۱۰۷۰ متر و فاصله آن تا تهران ۸۲۱ کیلومتر می باشد (شکل ۱).



شکل ۱. نقشه خراسان شمالی و شهرستان چنورد

۲-۲. نحوه جمع آوری داده‌ها

روش اصلی مبتنی بر اطلاعات یابی به شیوه مستقیم و جمع آوری داده های خام و مصاحبه در مورد گونه های گیاهی که در درمان بیماری های گوارشی کاربرد داشته اند بوده است. اطلاعات از ۳۴ عطاری در شهرستان بجنورد، استان خراسان شمالی بدست آمد (شکل ۲).

۳-۲. شناسایی گونه‌های گیاهی

شناسایی گونه‌های گیاهی با استفاده از فلورا ایرانیکا انجام شد (Rechinger, 1963-2015). پس از تهیه اطلاعات اولیه لیست گیاهان دارویی مورد استفاده در شهر بجنورد، از بین گونه‌های معرفی شده، گونه‌هایی که بیشترین استناد داشتند مشخص شدند. برای انجام این کار، از شاخص فراوانی ارجاع ((Frequency of Citation (FC) استفاده شد و در نهایت، ترکیبات شیمیایی آن‌ها با استفاده از مقالات مشخص شدند.

۳. نتایج

از بین گونه‌های معرفی شده، چهار گونه‌ای که بیشترین استناد را داشتند عبارتند از: خاکشیر ایرانی (*Descurainia* *Bunium persicum* (Boiss.)، زیره سیاه ایرانی (*Anethum graveolens* L.)، شوید (*sophia* (L.) Webb ex Prantl)، و بادرنجویه (*Meliss officinalis* L.). با توجه به اینکه ۴ گونه بیشترین استناد را داشتند، با بررسی منابع مختلف، مواد شیمیایی موثر آن‌ها ارائه شد. ترکیب اصلی اسانس این گیاهان در جداول ۴-۱ نشان داده شده است.

۳-۱. ترکیبات اصلی اسانس گیاه خاکشیر ایرانی

خاکشیر ایرانی با نام علمی *Descurainia sophia* که با نام‌های *flixweed* و *tansy mustard* نیز شناخته شده است گونه‌ای از خانواده شب‌بوئیان (Brassicaceae) است و بیشتر در فصول گرم به عنوان نوشیدنی که خنک کننده هست مورد استفاده قرار می‌گیرد. گیاه خاکشیر در خراسان با نام Khobbah نیز شناخته می‌شود (شکل ۲).



شکل ۲. گیاه خاکشیر ایرانی

ترکیبات اساسی اسانس گیاه خاکشیر ایرانی با بررسی متون و مقالات مختلف در جدول شماره ۱ آورده شده است. در بین این ترکیبات نمونه مطالعه شده توسط (Li و همکاران، ۲۰۱۰) دو منطقه از کشور چین (کانزو و پکن)، ترکیبات اوسیمین (Ocimene) و منتول (Menthol) بیشترین ترکیب درصد از اسانس حاصل از این گیاه را شامل می‌شود (Li et al., 2010).



نمونه مطالعه شده دیگری توسط (Tavakoli و همکاران ۲۰۱۲) ۱۲ در ایران (ارتفاعات البرز) در دو بخش از اندام‌های هوایی ساقه و برگ مورد مطالعه قرار گرفته است (Tavakoli et al., 2012). ترکیبات اوسیمین (Ocimene) و هگزاهیدروفارنزیل استن (Hexahydrofarnesyl acetone) بیشترین مقدار را در اسانس نمونه مورد نظر شامل می‌شوند (جدول ۱).

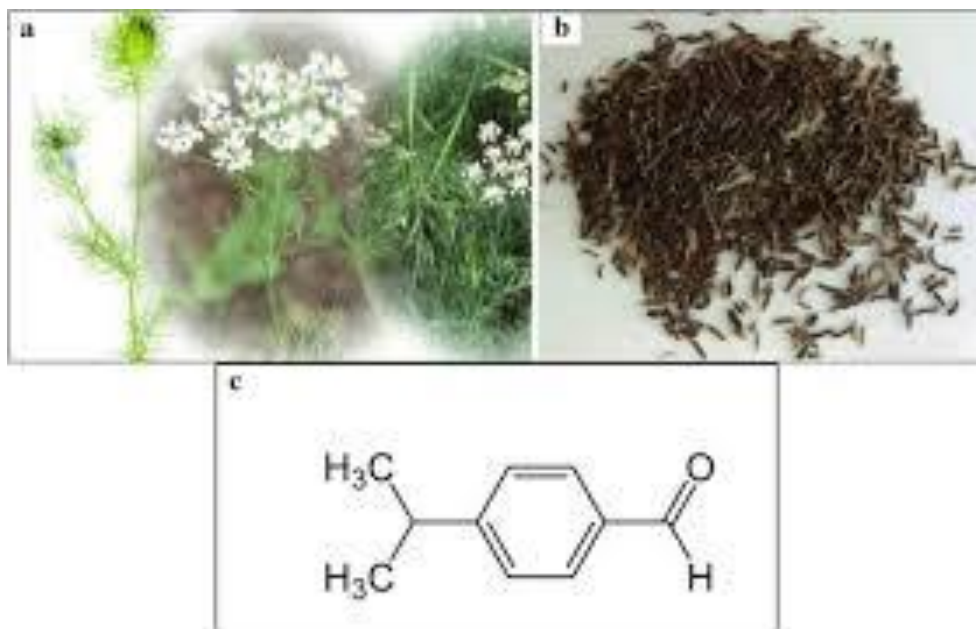
جدول ۱: ترکیبات شیمیایی اصلی اسانس گیاه خاکشیر ایرانی (*Descurainia Sophia*).

محل جمع آوری گیاه				فرمول شیمیایی	ترکیبات
کشور چین		ایران، ارتفاعات البرز			
کانگزو	بیجینگ	برگ	ساقه		
۲۱/۱۷	۱۷/۹۳	۷/۰۲	۷/۱۸	C ₁₀ H ₁₆	Ocimene
۱۱/۲۷	۱۰/۷	-	-	C ₁₀ H ₂₀ O	Menthol
۳/۵	۲/۹۶	-	-	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	Neoisomenthyl acetate
۲/۲۵	۱/۶۹	-	-	C ₁₅ H ₂₄	Longicyclene
۲/۲۸	۲/۱۸	-	-	C ₁₅ H ₂₄	Alloaromadendrene
-	-	۳/۸۷	۴/۵۹	C ₁₅ H ₂₄	Caryophyllene
-	-	۶	۶/۲	C ₁₆ H ₂₄ O	Ionone
-	-	۴/۱۸	۵/۸۹	C ₁₅ H ₂₆ O	Cedrol
-	-	۱۰/۷۹	۸/۸۷	C ₁₈ H ₃₆ O	Hexahydrofarnesyl acetone
-	-	۷/۲	۵/۵۲	C ₂₀ H ₄₀ O	Phytol
-	-	۴/۲۱	۵/۸۵	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	Methyl linolenate

۳-۲. ترکیبات اصلی اسانس گیاه زیره سیاه ایرانی

زیره سیاه ایرانی (*Bunium persicum*)، گیاهی از خانواده چتریان (Apiaceae) است که در ایران به زیره وحشی یا زیره کوهی نیز معروف می‌باشد (شکل ۳). این گیاه یک گیاه معطر چندساله است که دارای گل‌های کوچک سفید یا صورتی و دانه‌های قهوه‌ای کوچک است و به طور طبیعی در مناطق دارای آب و هوای مدیترانه‌ای می‌روید. از جمله آسیای مرکزی و غربی، که ایران، ترکیه، سوریه، پاکستان، تاجیکستان، افغانستان، شمال هند (کشمیر و پامیر)، چین، برخی مناطق اروپا، شمال آفریقا و آمریکای جنوبی را شامل می‌شود (Aminzare et al., 2017). پروفایل فیتوشیمیایی گزارش شده در مقالات مختلف نشان دهنده این می‌باشد که ترکیبات اصلی اسانس این گیاه ترکیبات کومینالدهید (Cuminaldehyde) و گاما ترپینن (-γ-terpinene) می‌باشد (Foroumadi et al., 2002; Jalilzadeh et al., 2011; Rabiey et al., 2013; Chizzola et al., 2014; Tavakoli et al., 2015; Sharopov et al., 2015; Keramat & Golmakani, 2016; Ehsani et al., 2016; Stappen et al., 2017) که در جدول ۲ ارائه شده‌اند. در گونه زیره سیاه، ترکیب کومینالدهید (یک آلدئید مونوترپن اکسید شده) جزء اصلی روغن اساسی در دانه‌های زیره که اثرات پزشکی امیدوارکننده‌ای را نشان داده است و همه تحقیقات به آن اشاره داشته‌اند (بجز Mohamadi et al., 2023). البته با توجه به اینکه ترکیب آلدیدی دیگری به نام ۲-متیل-۳-فنیل

پروپانالدهید به عنوان ترکیب اصلی در گزارش آمده است، احتمال اینکه خطایی در تعیین ترکیبات رخ داده باشد نیز می-
باشد (Taherkhani *et al.*, 2015).



شکل ۳. تصویری از گیاه زیره سیاه ایرانی (a)، اندام‌های هوایی یا دانه (b) و ساختار ترکیب کومینالدهید (c)

جدول ۲. ترکیبات شیمیایی اصلی اسانس گیاه زیره سیاه ایرانی (*Bunium persicum*)

درصد ترکیبات		ترکیبات									
		کمیته ترکیبات									
		(Sharopov & Muhammadsho, 2015)	Rabiey <i>et al.</i> , 2013	Jalilzadeh-Amin <i>et al.</i> , 2011a	Tavakoli Kareskh, <i>et al.</i> , 2015	Taherkhani <i>et al.</i> , 2015	Stappen <i>et al.</i> , 2017	Keramat and Golmakani, 2016	Ehsani <i>et al.</i> , 2016	Foroumadi <i>et al.</i> , 2002	Chizzola <i>et al.</i> , 2014
α - pinene	C ₁₀ H ₁₆	۰/۶	-	۰/۹	۲/۷	۰/۷۴	۰/۱	۱/۵۲	-	۱/۵	۰/۶
β -pinene	C ₁₀ H ₁₆	۹/۱	-	۲/۲۷	۲/۵	۱/۳۲	۰/۱	۲/۷۲	۱۱/۲۷	۳/۱	۱/۳
Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	-	-	-	۱/۸	۰/۵۶	۰/۷	-	-	۰/۸	-
γ -terpinene	C ₁₀ H ₁₆	۱۰/۹	۱۹/۳۶	۱۴/۴۸	۴۶/۱	۲۱/۸۶	۴۰/۴	۱۶/۰۲	۱۱/۳۷	۲۵/۸	۲۶/۳
Cuminaldehyd e	C ₁₀ H ₁₂ O	۳۶	۲۲/۳۷	۲۳/۰۴	۱۵/۵	-	۱۲/۹	۳۲/۸۱	۱۱/۴	۲۷	۱۹/۸
limonen	C ₁₀ H ₁₆	-	۳/۰۱	-	۵/۹	۳/۵۳	-	۰/۱۶	-	۵/۱	۶/۲



p-cymene C₁₀H₁₄ ۵/۳ ۶/۵۶ - ۶/۷ ۷/۱۱ ۲۵/۸ ۱۴/۰۷ - ۱۲/۱ ۱۴/۲

۳-۳. ترکیبات اصلی اسانس گیاه شوید

گیاه شوید (*Anethum graveolens*) (شکل ۴) یک گیاه دارویی معطر از خانواده چتریان (Apiaceae) است که در نقاط مختلف جهان از جمله ایران کشت می شود. این گونه، یک گیاه سالانه است که به صورت راستای ایستاده رشد می کند و دارای برگ های پَرزنی و خوشبو به رنگ سبز آبی و چترهای صاف جذاب به قطر ۱۰ اینچ (۲۵ سانتی متر) از گل های زرد کوچک در تابستان است. شکوفه های معطر و زیبا دارای دانه های کوچک بیضی شکل و صاف با طعمی شبیه به انیسون و جعفری، برگ ها می توانند خشک یا منجمد شوند تا برای استفاده های بعدی ذخیره گردند. با این حال، بهترین طعم را زمانی دارند که تازه از باغ چیده شوند (Jana & Shekhawat, 2010). گیاه شوید از زمان های قدیم در داروهای آیورودا استفاده شده و یک گیاه محبوب است که به طور گسترده ای به عنوان ادویه و همچنین تولید کننده روغن ضروری استفاده می شود. استفاده های آیورودایی از دانه های شوید شامل کارمیناتیو، معده ساز و ادرار آور است. اجزای فرار مختلفی در دانه ها و گیاه شوید وجود دارد؛ کاروون به عنوان بوی غالب دانه های شوید و α-فلندرن، لیمونن، اتر شوید و میریستیسین مهم ترین بوهای گیاه شوید هستند. ترکیبات دیگری که از دانه ها جدا شده اند شامل کومارین ها، فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک و استروئیدها هستند (Jana & Shekhawat, 2010). با توجه به جدول شماره ۳ مشاهده می گردد که ترکیبات اصلی گزارش شده در مقالات مختلف شامل ترکیبات فلندرن، پارسایمن، دیلاپول، اتر شوید، کارون و دی هیدرو کارون می باشد. ترکیب کارون در مقایسه با دیگر ترکیبات سهم بیشتری را در اکثر مطالعات به خود اختصاص داده است (Vera & Chane-Ming 1998; Rahimizadeh, M. 2000; Singh et al., 2006; Yili et al., 2006; Amin & Sleem 2007; Osman et al., 2009; Sharopov et al., 2013; Zhang et al., 2014; Hussein et al., 2015; Kaur et al., 2019).

شکل ۴. گیاه شوید (*Anethum graveolens*)جدول ۳. ترکیبات شیمیایی اصلی اسانس مشتق شده از *Anethum graveolens* L

نوع ترکیبات		درصد ترکیبات									
	فرمول شیمیایی	Hassanzadeh & Rahimizadeh, 2000	Singh <i>et al.</i> , 2006	Sharopov <i>et al.</i> , 2013	Osman <i>et al.</i> , 2009	Rana & Blazquez, 2014	Vera & Chane-Ming, 2008	Amin & Sleem, 2007	Yili <i>et al.</i> , 2006	Kaur <i>et al.</i> , 2019	Hussein <i>et al.</i> , 2015
α - pinene	$C_{10}H_{16}$	-	-	-	-	۱/۲	۱/۷	۶/۴	-	۱/۰۶	۳/۰۵
Myrcene	$C_{10}H_{16}$	-	-	-	-	۰/۸	۰/۶	-	-	۲/۳۶	۰/۸۱
phellandrene	$C_{10}H_{16}$	۲۷/۸	-	۸	۱۳/۵	۳۱/۸	۵۶/۵	۶۳	۰/۰۳	۰/۸	۷۱/۵۱
limonene	$C_{10}H_{16}$	۱۵/۵۳	۱۶/۶	۶/۹	۱۳	۱۱/۸	۱۰/۹	۲/۴	۱۴/۶۹	۲۳/۱۱	-
p -cymene	$C_{10}H_{14}$	۲۹/۶۱	-	۱/۱	۶/۵	۵/۳	۳/۸	۳/۳۷	-	-	۸/۳۴
carvone	$C_{10}H_{14}O$	۰/۱۵	۵۵/۲	۵۱/۷	۲۰/۴	۲/۱	۰/۴	-	۷۳/۶۱	۴۱/۱۵	-
Dihydrocarvone	$C_{10}H_{16}O$	-	۵/۴	۱۶/۳	۱۲	-	-	-	-	۳/۷۵	-
Dill apiole	$C_{12}H_{14}O_4$	-	۱۴/۴	۰/۴	-	۱۵/۳	-	۰/۱۱	-	۱/۶۵	۴/۰۹
Dill ether	$C_{10}H_{16}O$	-	-	-	-	۱۳/۲	-	۶/۲	-	-	۶/۲

۳-۴. ترکیبات اصلی اسانس گیاه بادرنجبویه

بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L)، یکی از اعضای نعنائیان (Lamiaceae)، گیاهی چند ساله است که تا ۱۰۰ سانتی متر رشد می کند. منشأ این گونه از جنوب اروپا، آسیای صغیر و بخش های جنوبی آمریکای شمالی است. جمعیت بادرنجبویه در تمام کشورهای مدیترانه ای از جمله مناطق ساحلی ترکیه و شمال ایران پراکنده است. بادرنجبویه برای مصارف متعددی از جمله افزودنی در غذا، چای گیاهی، ماده تشکیل دهنده لوازم آرایشی، زینتی و دارویی استفاده می شود. اسانس آن در حال حاضر در پزشکی و فارماکولوژی (ضد تومور، ضد باکتری، ضد میکروبی، آنتی هیستامین، ضد اسپاسم و آنتی اکسیدان به دلیل اثر ضد ویروسی آن در درمان تبخال، ضد سرطان، بیماری آلزایمر متوسط، تعدیل خلق و خوی استفاده می شود. علاوه بر این، بادرنجبویه به دلیل خواص تقویت کننده حافظه به طور سنتی مورد استفاده قرار می گرفته است، اما استفاده از آن در حال حاضر بیشتر به عنوان آرام بخش یا آرام بخش، ضد اسپاسم و ضد باکتری و خواب آور استفاده می شود (Adinee et al., 2008).

شکل ۵. گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L)

با توجه به جدول ۴، اجزای اصلی گزارش شده از اسانس این گیاه ترکیبات: سیترونلا (*Citronella*) و کاریفیلن اکسید (*Caryophyllene oxide*) می باشد. همچنین در تحقیقی که توسط (Jalal و همکارانش، ۲۰۱۵) و سایر تحقیقات انجام شده است گزارش گردید که ترکیبات ژرانیول (*Geraniol*) و نرال (*Neral*) اجزای اصلی اسانس گیاه بادرنجبویه را شامل می شوند (Shabby et al., 1995; Hollá et al., 1997; Mimica-Dukic et al., 2004; Nurzyńska-Wierdaka et al., 2014).

جدول ۴. ترکیبات شیمیایی اصلی اسانس گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L)

نوع ترکیبات	فرمول شیمیایی	درصد ترکیبات				
		Shabby et al., 1995	Hollá et al., 1997	Mimica-Dukic et al., 2004	Nurzyńska-Wierdaka et al., 2014	Jalal et al., 2015
Citronella	C ₁₀ H ₁₈ O	۱۳/۳۲	۱۱/۳۱	۱۳/۷	۸/۷	۱۴/۴
Neral	C ₁₀ H ₁₆ O	۱۹/۷۵	۲۲/۱۸	۱۶/۵	۳۲/۸	۳/۵



geranial	C ₁₀ H ₁₆ O	۲۶/۸	۳۳/۶	۲۳/۴	۴۵/۲	-
geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	۴/۲۳	-	۳/۴	-	۱
caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	۴/۹۵	۴/۲	۴/۶	۳/۳	۸/۲
Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	۹/۹۹	۸/۳۵	۱/۷	۲/۱	۱۱
limonene	C ₁₀ H ₁₆	۰/۷۴	۰/۱۱	۲/۲	-	-

۴. بحث و نتیجه گیری

ترکیبات اصلی اسانس گیاه خاکشیر ایرانی (*Descurainia Sophia*) در جدول ۱ نشان داده شده است. این ترکیبات شامل منتول، اوسیمین و هگزاهیدروفارنزیل استن می باشد. منتول به عنوان یک دارو جهت درمان سردرد روده تحریک پذیر پیشنهاد شده است (You et al., 2020). ترکیب اوسیمین به دلیل خاصیت ضد التهابی می تواند در درمان دردهای التهابی معده موثر باشد (Dini et al., 2022). ترکیب هگزاهیدروفارنزیل استن با داشتن پتانسیل اثرات ضد باکتریایی بالا می تواند در درمانهای میکروبی گوارشی موثر باشد (Alilou & Akssira, 2021).

ترکیبات اصلی اسانس زیره سیاه شامل: ۷-ترپنین، پاراسیمین، α-پاینن، لیمونن، کومینالدئید، بتا پاینن و میرسن است که در جدول ۲ نشان داده شده است. اثرات ضد التهابی، ضد درد، ضد تشنج، ضد میکروبی و ضد قارچی آن ثابت شده اند. در این راستا، مطالعه ای که توسط امین (Jalilzadeh و همکاران، ۲۰۱۱) روی عصاره این گیاه در شرایط آزمایشگاهی انجام شد نشان داد که عصاره دانه این گیاه قادر به افزایش حرکات عضلات صاف است. ترکیب اصلی موجود در اسانس گیاه زیره سیاه ایرانی ۷-ترپنین است. ۷-ترپنین یک مونوترپن است که در گونه های مختلف گیاهان یافت می شود و تا به امروز چهار اثر درمانی شامل اثر ضد التهابی، ضد تشنج، ضد درد و ضد اضطراب برای آن ثابت شده است (Passos et al., 2015).

شوید (*Anethum graveolens*) گیاهی دارویی و یکساله با مواد موثره است که در درمان بیماری هایی مانند سرماخوردگی، سرفه، مشکلات ادراری، نفخ، تشنج و اسپاسم کاربرد فراوانی دارد (امامی و حسینی، ۱۳۸۸). دو ماده فعال موجود در اسانس شوید شامل دی هیدروکارون و لیمونن می باشند که دارای اثرات آنتی اکسیدانی و تثبیت غشاهای سلولی کبد و کاهش انتشار آنزیم در جریان خون هستند (جدول ۳). تحقیقات نشان داده است که اسانس شوید دارای فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی است که به ماده فعال کارون در این گیاه همچنین اثر ضد زخم عصاره آبی و هیدروالکلی دانه شوید ثابت شده است. عصاره دانه شوید به دلیل دارا بودن ترکیبات فلاونوئیدی اثر محافظتی بر مخاط معده دارد. همچنین تأثیر گیاه شوید در کاهش چربی و کلسترول خون به اثبات رسیده است. اثر کاهش دهنده گلوکز عصاره شوید مربوط به ترکیب فلاونوئیدی کورستین است. ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در شوید باعث کاهش جذب گلوکز به روده می شود و ترکیبات لیمونن و کارون موجود در شوید نیز دارای اثرات ضد درد و ضد التهابی هستند. کاروون از طریق گیرنده های گلو تامات دارای اثرات ضد درد است، به علاوه فعالیت ضد درد آن ممکن است با کاهش تحریک اعصاب محیطی باشد. مهم ترین ماده موثره دی هیدروکارون است که هم در بدن رویشی و هم در دانه های این گیاه وجود دارد. برگ های این گیاه حاوی روغنی است که از کارون، لیمونن و فلاندرین تشکیل شده است (دهکردی و همکاران، ۱۳۹۶).



در این مطالعه از گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) نیز به عنوان گیاه دارویی استفاده شد. ساقه این گیاه حاوی غلظت زیادی اسانس است. مهمترین ترکیبات اسانس بادرنجبویه عبارتند از: سیترونلا، نرال، ژرانیول، ژرانیال، لیمونن، کاریوفیلن، کاریوفیلن اکسید و سایر ترکیبات مانند تانن ها، فلاونوئیدها و پلی فنول ها (جدول ۴). برگ های آن حاوی مونوترپنئیدهای آلدئیدی، فلاونوئیدها، مواد پلی فنلی (اسید رزمارینیک، اسید کافئیک) و تری ترپن ها می باشد. همچنین این گیاه حاوی سزکوئی ترپن و مواد حاوی اکسیژن است (Guginski *et al.*, 2009). گیاه بادرنجبویه به عنوان آرام بخش، تقویت کننده قلب، حافظه و ذهن است. از این گیاه برای درمان بیماری های گوارشی، قلبی عروقی و عصبی استفاده می شود و ضماد آن ضد تبخال است. همچنین برای درمان بی خوابی، اختلالات خواب، اضطراب، افسردگی، بیماری های عصبی، میگرن، حالت تهوع، معده عصبی، بی اشتها، قولنج، سرفه، قاعدگی نامنظم، دندان درد و عصبی بودن مصرف می شود و درد را تسکین می دهد. با بررسی مطالعات قبلی بر روی عصاره این گیاه می توان نتیجه گرفت که احتمالاً لیمونن است که مسئول خواص ضد درد و ضد التهابی آن است (Pandey *et al.*, 2016).

منابع

- امامی سد، حسینی نم. ۱۳۸۸. کتاب زراعت و تولید برخی گیاهان دارویی و ادویه ای. انتشارات دانشگاه تهران.
- ضیائی محبوبه، شریفی مظفر، نقدی بادی حسنعلی، تحصیلی ژاله، قربانی نهوجی مجید. مروری بر گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) با تأکید بر عمده ترین ترکیبات ثانویه و ویژگی های زراعی و دارویی آن. فصلنامه گیاهان دارویی. ۱۳۹۳؛ ۱۳ (۵۲) ۴۰-۲۶:
- طغرانگار زهره، وفادار مهناز، قربانی نهوجی مجید. مطالعه اتنوفارماکولوژی گیاهان دارویی مؤثر در درمان بیماری های گوارشی شهرستان ماهنشان. فصلنامه گیاهان دارویی. ۱۳۹۹؛ ۱۹ (۷۵) ۲۶۶-۲۹۰
- Adine J, Piri K, Karami O. 2008. Essential Oil Component in Flower of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.). American Journal of Biochemistry and Biotechnology. 4(3):277-278.
- Alilou H, Akssira M. 2021. Chemical composition, antibacterial, antioxidant and insecticidal activities of moroccan *Thapsia transtagana* essential oil. Saudi Journal of Biological Sciences. 28(12):6756-6764.
- Amin WM, Sleem AA. 2007. Chemical And Biological Study Of Aerial Parts Of Dill (*Anethum Graveolens* L.). Egyptian Journal of Biomedical Sciences. 23(1).
- Aminzare M, Amiri E, Abbasi Z, Hassanzadazar H, Hashemi M. 2017. Evaluation of in vitro Antioxidant Characteristics of Corn Starch Bioactive Films Impregnated with *Bunium persicum* and *Zataria multiflora* Essential Oils. Annual Research & Review in Biology. 15:1-9.
- Bekkouch O, Zengin G, Harnafi M, Touiss I, Khoulati A, Saalaoui E, Harnafi H, Abdellatif MH, Amrani S. 2023. Anti-Inflammatory Study and Phytochemical Characterization of *Zingiber officinale* Roscoe and *Citrus limon* L. Juices and Their Formulation. ACS Omega. 8(30):26715-26724.
- Chizzola R, Saeidnejad AH, Azizi M, Oroojalian F, Mardani H. 2014. *Bunium persicum*: variability in essential oil and antioxidants activity of fruits from different Iranian wild populations. Genetic Resources and Crop Evolution. 61(8):1621-1631.
- Dini S, Chen Q, Fatemi F, Asri Y. 2022. Phytochemical and biological activities of some Iranian medicinal plants. Pharmaceutical Biology. 60(1):664-689.
- Ehsani A, Hashemi M, Naghibi SS, Mohammadi S, Khalili Sadaghiani S. 2016. Properties of *Bunium Persicum* Essential Oil and its Application in Iranian White Cheese Against *Listeria Monocytogenes* and *Escherichia Coli* O157:H7. Journal of Food Safety. 36(4):563-570.
- Foroumadi A, Asadipour A, Arabpour F, Amanzadeh Y. 2002. Composition of the Essential Oil of *Bunium*



- persicum (Boiss.) B. Fedtsch. from Iran. Journal of Essential Oil Research. 14(3):161–162.
- Guginski G, Luiz AP, Silva MD, Massaro M, Martins DF, Chaves J, Mattos RW, Silveira D, Ferreira VMM, Calixto JB, Santos ARS. 2009. Mechanisms involved in the antinociception caused by ethanolic extract obtained from the leaves of *Melissa officinalis* (lemon balm) in mice. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 93(1):10–16.
- Hassanzadeh, M.K., Rahimizadeh, M. V. 2000. Constituents of the essential oil of dill (*Anethum graveolens* L.) herb. Orient J Chem. 16(1):29–32.
- Hollá M, Svajdlénka E, Tekel J, Vavrková S, Havránek E. 1997. Composition of the Essential Oil from *Melissa officinalis* L. cultivated in Slovak Republic. Journal of Essential Oil Research. 9(4):481–484.
- Hussein AH, Said AA, Atef MZ, Sarhan AD, M AD, El-Shahat N, Abou Zeid M, S A, Nabila Y N. 2015. Volatile Oil Composition of *Anethum graveolens* Affected by Harvest Stage. International Journal of Plant Science and Ecology. 1(3):93–97.
- Jalal Z, El Atki Y, Lyoussi B, Abdellaoui A. 2015. Phytochemistry of the essential oil of *Melissa officinalis* L. growing wild in Morocco: Preventive approach against nosocomial infections. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 5(6):458–461.
- Jalilzadeh-Amin G, Maham M, Dalir-Naghadeh B, Farshad K. 2011. Effects of *Bunium persicum* (Boiss.) Essential Oil on the Contractile Responses of Smooth Muscle (An in vitro Study). Veterinary Research Forum. 2(2):87–96.
- Jalilzadeh-Amin G, Maham M, Dalir-Naghadeh B, Kheiri F. 2011. Effects of *Bunium persicum* (Boiss.) Essential Oil on the Contractile Responses of Smooth Muscle (An in vitro Study). Veterinary Research Forum. 2(2):87–96.
- Jana S, Shekhawat GS. 2010. *Anethum graveolens*: An Indian traditional medicinal herb and spice. Pharmacognosy reviews. 4(8):179–184.
- Kaur N, Chahal KK, Kumar A, Singh R, Bhardwaj U. 2019. Antioxidant activity of *Anethum graveolens* L. essential oil constituents and their chemical analogues. Journal of Food Biochemistry. 43(4):e12782.
- Keramat M, Golmakani MT. 2016. Effect of *Thymus vulgaris* and *Bunium persicum* essential oils on the oxidative stability of virgin olive oil. Grasas y Aceites. 67(4):162.
- Lete I, Allué J. 2016. The Effectiveness of Ginger in the Prevention of Nausea and Vomiting during Pregnancy and Chemotherapy. Integrative medicine insights. 11:11–17.
- Li J, Liu X, Dong F, Xu J, Zheng Y, Shan W. 2010. Determination of the Volatile Composition in Essential Oil of *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl (Flixweed) by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). Molecules. 15(1):233–240.
- Lira M, Andrade Júnior FP De, Queiroga G, Macena G, Pereira F, Oliveira Lima I. 2020. Antimicrobial activity of geraniol: an integrative review. Journal of Essential Oil Research. 32:1–11.
- Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Simin N. 2004. Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) Essential Oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52(9):2485–2489.
- Mohamadi N, Sharifi I, Afsar A, Sharififar F, Sharifi F. 2023. Antileishmanial Effects of *Bunium Persicum* Crude Extract, Essential Oil, and Cuminaldehyde on *Leishmania Major*: In Silico and In Vitro Properties. Acta Parasitologica. 68(1):103–113.
- Nurzyńska-Wierdaka R, Bogucka-Kockab A, Szymczak G. 2014. Volatile Constituents of *Melissa officinalis* Leaves Determined by Plant Age. Natural Product Communications. 9(5):703–706.
- Osman YA., Yaseen E., Farag M. 2009. Antimicrobial effect of some essential oils mixtures. J Appl Sci Res. 5(9):1265–1276.
- Pandey R, Kumar Tiwari R, Shankar Shukla S. 2016. Omics: A Newer Technique in Herbal Drug Standardization & Quantification. Journal of Young Pharmacists. 8(2):76–81.
- Passos FF de B, Lopes EM, de Araújo JM, de Sousa DP, Veras LMC, Leite JRSA, Almeida FR de C. 2015. Involvement of Cholinergic and Opioid System in γ -Terpinene-Mediated Antinociception. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2015:1–9.
- Rabiey S, Hosseini H, Rezaei M. 2013. The Hurdle Effect of *Bunium persicum* Essential Oil, Smoke and NaCl for Controlling the *Listeria monocytogenes* Growth in Fish Model Systems. Journal of Food Safety. 33(2):137–144.



- Rustaie A, Keshvari R, Samadi N, Khalighi-Sigaroodi F, Shams Ardekani MR, Khanavi M. 2016. Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of the Oil and Extracts of *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch.: Wild and Cultivated Fruits. *Pharmaceutical Sciences*. 22(4):296–301.
- Sattayakhom A, Wichit S, Koomhin P. 2023. The Effects of Essential Oils on the Nervous System: A Scoping Review. *Molecules* (Basel, Switzerland). 28(9).
- Shabbir N, Hassan S, Mughal S, Pervez S, Munir M, Mushtaq M, Khan M. 2020. Peppermint Oil, Its Useful, and Adverse Effects on Human Health: A Review. *Innovare Journal of Ayurvedic Sciences*. 1–4.
- Shabby AS, El-Gengaihi S, Khattab M. 1995. Oil of *Melissa officinalis* L., as Affected by Storage and Herb Drying. *Journal of Essential Oil Research*. 7(6):667–669.
- Sharopov F., Wink M, Gulmurodov I., Isupov S., Zhang H, Setzer W. 2013. Composition and Bioactivity of the Essential Oil of *Anethum graveolens* L. from Tajikistan. *Int J Med Arom Plants*. 3(2):125–130.
- Sharopov, S.F Muhammadsho A, Zhang A., Setzer W. 2015. Essential Oil Constituents of Zira (*Bunium persicum* [Boiss.] B. Fedtsch.) from Tajikistan. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*. 2(24–27).
- Singh G, Maurya S, Lampasona MP, Catalan C. 2006. Chemical Constituents, Antimicrobial Investigations, and Antioxidative Potentials of *Anethum graveolens* L. Essential Oil and Acetone Extract: Part 52. *Journal of Food Science*. 70(4):M208–M215.
- Stappen I, Tabanca N, Ali A, Wedge D, Wanner J, Gochev V, Jaitak V, Lal B, Kaul V, Schmidt E, Jirovetz L. 2017. Biological Activity of *Bunium persicum* Essential Oil from Western Himalaya. *Planta Medica International Open*. 4(02):e52–e58.
- Su G, Wang L, Zhou X, Wu X, Chen D, Yu B, Huang Z, Luo Y, Mao X, Zheng P, et al., 2021. Effects of essential oil on growth performance, digestibility, immunity, and intestinal health in broilers. *Poultry science*. 100(8):101242.
- Taherkhani P, Noori N, Akhondzadeh Basti, A Gandomi H, Alimohammadi M. 2015. Antimicrobial Effects of Kermanian Black Cumin (*Bunium persicum* Boiss.) Essential Oil in Gouda Cheese Matrix. *Journal of Medicinal Plants*. 14(54):76–85.
- Tavakoli Kareshk, A Keyhani A, Mahmoudvand, H Tavakoli Oliaei R, Asadi A, Andishmand M, Azzizian H, Babaei Z, Zia-Ali N. 2015. Efficacy of the *Bunium persicum* (Boiss) Essential Oil against Acute Toxoplasmosis in Mice Model. *Iran J Parasitol*. 10(4):625–631.
- Tavakoli R, Mohadjerani M, Hosseinzadeh R, Tajbakhsh M, Naqinezhad A. 2012. Chemical Composition of Fatty Acid from Different Parts of *Descurainia Sophia* L. Growing Wild in North of Iran. *Analytical Chemistry Letters*. 2(6):363–366.
- Vera RR, Chane-Ming J. 1998. Chemical Composition of Essential Oil of Dill (*Anethum graveolens* L.) Growing in Reunion Island. *Journal of Essential Oil Research*. 10(5):539–542.
- Yili A, Yimamu H, Maksimov V V, Aisa HA, Veshkurova ON, Salikhov SI. 2006. Chemical composition of essential oil from seeds of *Anethum graveolens* cultivated in China. *Chemistry of Natural Compounds*. 42(4):491–492.
- You Q, Li L, Chen H, Chen L, Chen X, Liu Y. 2020. L-Menthol for Gastrointestinal Endoscopy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clinical and translational gastroenterology*. 11(10):e00252.
- Zhang W-J, You C-X, Yang K, Chen R, Wang Y, Wu Y, Geng Z-F, Chen H-P, Jiang H-Y, Su Y, et al., 2014. Bioactivity of Essential Oil of *Artemisia argyi* Lévl. et Van. and Its Main Compounds Against *Lasioderma serricornis*. *Journal of Oleo Science*. 63(8):829–837.

درمان کبد چرب با استفاده از گیاهان دارویی

پرویز ملک زاده^۱، فاطمه حیدرزاده^۱

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه قم، قم. (nurahzzde@gmail.com)

چکیده

چاقی و اضافه وزن به عنوان یکی از چالش‌های بهداشتی جهانی شناخته می‌شوند که با خطرات متعددی برای سلامتی همراه هستند. در این مقاله، به بررسی اثرات گیاهان حاوی افدرین، به ویژه *Ephedra sinica* و *Ephedra edulis*، به عنوان داروهای طبیعی و بی‌خطر در مدیریت وزن پرداخته می‌شود. افدرین، که از این گیاهان استخراج می‌شود، به دلیل اثرات متابولیکی و افزایش سوخت و ساز بدن، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که مصرف این گیاهان می‌تواند به کاهش وزن و بهبود ترکیب بدن کمک کند، بدون اینکه عوارض جانبی جدی ایجاد کند. این مقاله به بررسی مکانیزم‌های عمل افدرین، دوزهای مؤثر، و مقایسه آن با داروهای رایج در درمان چاقی می‌پردازد. در نهایت، یافته‌ها نشان می‌دهند که گیاهان حاوی افدرین می‌توانند به عنوان یک گزینه درمانی طبیعی و ایمن در برنامه‌های کنترل وزن مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: استاتین، داروی گیاهی، داروی شیمیایی، کبد چرب، گشیز.



۱. مقدمه

۱-۱. کبد چرب

کبد چرب، که به عنوان بیماری کبد چرب غیرالکلی نیز شناخته می‌شود، یکی از مشکلات شایع در عصر مدرن است که به تجمع چربی در سلول‌های کبد اشاره دارد. این بیماری معمولاً ناشی از عوامل متعددی از جمله چاقی، دیابت و مصرف بیش از حد الکل است. کبد چرب می‌تواند به چندین ارگان و سیستم در بدن آسیب بزند و عوارض جدی ایجاد کند. اصلی‌ترین آسیب‌ها به کبد وارد می‌شود، جایی که تجمع چربی در سلول‌های کبد می‌تواند منجر به التهاب (هپاتیت چرب)، آسیب سلولی و در نهایت سیروز کبدی گردد (Chalasan et al. 2012). علاوه بر این، کبد چرب با افزایش خطر بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط است، زیرا می‌تواند به افزایش سطح تری‌گلیسیرید و کلسترول منجر شود. همچنین، تجمع چربی ممکن است باعث التهاب پانکراس (پانکراتیت) شود که عوارض جدی دارد و می‌تواند به تشکیل سنگ‌های صفراوی در کیسه صفرا منجر شود، که این نیز می‌تواند مشکلات گوارشی ایجاد کند. همچنین، کبد چرب می‌تواند با اختلال در متابولیسم انسولین مرتبط باشد و به دیابت نوع ۲ منجر شود (Zhao et al. 2021).

۲. مواد و روش‌ها

برای این مقاله مروری، داده‌ها و اطلاعات از منابع معتبر علمی شامل مقالات پژوهشی، کتاب‌ها، و گزارش‌های علمی دوباره چای سبز جمع‌آوری شد. پایگاه‌های داده‌ای مانند PubMed، Google Scholar، و Web of Science برای جستجوی مقالات مرتبط مورد استفاده قرار گرفت.

۳. نتایج

۳-۱. روش‌های تشخیص بیماری کبد چرب

۳-۱-۱. تشخیص علائم ظاهری توسط خود فرد مبتلا

علائم ظاهری کبد چرب ممکن است در مراحل اولیه خفیف باشد و در بسیاری از موارد، افراد تا زمانی که بیماری پیشرفته‌تر نشود، متوجه آن نمی‌شوند. برخی از علائم و نشانه‌هایی که می‌توانند فرد را به احتمال ابتلا به کبد چرب مشکوک کنند، شامل خستگی و ضعف عمومی است که ممکن است با فعالیت‌های روزمره تداخل کند. همچنین، احساس درد یا ناراحتی در سمت راست بالای شکم، جایی که کبد قرار دارد، می‌تواند نشانه‌ای از وجود مشکل باشد. کاهش وزن غیرقابل توضیح و زردی (یرقان)، که به زرد شدن پوست و چشم‌ها منجر می‌شود، نیز از علائم مهم هستند. خارش پوست، تورم شکم (آسیت) و تغییرات در رنگ ادرار و مدفوع، مانند ادرار تیره و مدفوع روشن‌تر از حد معمول، از دیگر نشانه‌ها به شمار می‌روند. همچنین، افزایش وزن به ویژه در ناحیه شکم، مشکلات گوارشی مانند نفخ و سوءهاضمه، و تغییرات خلقی همچون احساس افسردگی یا اضطراب، ممکن است نشان‌دهنده کبد چرب باشند. تشخیص زودهنگام کبد چرب اهمیت بالایی دارد، بنابراین اگر فردی با این علائم مواجه شود، باید به پزشک مراجعه کند تا ارزیابی و درمان مناسب انجام شود (Leung et al. 2023).



۳-۱-۲. تشخیص بالینی توسط پزشک

تشخیص بیماری کبد چرب شامل چندین روش است که به پزشکان کمک می کند تا وضعیت کبد را ارزیابی کنند. در ابتدا، معاینه بالینی انجام می شود که پزشک با بررسی تاریخچه پزشکی و معاینه فیزیکی، علائم ظاهری مانند بزرگ شدن کبد یا نشانه های دیگر را شناسایی می کند. سپس آزمایش های خون می توانند نشان دهنده عملکرد کبد باشند، به طوری که سطح بالای آنزیم های کبدی (مانند ALT و AST) ممکن است نشانه ای از آسیب کبدی باشد. همچنین، روش های تصویربرداری مانند سونوگرافی، سی تی اسکن یا MRI می توانند تجمع چربی در کبد را تشخیص دهند و اندازه و وضعیت کبد را بررسی کنند. در برخی موارد، پزشک ممکن است بیوپسی کبد (نمونه برداری از بافت کبد) را برای بررسی دقیق تر آسیب های کبدی و تعیین نوع کبد چرب انجام دهد. علاوه بر این، آزمایش های خاصی وجود دارند که می توانند برای ارزیابی میزان چربی، التهاب و فیروز در کبد استفاده شوند. تشخیص زودهنگام بیماری کبد چرب اهمیت زیادی دارد، زیرا می تواند به پیشگیری از عوارض جدی تر کمک کند (Leung et al. 2023; Paul and Davis 2018).

۳-۱-۳. درمان دارویی کبد چرب

درمان دارویی کبد چرب به طور عمده بر کاهش چربی کبد و بهبود عملکرد آن تمرکز دارد. هرچند که در حال حاضر هیچ داروی خاصی به طور رسمی برای درمان کبد چرب تأیید نشده است، اما برخی از داروها و مکمل ها می توانند به مدیریت این بیماری کمک کنند. برای بیماران دیابتی، داروهایی مانند متفورمین می توانند در بهبود مقاومت به انسولین و کاهش چربی کبد مؤثر باشند. همچنین، داروهایی مانند فیبرات ها و استاتین ها که برای کاهش سطح چربی خون تجویز می شوند، ممکن است به بهبود وضعیت کبد نیز کمک کنند. برخی مکمل ها مانند اسیدهای چرب امگا-۳ و ویتامین E نیز نشان داده اند که می توانند به کاهش التهاب و چربی کبد کمک کنند، البته مصرف این مکمل ها باید تحت نظر پزشک باشد. در برخی موارد، داروهای ضدالتهابی ممکن است برای کاهش التهاب در کبد تجویز شوند. علاوه بر این، درمان همزمان بیماری های مرتبط مانند چاقی و دیابت نیز بخشی از پروسه درمانی کبد چرب است. در نهایت، تغییرات در سبک زندگی، از جمله رژیم غذایی سالم، افزایش فعالیت بدنی و کاهش وزن، نقش بسیار مهمی در مدیریت کبد چرب دارند و باید همراه با درمان دارویی در نظر گرفته شوند. مشاوره با پزشک برای تعیین بهترین گزینه های درمانی ضروری است (Chalasan et al. 2012).

۳-۱-۴. مواد مؤثره موجود در استاتین برای درمان کبد چرب

استاتین ها گروهی از داروها هستند که به طور عمده برای کاهش سطح کلسترول و تری گلیسیرید در خون استفاده می شوند و مواد مؤثره موجود در آن ها به طور خاص به درمان کبد چرب کمک می کنند. یکی از این مواد مؤثره آتورواستاتین (Atorvastatin) است که با مهار آنزیم HMG-CoA ردوکتاز، تولید کلسترول در کبد را کاهش می دهد و می تواند به کاهش چربی کبد و بهبود التهاب کمک کند. سیمواستاتین (Simvastatin) نیز مشابه آتورواستاتین عمل کرده و با کاهش تولید کلسترول در کبد و بهبود پروفایل چربی خون، به کاهش چربی کبد کمک می کند. دیگر ماده مؤثره، پراواستاتین



(Pravastatin) است که با مهار آنزیم HMG-CoA ردوکتاز، در کاهش تری گلیسیرید و بهبود عملکرد کبد مؤثر است. همچنین، رزواستاتین (Rosuvastatin) به ویژه در کاهش سطح LDL (کلسترول بد) و تری گلیسیرید تأثیر دارد و ممکن است به بهبود وضعیت کبد چرب کمک کند (Ayada et al. 2023; Pastori et al. 2022).

۳-۱-۵. مواد مؤثره موجود در متفورمین برای درمان کبد چرب

متفورمین، که به عنوان یکی از داروهای اصلی برای درمان دیابت نوع ۲ شناخته می شود، با مواد مؤثره خاص خود به مدیریت کبد چرب نیز کمک می کند. این دارو عمدتاً با مهار تولید گلوکز در کبد و کاهش مقاومت به انسولین عمل می کند، که این امر به کاهش سطح قند خون و در نتیجه کاهش چربی کبد کمک می کند. متفورمین می تواند به کاهش تری گلیسیرید و کلسترول LDL (کلسترول بد) نیز کمک کند، که تأثیر مثبتی بر عملکرد کبد دارد. علاوه بر این، تحقیقات نشان می دهند که متفورمین ممکن است تأثیراتی بر میکروبیوم روده داشته باشد که به بهبود وضعیت کبد و کاهش کبد چرب کمک می کند. استفاده از متفورمین و هر نوع درمان دارویی باید تحت نظر پزشک باشد و تغییرات در رژیم غذایی و افزایش فعالیت بدنی نیز برای بهبود وضعیت کبد چرب بسیار مؤثر است (Naseri et al. 2023).

۳-۲. عوارض داروهای استفاده شده در درمان شیمیایی کبد چرب

عوارض داروهای استفاده شده در درمان شیمیایی کبد چرب می تواند بسته به نوع دارو و شرایط فردی متفاوت باشد. به عنوان مثال، متفورمین که برای بهبود مقاومت به انسولین تجویز می شود، ممکن است عوارض گوارشی مانند اسهال، تهوع و درد شکم ایجاد کند و در بیماران با مشکلات کلیوی، خطر ابتلا به اسیدوز لاکتیک را به همراه داشته باشد. فیبرات ها، مانند فنوفیبرات، عوارض مشابهی دارند و می توانند به عوارض گوارشی و افزایش خطر ابتلا به سنگ های صفراوی منجر شوند. استاتین ها، که برای کاهش چربی خون استفاده می شوند، ممکن است باعث درد عضلانی و ضعف شده و در برخی افراد، خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ را افزایش دهند. ویتامین E نیز ممکن است عوارض گوارشی به همراه داشته باشد و در افرادی که داروهای رقیق کننده خون مصرف می کنند، خطر خونریزی را افزایش دهد. همچنین، اسیدهای چرب امگا-۳ می توانند عوارض گوارشی مانند اسهال ایجاد کنند و تأثیرات ضدخونی داشته باشند. داروهای ضدالتهابی نیز ممکن است عوارض گوارشی مانند زخم معده یا خونریزی را به همراه داشته باشند و خطر بیماری های قلبی و عروقی را به ویژه با مصرف طولانی مدت افزایش دهند. بنابراین، مهم است که بیماران قبل از شروع درمان، عوارض جانبی احتمالی را با پزشک خود در میان بگذارند و هرگونه نشانه غیرمعمول را به سرعت گزارش دهند. نظارت مداوم بر وضعیت کبد و سایر پارامترهای سلامتی در طول درمان نیز ضروری است (Naseri et al. 2023; Zhao et al. 2021).



۳-۳. درمان کبد چرب با مصرف گیاهان و داروهای گیاهی

۳-۳-۱. معرفی گیاهان مورد استفاده در درمان کبد چرب

در درمان کبد چرب، استفاده از برخی گیاهان دارویی می‌تواند به بهبود عملکرد کبد و کاهش چربی آن کمک کند. به عنوان مثال، خرما (*Phoenix dactylifera*) به عنوان منبع غنی از آنتی اکسیدان‌ها و مواد مغذی، می‌تواند به بهبود عملکرد کبد و جلوگیری از آسیب کبدی کمک کند. کاسنی (*Cichorium intybus*) نیز دارای خواص ضدالتهابی و سم‌زدایی است و می‌تواند به کاهش چربی کبد کمک کند. زعفران (*Crocus sativus*) به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی شناخته می‌شود و ممکن است در کاهش التهاب کبد مؤثر باشد. مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) با خواص ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی خود به بهبود سلامت کبد کمک می‌کند. ترنج (*Citrus reticulata*) به دلیل خاصیت سم‌زدایی و افزایش تولید صفرا نیز می‌تواند به بهبود عملکرد کبد کمک کند. زردچوبه (*Curcuma longa*)، که دارای ترکیب فعال کورکومین است، خواص ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی دارد و به سلامت کبد کمک می‌کند. شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) به عنوان یک گیاه سم‌زدا شناخته شده و می‌تواند به کاهش التهاب کبد و بهبود عملکرد آن کمک کند. همچنین، چای سبز (*Camellia sinensis*) که سرشار از آنتی اکسیدان‌هاست، ممکن است در کاهش چربی کبد و بهبود عملکرد آن مؤثر باشد. استفاده از این گیاهان باید تحت نظر پزشک یا متخصص طب سنتی انجام شود، زیرا ممکن است تداخلات دارویی یا عوارض جانبی وجود داشته باشد. در نهایت، تغییرات در سبک زندگی و رژیم غذایی نیز در مدیریت کبد چرب اهمیت زیادی دارد (Gong et al. 2024; Yan et al. 2020).

۳-۴. ترکیبات مؤثره موجود در گیاهان که در درمان کبد چرب مؤثر است

۳-۴-۱. زردچوبه

زردچوبه (*Curcuma longa*) به دلیل ترکیبات مؤثره خاص خود به عنوان یک درمان طبیعی برای کبد چرب شناخته می‌شود. مهم‌ترین ترکیب مؤثره موجود در زردچوبه، کورکومین است که به عنوان یک ضدالتهاب قوی عمل می‌کند و می‌تواند به کاهش التهاب در کبد کمک کند. همچنین، کورکومین دارای خواص آنتی اکسیدانی است که به حفاظت از کبد در برابر آسیب‌های اکسیداتیو و سموم کمک می‌کند و می‌تواند به بهبود عملکرد کبد و کاهش چربی کبدی نیز کمک کند. دیگر ترکیب مؤثره موجود در زردچوبه، تارمرین است که به افزایش تولید صفرا کمک کرده و برای هضم چربی‌ها ضروری است. دی‌متوکسی کورکومین نیز خواص آنتی اکسیدانی دارد و می‌تواند به کاهش آسیب‌های کبدی کمک کند. همچنین، زردین می‌تواند به کاهش التهاب در کبد کمک کند و اثرات مفیدی بر روی متابولیسم کبد داشته باشد. زردچوبه حاوی ترکیبات دیگری است که به عنوان آنتی اکسیدان عمل کرده و به حفاظت از کبد کمک می‌کنند. استفاده از زردچوبه به صورت مکمل یا به عنوان ادویه در رژیم غذایی باید تحت نظر پزشک یا متخصص تغذیه انجام شود، زیرا ممکن است با برخی داروها تداخل داشته باشد (Yan et al. 2020).



۲-۴-۳. کاسنی

کاسنی (*Cichorium intybus*) به عنوان یک گیاه دارویی با خواص درمانی متنوع، به ویژه در مدیریت کبد چرب شناخته شده است. مهم ترین ترکیب مؤثره موجود در کاسنی، سیکورین است که به عنوان یک ترکیب تلخ شناخته می شود و می تواند به افزایش تولید صفرا کمک کند، همچنین به بهبود هضم چربی ها و سم زدایی کبد نیز یاری می رساند. کاسنی حاوی پولساکاریدها است که به عنوان آنتی اکسیدان عمل کرده و به کاهش آسیب های اکسیداتیو در کبد کمک می کنند. علاوه بر این، فلاونوئیدها موجود در کاسنی دارای خواص ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی هستند که به کاهش التهاب کبد و بهبود عملکرد آن کمک می کنند. همچنین، کاسنی حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع است که می توانند به بهبود متابولیسم چربی ها و کاهش چربی کبدی کمک کنند. این گیاه منبع خوبی از ویتامین ها و مواد معدنی است که به سلامت عمومی کبد و افزایش انرژی کمک می کنند. استفاده از کاسنی به عنوان یک درمان مکمل باید تحت نظر پزشک یا متخصص طب سنتی انجام شود، زیرا ممکن است با برخی داروها تداخل داشته باشد (Gong et al. 2024).

۳-۴-۳. خرما

خرما (*Phoenix dactylifera*) به عنوان یک میوه مغذی و خوشمزه، دارای ترکیبات مؤثره ای است که به درمان کبد چرب کمک می کند. یکی از مهم ترین ترکیبات موجود در خرما، آنتی اکسیدان ها است که به حفاظت از کبد در برابر آسیب های اکسیداتیو کمک می کنند و می توانند التهاب کبد را کاهش دهند. همچنین، خرما حاوی فیبر است که به بهبود عملکرد گوارش و کاهش چربی های اضافی در کبد کمک می کند. ویتامین ها و مواد معدنی موجود در خرما، از جمله ویتامین B6 و پتاسیم، نیز به سلامت عمومی کبد و بهبود متابولیسم کمک می کنند. علاوه بر این، خرما دارای قندهای طبیعی است که می توانند به تأمین انرژی بدن کمک کرده و از ایجاد قند خون ناپایدار جلوگیری کنند. به طور کلی، مصرف خرما به عنوان یک منبع مغذی و سرشار از ترکیبات مؤثره می تواند به بهبود عملکرد کبد و کاهش چربی کبدی کمک نماید (Zhao et al. 2021; Niazi et al. 2020).

۴-۴-۳. گشنیز

گشنیز (*Coriandrum sativum*) به عنوان یک گیاه دارویی و ادویه ای پرخاصیت، دارای ترکیبات مؤثره ای است که می تواند در درمان کبد چرب مؤثر باشد. یکی از مهم ترین ترکیبات موجود در گشنیز، آنتی اکسیدان ها است که به کاهش آسیب های اکسیداتیو در کبد و جلوگیری از التهاب کمک می کنند. همچنین، گشنیز حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع و فلاونوئیدها است که می توانند به بهبود متابولیسم چربی ها و کاهش چربی کبدی یاری رسانند. فیبر موجود در گشنیز نیز به بهبود عملکرد گوارش و کاهش سطح کلسترول کمک می کند. علاوه بر این، گشنیز منبع خوبی از ویتامین ها و مواد معدنی، از جمله ویتامین K و پتاسیم است که به سلامت کبد و تقویت سیستم ایمنی بدن کمک می کنند (Yan et al. 2020).



۵-۴-۳. شیرین بیان

شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) به عنوان یک گیاه دارویی با خواص درمانی متعدد، دارای ترکیبات مؤثره‌ای است که می‌تواند در درمان کبد چرب مؤثر باشد. یکی از مهم‌ترین ترکیبات موجود در شیرین بیان، گلیسیریزین است که به عنوان یک ضدالتهاب و آنتی‌اکسیدان قوی شناخته می‌شود و می‌تواند به کاهش التهاب کبد و حفاظت از آن در برابر آسیب‌های اکسیداتیو کمک کند. همچنین، شیرین بیان حاوی فلاونوئیدها و پلی‌فنول‌ها است که خواص آنتی‌اکسیدانی دارند و به بهبود عملکرد کبد و کاهش چربی کبدی یاری می‌رسانند. این گیاه همچنین می‌تواند به تنظیم سطح قند خون و بهبود متابولیسم چربی‌ها کمک کند (Wang et al. 2023).

۶-۴-۳. چای سبز

چای سبز (*Camellia sinensis*) به عنوان یک نوشیدنی سالم و مغذی، دارای ترکیبات مؤثره‌ای است که می‌تواند در درمان کبد چرب مؤثر باشد. یکی از مهم‌ترین ترکیبات موجود در چای سبز، کاتچین‌ها، به ویژه EGCG (اپی‌گالوکاتچین گالات) است که به عنوان آنتی‌اکسیدان قوی شناخته می‌شود و می‌تواند به کاهش التهاب و آسیب‌های اکسیداتیو در کبد کمک کند. این ترکیبات همچنین به بهبود حساسیت به انسولین و کاهش سطح چربی‌های خون، به ویژه تری‌گلیسیریدها، کمک می‌کنند. علاوه بر این، چای سبز می‌تواند به تحریک متابولیسم چربی‌ها و کاهش وزن کمک کند که این امر به نوبه خود تأثیر مثبتی بر سلامت کبد دارد (Zhao et al. 2021).

۷-۴-۳. خرفه

خرفه (*Portulaca oleracea*) به عنوان یک گیاه دارویی و خوراکی، دارای ترکیبات مؤثره‌ای است که می‌تواند در درمان کبد چرب مؤثر باشد. یکی از مهم‌ترین ترکیبات موجود در خرفه، اسیدهای چرب امگا-۳ است که به کاهش التهاب و بهبود سلامت متابولیک کبد کمک می‌کند. همچنین، خرفه حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین C و بتا کاروتن است که به حفاظت از کبد در برابر آسیب‌های اکسیداتیو کمک می‌کنند. فیبر موجود در خرفه نیز به بهبود عملکرد گوارش و کاهش سطح کلسترول کمک می‌کند، که می‌تواند به بهبود وضعیت کبد چرب منجر شود. به علاوه، خرفه منبع غنی از مواد معدنی و ویتامین‌ها، از جمله ویتامین‌های گروه B است که به تقویت سیستم ایمنی و سلامت عمومی بدن کمک می‌کند (Yan et al. 2020).

۸-۴-۳. امگا ۳

اسیدهای چرب امگا-۳، که عمدتاً در ماهی‌های چرب و دانه‌های گیاهی یافت می‌شوند، نقش مهمی در درمان کبد چرب دارند. این اسیدهای چرب به کاهش التهاب در کبد کمک می‌کنند که یکی از عوامل اصلی بروز کبد چرب و بیماری‌های مرتبط است. همچنین، امگا-۳ به بهبود متابولیسم چربی‌ها و کاهش تجمع چربی در کبد کمک کرده و می‌تواند سطح تری‌گلیسیرید را در خون کاهش دهد. بهبود حساسیت به انسولین نیز از دیگر مزایای این اسیدهای چرب است که به کنترل قند



خون و متابولیسم چربی‌ها کمک می‌کند. به طور کلی، مصرف منظم منابع غنی از امگا-۳ می‌تواند به بهبود وضعیت کبد چرب و سلامت عمومی کبد کمک کند (Niazi et al. 2020).

۵-۳. ترکیبات مشترک بین گیاهان مورد استفاده در درمان کبد چرب

ترکیبات مؤثره مشترک در بین گیاهانی که در درمان کبد چرب استفاده می‌شوند، شامل چندین ماده کلیدی است که به بهبود عملکرد کبد و کاهش چربی کبدی کمک می‌کنند. یکی از این ترکیبات، آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که در اکثر گیاهان موجودند و به حفاظت از کبد در برابر آسیب‌های اکسیداتیو کمک می‌کنند و التهاب را کاهش می‌دهند. همچنین، فلاونوئیدها که خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی دارند، در گیاهانی مانند کاسنی و گشنیز یافت می‌شوند و به بهبود عملکرد کبد یاری می‌رسانند (Niazi et al. 2020; Yan et al. 2020). اسیدهای چرب امگا-۳ نیز در گیاهانی مانند خرفه و برخی دانه‌ها وجود دارند و نقش مؤثری در کاهش التهاب و بهبود متابولیسم چربی‌ها ایفا می‌کنند. فیبر موجود در گیاهانی مانند خرما و کاسنی به بهبود عملکرد گوارش و کاهش سطح کلسترول کمک می‌کند و به این ترتیب به بهبود وضعیت کبد چرب منجر می‌شود. همچنین، ترکیبات تلخ مانند سیکورین در کاسنی به افزایش تولید صفرا و بهبود هضم چربی‌ها و سم‌زدایی کبد کمک می‌کنند. نهایتاً، ویتامین‌ها و مواد معدنی در اکثر گیاهان به تقویت سیستم ایمنی و سلامت عمومی کبد کمک می‌کنند. استفاده از این ترکیبات مؤثره در کنار یک رژیم غذایی متعادل و تغییرات در سبک زندگی می‌تواند به بهبود وضعیت کبد چرب کمک نماید (Gong et al. 2024; Zhao et al. 2021).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

درمان گیاهی و درمان دارویی کبد چرب هر کدام مزایا و معایب خاص خود را دارند و انتخاب بین این دو روش بستگی به شرایط فردی، شدت بیماری و توصیه‌های پزشک دارد. درمان گیاهی معمولاً شامل استفاده از گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی است که به صورت چای، عصاره یا مکمل مصرف می‌شوند. این گیاهان دارای ترکیبات پیچیده‌ای هستند که می‌توانند اثرات چندگانه‌ای بر روی کبد و سایر اعضای بدن داشته باشند. در مقابل، درمان دارویی شامل استفاده از داروهای تجویزی یا غیرتجویزی است که معمولاً ترکیبات شیمیایی مشخصی دارند و برای هدف خاصی طراحی شده‌اند. از نظر اثربخشی، برخی از مطالعات نشان داده‌اند که گیاهان دارویی می‌توانند به بهبود عملکرد کبد و کاهش چربی کبدی کمک کنند، اما شواهد علمی ممکن است در برخی موارد محدود باشد. داروهای تجویزی معمولاً دارای شواهد قوی‌تری از اثربخشی هستند و به طور خاص برای درمان کبد چرب طراحی شده‌اند. همچنین، عوارض جانبی درمان گیاهی معمولاً کمتر بوده و به طور طبیعی تحمل می‌شوند، اما ممکن است در برخی افراد حساسیت یا تداخل با داروهای دیگر ایجاد کنند. در مقابل، داروها ممکن است عوارض جانبی جدی‌تری داشته باشند و نیاز به نظارت دقیق‌تری داشته باشند. مدت زمان تأثیرگذاری درمان گیاهی معمولاً بیشتر است و نتایج ممکن است تدریجی باشد، در حالی که اثرات داروها معمولاً سریع‌تر ظاهر می‌شود. از نظر هزینه، درمان گیاهی معمولاً هزینه کمتری دارد و به راحتی در دسترس است، در حالی که درمان دارویی ممکن است هزینه‌های بالاتری داشته باشد. در نهایت،



انتخاب بین درمان گیاهی و دارویی باید بر اساس مشاوره پزشکی و شرایط فردی باشد و ترکیب هر دو روش همراه با تغییرات در سبک زندگی و رژیم غذایی ممکن است بهترین نتایج را به ارمغان آورد.

منابع

- Ayada I, van Kleef LA, Zhang H, Liu K, Li P, Abozaid YJ, Lavrijsen M, Janssen HL, van der Laan LJ, Ghanbari M (2023) Dissecting the multifaceted impact of statin use on fatty liver disease: a multidimensional study. *EBioMedicine* 87
- Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ (2012) The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 55 (6):2005-2023
- Gong P, Long H, Guo Y, Wang Z, Yao W, Wang J, Yang W, Li N, Xie J, Chen F (2024) Chinese herbal medicines: The modulator of nonalcoholic fatty liver disease targeting oxidative stress. *Journal of Ethnopharmacology* 318:116927
- Leung PB, Davis AM, Kumar S (2023) Diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease. *JAMA* 330 (17):1687-1688
- Naseri A, Sanaie S, Hamzehzadeh S, Seyedi-Sahebari S, Hosseini M-S, Gholipour-Khalili E, Rezazadeh-Gavvani E, Majidazar R, Seraji P, Daneshvar S (2023) Metformin: new applications for an old drug. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 34 (2):151-160
- Niazi M, Veiskaramian A, Mokhayeri Y (2020) Toward nonalcoholic fatty liver treatment; a review on herbal medicine treatment. *Journal of Critical Reviews*
- Pastori D, Pani A, Di Rocco A, Menichelli D, Gazzaniga G, Farcomeni A, D'Erasmo L, Angelico F, Del Ben M, Baratta F (2022) Statin liver safety in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and metaanalysis. *British Journal of Clinical Pharmacology* 88 (2):441-451
- Paul S, Davis AM (2018) Diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease. *Jama* 320 (23):2474-2475
- Wang L, Yan Y, Wu L, Peng J (2023) Natural products in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): Novel lead discovery for drug development. *Pharmacological Research*:106925
- Yan T, Yan N, Wang P, Xia Y, Hao H, Wang G, Gonzalez FJ (2020) Herbal drug discovery for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 10 (1):3-18
- Zhao T, Mao L, Yu Z, Hui Y, Feng H, Wang X, Lin L, Fan X, Chen X, Wang B (2021) Therapeutic potential of bicyclol in liver diseases: lessons from a synthetic drug based on herbal derivative in traditional Chinese medicine. *International Immunopharmacology* 91:107308



تأثیر علف کش DCMU بر متابولیسم ترکیبات فنلی در دونالیلا سالینا

لیلا زرنندی میاندوآب^{۱*}، نادر چاپارزاده^۱، شیما امین کوشالی^۱

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران (leilazarandym@gmail.com)

چکیده

استفاده از علف کش ها در کشاورزی مدرن امری اجتناب ناپذیر است. چنین ترکیباتی اثرات متنوعی بر فتوسنتز کننده های اکوسیستم دارند. ریز جلبک *Dunaliella salina* فتوسنتز کننده موفق اکوسیستم های سخت مثل شوری، نور و دمای بالاست. از اینرو برای بررسی متابولیسم فنل ها به عنوان مهمترین متابولیت ثانویه، به علف کش رایج کشاورزی دی کلرومتیل اوره که بلوکه کننده جریان الکترونی فتوسیستم II می باشد، ریز جلبک *D. salina* طی ۱۴ روز با سه غلظت DCMU تیمار و سنجش محتوی فنل کل و آنزیم های کلیدی در گیر در متابولیسم فنل (فنیل آلانین آمونیا لیا ز و پلی فنل اکسیداز) انجام گرفت. محتوی فنل کل حاصل نسبت فعالیت بیوسنتزی فنل ها و فعالیت تغییر یا تجزیه فنل هاست. نتایج تحقیق حاضر حاکی از اثر القایی علف کش بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز و اثر مهارتی علف کش بر فعالیت پلی فنل اکسیداز است که ارتباط مستقیم با غلظت DCMU دارد. کاهش محتوی فنل در غلظت ۰/۰۵٪ DCMU در ارتباط با فعالیت بیشتر پلی فنل اکسیداز بود. شاید بتوان چنین نتیجه گیری کرد که غلظت ۰/۰۵ میلی مول روی اکسیداسیون فنل تاثیر بیشتری نسبت به القاء بیوسنتز و افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیا لیا ز داشته است. نتیجه این نوسان و تعادل در واکنش های آنابولیسمی و کاتابولیسمی فنل ها، کاهش محتوی فنل کل در غلظت ۰/۰۵ میلی مول علف کش و افزایش واضح در غلظت های بالاتر بوده است.

واژگان کلیدی: پلی فنل اکسیداز، *Dunaliella salina*، فنل ها، فنیل آلانین آمونیا لیا ز.



۱. مقدمه

علف کش ها امروزه یکی از نهادهای مهم و ضروری سیستم های کشت در کشورهای پیشرفته محسوب می شوند و بخش قابل توجهی از عملکرد محصولات زراعی این کشورها نتیجه ی مصرف علف کش است. به رغم برخی مشکلات زیست محیطی که علف کش ها ایجاد می کنند، استفاده از این ترکیبات هنوز یکی از اجزای مهم مدیریت تلفیقی علف های هرز در جهان است (Meade, 1978). علف کش ها واکنش های حیاتی متابولیسم گیاه را مسدود می کنند در حالیکه سمیت کمی برای حیوانات و انسان ها دارند.

علف کش دی کلروفنیل دی متیل اوره^۱ یکی از مهارکننده های جریان الکترون فتوسنتزی می باشد. این نوع مهارکننده به طور اختصاصی فقط جریان الکترون از فتوسیستم II را متوقف می کند، بدون اینکه تأثیری بر فتوسیستم I و واکنش های دیگر در فتوسنتز مانند جذب نور و یا تثبیت کربن در چرخه کالوین داشته باشد (Clavier and Boucher, 1992). علف کش DCMU با اتصال به پلاستوکوئینون (B (QB که پروتئینی با اتصال سست به پروتئین D1 می باشد مانع از دریافت الکترون از پلاستوکوئینون (A (QA می گردد. با این مهار روند خطی انتقال الکترون فتوسنتزی قطع و سنتز ATP و احیای NADP⁺ مختل می شود. توقف زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی منجر به کاهش کارآیی فتوسنتز و در نتیجه کاهش توانایی گیاه در تبدیل انرژی نورانی به انرژی شیمیایی می شود. همچنین توقف در زنجیره انتقال الکترون باعث تنش اکسیداتیو و تولید رادیکال های آزاد می شود (Komenda and Masojídek, 1998). در نتیجه باعث اثرات فیزیولوژیکی متنوعی با توجه به گونه گیاهی خواهد شد. هنگامی که یک علف کش در تماس با موجود فتوسنتزکننده قرار می گیرد، عمل آن تحت تأثیر فرآیندهای بی شمار فیزیولوژیک و بیوشیمیایی خواهد بود که درون گیاه رخ می دهد.

جلبک میکروسکوپی *Dunaliella salina* در شاخه کلروپیتا (Chlorophyta) قرار دارد. این جلبک منحصر به فرد، به خوبی برای زیست و فتوسنتز در شرایط دشوار و افراطی نظیر نور زیاد، شوری، کمبود مواد غذایی، سازگاری یافته که با استفاده از انرژی خورشید قادر به تولید محصولات فتوسنتزی در حدود سه برابر بیشتر از گیاهان می باشد. این جلبک منبع اساسی کلروفیل، آنتی اکسیدان ها، کاروتنوئیدها، ویتامین ها، ترکیبات معدنی، آمینو اسیدها، پلی ساکاریدها، اسیدهای چرب ضروری و گلیسرول است (Shariati and Hadi, 2011). متابولیت های ثانویه همانند فنل ها نیز در این ریزجلبک به مقادیر قابل ملاحظه وجود دارند و در پاسخ به شرایط محیطی متفاوت، تحت تأثیر قرار می گیرند (Dolatyari et al., 2022).

فنل ها ترکیبات طبیعی مهم از گروه متابولیت های ثانویه هستند که شامل ترکیبات ساده با وزن مولکولی کم و همچنین پلیمرهای بسیار پیچیده با جرم بیش از ۲۰۰۰۰ دالونی هستند. فنل های با وزن مولکولی کمتر می توانند فرار و دارای بو باشند. رنگ ترکیبات فنلی از سفید تا زرد و از قرمز تا آبی و بنفش متغیر است. فنل ها با خواص آنتی اکسیدانی و سایر اثرات بیولوژیک، دارای کاربردهای فراوانی در صنایع دارویی و پزشکی، مواد غذایی و شیمی می باشند. ترکیبات فنلی نقش مهمی در پاسخ به شرایط استرس خاص دارند و به عنوان جاذب گونه های فعال عمل می کنند و به حفظ هموستاز ردوکس در سلول ها کمک می کنند. این ترکیبات برای انسان نیز ضروری و بخش مهمی از رژیم غذایی متعادل انسان هستند و از طریق مصرف غذاهای

¹ DCMU [N-(3,4-dichlorophenyl)-N-dimethylurea]



گیاهی به طور مطلوب جذب می شوند. عوامل محیطی بر تجمع ترکیبات فنلی در گیاهان تأثیر می گذارد (Kolton et al 2022). علف کش DCMU با متوقف کردن جریان الکترون فتوسنتزی و ایجاد تنش اکسیداتیو، بر همه مسیرهای متابولیسمی بویژه بیوسنتز متابولیت های اولیه و ثانویه سلول موثر است. محتوی فنل سلول های گیاهی متأثر از میزان فعالیت دو آنزیم کلیدی در بیوسنتز فنل ها (فنیل آلانین آمونیالایز) و اکسیداسیون فنل ها (پلی فنل اکسیداز) می باشد. آنزیم فنیل آلانین آمونیالایز^۱ (PAL) آنزیم مهمی در ارتباط با تعادل متابولیسم اولیه و ثانویه است. فراوان ترین گروه ترکیبات فنلی ثانویه در گیاهان از فنیل آلانین مشتق می شوند. حذف یک مولکول آمونیاک از فنیل آلانین و تشکیل اسیدسینامیک توسط PAL اولین مرحله در آغاز مسیر بیوسنتزی فلاونویدهاست. فعالیت PAL تحت تأثیر عوامل محیطی نظیر مقادیر کم موادغذایی، نور و آلودگی قارچی افزایش می یابد. اغلب مقادیر زیاد آنزیم با مقدار زیاد فلاونویدها همراه است (Olsen et al., 2009).

پلی فنل اکسیدازها^۲ (PPO) به طور گسترده در میان میکروارگانیسم ها، گیاهان و جانوران توزیع شده اند. این گروه آنزیمی موجب اکسیداسیون انواع فنل در گیاهان عالی توسط گونه های اکسیژن فعال و از طریق اکسیداسیون کینون ها می شوند (Kim & Kim 2013). بررسی تغییرات متابولیسم متابولیت ثانویه فنل سلول های *D. salina* تحت تیمار DCMU به عنوان یک علف - کش متوقف کننده زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی، هدف پژوهش حاضر بود.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. کشت ریز جلبک

جلبک *D. salina* سویه CCAP19/18 از پژوهشکده بیوتکنولوژی صنایع غذایی تبریز تهیه و در محیط کشت تغییر یافته جانسون با شوری ۱/۵ مولار نمک کلرید سدیم (Hejazi and Wijffels, 2003) مورد استفاده قرار گرفت. اسیدیته محیط های کشت با استفاده از بافر تریس در حدود ۷/۵ تنظیم شد. کشت جلبک ها در دمای 25 ± 2 درجه سانتی گراد و نور ۱۰۰ میکروفتوتون بر مترمربع بر ثانیه فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، به مدت ۱۴ روز انجام گرفت. همگن سازی جلبک ها به صورت دستی هر روز صبح، ظهر و عصر انجام شدند. DCMU با فرمول شیمیایی $C_9H_{10}Cl_2N_2O$ ، جرم مولی ۲۳۳/۰۹ گرم بر مول، نقطه جوش ۱۵۸ درجه سانتی گراد و به صورت جزئی محلول در آب می باشد. DCMU در غلظت های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ میلی مولار به محیط های کشت ریز جلبک افزوده شد.

۲-۲. آنالیزهای شیمیایی

۲-۲-۱. سنجش محتوای ترکیبات فنلی کل

۶ میلی لیتر از جلبک به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور سانتریفیوژ شد. رسوب جلبکی در ۱/۵ میلی لیتر متانول خالص همگن و ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگه داری و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. پس از جمع آوری مایع

1 Phenylalanine Ammonia Lyase
2 Polyphenol Oxidase



روی، رسوب حاصل دوباره با ۱/۵ میلی لیتر متانول شستشو و به مدت ۱۰ دقیقه دوباره سانتریفیوژ گردید. پس از ترکیب هر دو محلول روی، ۰/۵ میلی لیتر از نمونه با ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۱ میلی لیتر کربنات سدیم ۱۵٪ مخلوط شد. پس از گذشت ۳ دقیقه، ۰/۰۵ میلی لیتر معرف فولین به آن اضافه پس از یک ساعت قرار گرفتن در دمای آزمایشگاه و در تاریکی میزان جذب نوری در طول موج ۷۵۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر خوانده شد. میزان ترکیبات فنلی با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک با غلظت های ۰-۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین و میزان ترکیبات فنولی بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر گزارش گردید (Singleton and Rossi, 1965).

۲-۲-۲. استخراج عصاره آنزیمی

۰/۲ گرم رسوب جلبکی در دمای ۴-۰ درجه سانتی گراد با ۵ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی مولار (pH=7/5) حاوی ۰/۵ mM EDTA و ۱٪ PVP (w/v) همگن و بعد از سانتریفیوژ (دمای ۴ درجه سانتی گراد، سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و مدت ۲۰ دقیقه)، از مایع رویی جهت سنجش فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیولیز و پلی فنل اکسیداز استفاده شد.

۲-۲-۳. سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیولیز

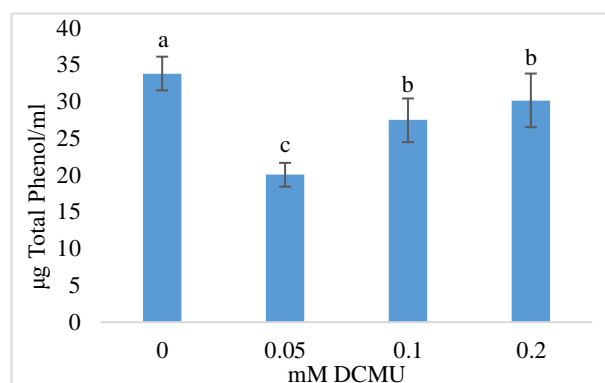
۰/۰۵۰ میلی لیتر از مایع رویی با بافر Tris-HCl (۵۰ mM و pH=8/8) حاوی ۲۰ میلی مولار فنیل آلانین مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۴۰°C قرار داده شد. با افزودن تری کلرواستیک اسید (TCA) ۱۰٪ واکنش متوقف و بعد از سرد شدن در دمای آزمایشگاه، جذب بر اساس میزان افزایش محتوای سینامیک اسید در طول موج ۲۹۰ nm اندازه گیری شد (Gao et al. 2008). واحد آنزیمی با استفاده از تغییرات جذب افزایشی ۰/۰۱ در هر دقیقه محاسبه و میزان فعالیت آنزیمی بر اساس واحد آنزیمی در مقدار پروتئین کل (میلی گرم) بدست آمده از روش برادفورد گزارش شد.

۲-۲-۴. سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

فعالیت آنزیم در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و طول موج ۴۲۰ نانومتر در مخلوط واکنشی شامل ۱/۴ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم (۱۰۰ میلی مولار، pH=6/8) و پیروگال، ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیم انجام شد. نتایج نهایی به صورت تغییر جذب بر میلی گرم پروتئین در ۲ دقیقه گزارش گردید (Flurkey, 1986).

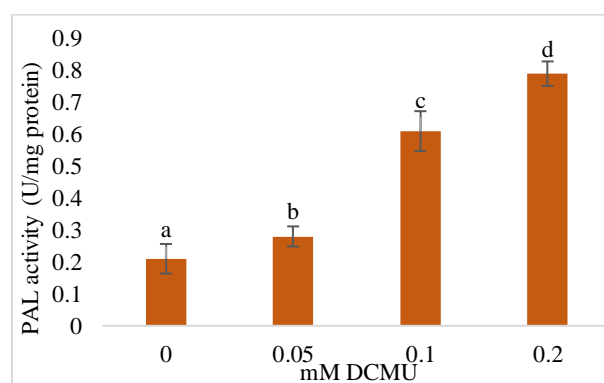
۳. نتایج

تأثیر DCMU بر ترکیبات فنلی در *D. salina* معنی دار بود. غلظت ۰/۰۵ میلی مولار علف کش باعث کاهش قابل توجهی محتوی ترکیبات فنلی شد. در غلظت های بالاتر علف کش محتوی فنل ها بیشتر از غلظت ۰/۰۵ ولی کمتر از شاهد بود (شکل ۱).



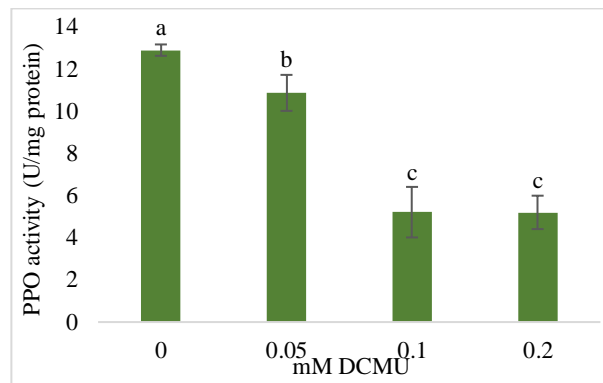
شکل ۱ تأثیر غلظت‌های مختلف DCMU بر محتوای ترکیبات فنلی جلبک *D. salina*

نتایج سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز در شکل ۲ نمایش داده شده است. تیمار با DCMU تاثیر افزایش بر فعالیت این آنزیم کلیدی داشت. چنانچه افزایش جزئی ولی معنی دار در غلظت ۰/۰۵ میلی مولار و افزایش ۴ برابری فعالیت آنزیم در غلظت ۰/۲ میلی مولار DCMU مشاهده می شود.



شکل ۲ تأثیر غلظت‌های مختلف DCMU بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز جلبک *D. salina*

تأثیر غلظت‌های مختلف علف کش DCMU بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز جلبک *D. salina* مطابق شکل ۳ نشان دهنده کاهش منظم و معنی دار وابسته به غلظت در فعالیت آنزیم است. این کاهش در غلظت ۰/۰۵ میلی مولار کمتر و در غلظت‌های بالاتر با شدت بیشتری همراه است.



شکل ۳ تأثیر غلظت‌های مختلف DCMU بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز جلبک *D. salina*

۴. بحث و نتیجه‌گیری

ترکیبات فنلی گروه عظیمی از متابولیت‌های ثانویه تولید شده توسط گیاهان هستند که عنصر مشترک آن‌ها حلقه معطر متصل به حداقل یک گروه هیدروکسیل است. تجمع ترکیبات فنلی در بافت‌های گیاهی برای تثبیت کربن فتوسنتزی و ارتقای مکانیسم‌های دفاعی بسیار مهم در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی است (Koltun et al 2022). گروه‌های هیدروکسیل آزاد متصل به حلقه‌ی آروماتیک فنل‌ها به وسیله‌ی حذف رادیکال‌ها و دیگر مکانیسم‌های دفاعی مانند فروکشی اکسیژن یکتایی با کلاته کردن فلز به‌وسیله‌ی باندشدن یون‌های سمی، از آسیب‌های اکسیداتیو می‌کاهند و به این ترتیب ساختارهای سلولی را از تأثیر منفی تنش محافظت می‌کنند. ترکیبات فنلی با قابلیت آنتی‌اکسیدانی و سمیت‌زدایی رادیکال‌های اکسیژن، باعث افزایش مقاومت گیاهان و جلبک‌ها می‌شوند (Dolatyari et al., 2022).

شرایط متفاوت محیطی تأثیرات مختلفی بر بیان ژن‌ها، بیوسنتز و فعالیت آنزیم‌های سلول دارد. آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه مانند فنیل آلانین آمونیا لایز و آنزیم‌هایی که در سلول نقش آنتی‌اکسیدانی دارند مانند پراکسیدازها و پلی فنل اکسیدازها نیز از این قاعده مستثنی نیستند.

تأثیر DCMU بر محتوی ترکیبات فنلی در *D. salina* با توجه به شکل ۱ نشان‌دهنده اثر منفی علف‌کش بر بیوسنتز ترکیبات فنلی است. علف‌کش با تضعیف توان فتوسنتزی و تأثیر بر بیوسنتز محصولات فتوسنتزی مانع سنتز و انباشتگی متابولیت‌های ثانویه در ریزجلبک شده‌اند (Chen et al., 2007). محتوی فنل کل حاصل نسبت فعالیت بیوسنتزی فنل‌ها و فعالیت تغییر یا تجزیه فنل‌هاست. مهمترین آنزیم دخیل در بیوسنتز فنل‌ها، فنیل آلانین آمونیا لایز و مهمترین آنزیم دخیل در اکسیداسیون فنل‌ها پلی فنل اکسیداز است که نتایج تحقیق حاضر حاکی از اثر القایی علف‌کش بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز و اثر مهارى علف‌کش بر فعالیت پلی فنل اکسیداز است که ارتباط مستقیم با غلظت آن دارد. با افزایش غلظت علف‌کش فعالیت آنزیم فنیل - آلانین آمونیا لایز افزایش (شکل ۲) و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز کاهش بیشتری (شکل ۳) را نشان می‌دهد. ولی با توجه به محتوی فنل کل به نظر می‌رسد کاهش فنل در غلظت ۰/۰۵% DCMU در ارتباط با فعالیت بیشتر پلی فنل اکسیداز است ولی در غلظت‌های بالاتر به دلیل تنش اکسیداتیو حاصل از کاربرد علف‌کش سلول در صدد تولید بیشتر فنل‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های کارآمد، برآمده و با افزایش بیوسنتز فنل و کاهش اکسیداسیون آن محتوی فنل سلول را در حد تیمار شاهد و سلول‌های سالم



ریز جلبک نگه داشته است. با دقت بیشتر در نمودارها شاید بتوان چنین نتیجه گیری کرد که غلظت ۰/۰۵ میلی مول DCMU روی اکسیداسیون فنل تاثیر بیشتری نسبت به القابیوسنتز و افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیالیز داشته است. سنتز فنل ها به طور گسترده تنظیم می شود (Kołton et al 2022) و به شدت تحت تاثیر وضعیت فتوسنتزی سلول قرار دارد. ایجاد اختلال در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی با به کارگیری DCMU توانسته به صورت معنی داری متابولیسم فنل را تحت تاثیر قرار دهد. یعنی علف کش در غلظت پایین تر ابتدا با افزایش غلظت رادیکال های آزاد اکسیژن موجبات فعالیت بهتر و بیشتر پلی فنل اکسیداز را فراهم آورده ولی این غلظت منجر به افزایش نسبتاً کمتری در فعالیت فنیل آلانین آمونیالیز شده است که نتیجه این نوسان و تعادل در واکنش های آنابولیسمی و کاتابولیسمی فنل ها، کاهش محتوی فنل کل در غلظت ۰/۰۵ میلی مول علف کش و افزایش واضح در غلظت های بالاتر بوده است.

منابع

- Chen, J., Jiang, J. G., & Lin, Q. S. (2007). Technical Note: Toxicity Tests of Typical Mutagenic Phenols on *Dunaliella salina*. Cell, 1050, 1.
- Clavier, C. G. J., & Boucher, G. (1992). The use of photosynthesis inhibitor (DCMU) for in situ metabolic and primary production studies on soft bottom benthos. Hydrobiologia, 246(2): 141-145.
- Dolatyari, A., Eyvazzadeh, O., Leila Nateghi, L. (2022). Determination of *Dunaliella Salina* Phenolic Compounds in Laboratory Different Conditions. Chemical Methodologies 6:114-121.
- Flurkey, W. H. (1986). Polyphenoloxidase in higher plants immunological detection and analysis of in vitro translation products. Plant physiology, 81(2): 614-618.
- Gao, S., Yan, R., Cao, M., Yang, W., Wang, S., Chen, F. (2008). Effects of copper on growth, antioxidant enzymes and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedling. Plant Soil Environment. 54(3): 117-122.
- Hejazi, M. A., & Wijffels, R. H. (2003). Effect of light intensity on β -carotene production and extraction by *Dunaliella salina* in two-phase bioreactors. Biomolecular engineering, 20(4): 171-175.
- Kim, J-J., Kim, W-Y. (2013). Purification and characterization of polyphenol oxidase from fresh ginseng. Journal of ginseng research. 37(1):117-123.
- Kołton, A., Długosz-Grochowska, O., Wojciechowska, R., Czaja, M., (2022). Biosynthesis Regulation of Foliates and Phenols in Plants. Scientia Horticulturae. 291, 110561.
- Komenda, J., & Masojídek, J. (1998). The effect of photosystem II inhibitors DCMU and BNT on the high-light induced D1 turnover in two cyanobacterial strains *Synechocystis* PCC 6803 and *Synechococcus* PCC 7942. Photosynthesis research, 57(2): 193-202.
- Meade, J. A. (1978). Herbicides and their effect on the plant community. Journal of Arboriculture.
- Olsen, K. M., Slimstad, R., Lea, U.S., Brede, C., Lovdal, T., Ruoff, P., et al. (2009). Temperature and nitrogen effects on regulators and products of the flavonoid pathway: experimental and kinetic model studies. Plant, Cell & Environment. 32(3):286-299.
- Shariati, M., & Hadi, M. R. (2011). Microalgal biotechnology and bioenergy in *Dunaliella*. INTECH Open Access Publisher.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of Enology and Viticulture. 16(3): 144-158.

نقش دارویی و غذایی و مشکلات پس از برداشت قارچ خوراکی *Agaricus bisporus*

زینب عباسی^{۱*}، پرویز ملک زاده^۱

* گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم. (z.abbasi13776@gmail.com)

چکیده

قارچ‌های خوراکی از دیرباز به دلیل خواص غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گرفته‌اند و در تاریخ مصرف و پرورش اهمیت ویژه‌ای دارند. این قارچ‌ها علاوه بر طعم لذیذ، به خواص ضد سرطانی، ضد دیابتی و ضد میکروبی نیز شناخته شده‌اند. قارچ‌ها حاوی پروتئین، چربی، کربوهیدرات و ویتامین‌های مختلفی هستند که مصرف آن‌ها به تقویت سیستم ایمنی و بهبود سلامت عمومی کمک می‌کند. کشت قارچ‌های دکمه‌ای سفید با نام علمی (*Agaricus bisporus* L.) به دلیل خواص غذایی و دارویی منحصر به فرد، در سال‌های اخیر رشد قابل توجهی داشته است. ظاهر سفید این قارچ‌ها از عوامل مهم در انتخاب آن‌هاست. ارزش غذایی و کیفیت قارچ‌ها با گذشت زمان به دلایلی مانند قهوه‌ای شدن و میزان تنفس بالا به شدت کاهش می‌یابد. نیاز به روش‌های نوآورانه برای حفظ کیفیت پس از برداشت و افزایش عمر مفید این محصولات ضروری است. عوامل محیطی مانند ترکیب گازها، دما و بار میکروبی بر حفظ قارچ‌ها تأثیر دارند. استراتژی‌های حفظ شامل روش‌های حرارتی، فیزیکی و شیمیایی هستند. فناوری‌های نوآورانه همچون کنترل ترکیب گاز و بسته‌بندی هوشمند می‌توانند به بهبود عمر مفید قارچ‌ها کمک کنند. این مقاله‌ی مروری به بررسی فواید و عوامل مؤثر بر کیفیت قارچ خوراکی و روش‌های حفظ کیفیت پس از برداشت این محصولات می‌پردازد.

واژگان کلیدی: قارچ دکمه‌ای سفید، پس از برداشت، آنزیم پلی فنل اکسیداز، پوشش خوراکی



۱. مقدمه

۱-۱. تاریخچه قارچ خوراکی در جهان

قارچ‌های خوراکی به عنوان غذا و دارو از قدمتی بسیار قدیمی برخوردارند. در تاریخ، مصرف و پرورش قارچ‌های خوراکی در فرهنگ‌ها و تمدن‌های مختلف جایگاه ویژه‌ای داشته است. در تاریخ باستان، قارچ‌ها به عنوان غذای مورد استفاده قرار می‌گرفتند. نقاشی‌های دیواری در غارها به دوران هزاره‌ها قبل از میلاد برمی‌گردد، نشان می‌دهد که انسان‌ها از قارچ‌ها به عنوان منبع غذایی استفاده می‌کردند. آن‌ها می‌توانستند قارچ‌ها را به راحتی در طبیعت پیدا کنند و اغلب به عنوان غذای جایگزین در دوران کمبود منابع غذایی مورد استفاده قرار دهند (Ahmed et al., 2023). در مصر باستان، قارچ‌ها به عنوان نماد جاودانگی و قدرت شناخته می‌شدند و صرفاً فراعنه‌ها اجازه خوردن و لمس آنها را داشتند. این نگرش به قارچ‌ها به دلیل باورهای مرتبط با جاودانگی و نیروهای مافوق طبیعی آنها بوده است. در روم باستان، قارچ‌ها به عنوان "غذا برای خدایان" شناخته می‌شدند و در مراسم و آیین‌های مذهبی استفاده می‌شدند (Zhang et al., 2018). در جوامع دیگر نیز قارچ‌ها به عنوان نماد قدرت مافوق بشری شناخته می‌شدند. به عنوان مثال، در روسیه، چین، مکزیک و دیگر فرهنگ‌ها، قارچ‌ها به عنوان نمادهای مرتبط با جادو و شفا قدرتمند در نظر گرفته می‌شدند (Pepe et al., 2023). هم‌چنین در گذشته، قارچ‌ها به عنوان مواد توهم‌زا یا هالوسینوژن‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفتند. استفاده از قارچ‌های توهم‌زا در مراسم‌های مذهبی در برخی فرهنگ‌ها به عنوان وسیله‌ای برای رسیدن به حالات ذهنی خاص و تجربه ارتباط با مقامات معنوی مورد استفاده قرار می‌گرفت. این قارچ‌ها دارای ترکیبات شیمیایی خاصی هستند که موجب تغییرات روحی و تصورات واقعیت‌های متفاوت می‌شوند (Ramos et al., 2019). مصرف قارچ دکمه‌ای سفید (*Agaricus bisporus*) از کلاس *Agaricomycetes*، راسته *Agaricales*، خانواده *Agaricaceae*، جنس *Agaricus*، گونه *Agaricus bisporus* می‌تواند به جلوگیری از سوء تغذیه جهانی کمک کند، زیرا قارچ‌ها فواید بسیاری برای سلامتی دارند. آن‌ها منابع غنی از ویتامین‌ها، مواد معدنی و پروتئین هستند. ویتامین‌های گروه B برای سلامت سیستم عصبی و متابولیسم مهم هستند، و ویتامین D برای جذب کلسیم و استحکام استخوان‌ها ضروری است. قارچ‌ها حاوی مواد معدنی اساسی مانند سلنیوم، پتاسیم و مس هستند. سلنیوم آنتی‌اکسیدان قوی است و سلول‌ها را از آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند. پتاسیم برای حفظ تعادل آب و الکترولیت‌ها مهم است و مس نقشی در ساختن سلول‌ها و تولید انرژی دارد. قارچ‌ها فیبر غذایی دارند که برای حفظ سلامت دستگاه گوارش و کنترل سطح قند خون مفید است. هم‌چنین، قارچ‌ها قدرت ضد قارچی طبیعی دارند، کاهش عوارض بیماری‌های مزمن مانند دیابت و بیماری‌های قلبی-عروقی را تسهیل می‌کنند، به بهبود سیستم ایمنی بدن کمک می‌کنند و سطح کلسترول و چربی اشباع را کاهش می‌دهند. هم‌چنین، مصرف قارچ‌ها بهبود امنیت غذایی را فراهم می‌کند زیرا به عنوان یک منبع غذایی پایدار و قابل تولید، می‌تواند نیازهای غذایی جامعه را برآورده کنند. در صورتی که قارچ‌ها بلافاصله پس از برداشت مورد استفاده قرار نگیرند، کیفیت آنها به سرعت کاهش می‌یابد و ممکن است در مدت زمان کوتاهی (حدود ۱ تا ۳ روز) در دمای حدود ۲۲ درجه سانتیگراد تخریب شوند. بنابراین، افزایش عمر مفید قارچ‌ها پس از برداشت نیازمند یافتن روش‌های مناسب در زنجیره تولید و تأمین آنها است. این شامل استفاده از فناوری‌های حفظ کیفیت، بهینه‌سازی شرایط نگهداری و کاهش تلفات غذایی می‌شود.



۲. مواد و روش ها

این پژوهش یک مطالعه مروری است که از مقالات معتبر به زبان انگلیسی و پایگاه داده و کتابخانه‌های الکترونیکی نظیر Web of science، Scopus، PubMed و موتور جستجوی Google scholar با استفاده از کلیدواژه‌های "قارچ خوراکی، فواید دارویی، فواید غذایی، مشکلات پس از برداشت قارچ" مورد بررسی قرار گرفت.

۳. نتایج

۳-۱. فواید دارویی قارچ خوراکی

قارچ‌های دارویی سابقه استفاده طولانی در درمان‌های سنتی در کشورهای آسیایی دارند و کماکان در طب سنتی این مناطق مورد استفاده قرار می‌گیرند. تحقیقات علمی مدرن نیز اثرات درمانی متنوعی را برای این قارچ‌های دارویی به اثبات رسانده است، از جمله خواص آنتی اکسیدانی، ضد سرطانی، ضد عفونی و تقویت کنندگی سیستم ایمنی. به همین دلیل، استفاده از عصاره قارچ‌ها و ترکیبات زیست فعال آنها به عنوان مکمل‌های غذایی و دارویی به طور فزاینده‌ای در حال افزایش است، چرا که می‌تواند مزایای فیزیولوژیکی متنوعی را برای مصرف کنندگان به ارمغان بیاورد، از جمله محافظت در برابر بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو مانند بیماری‌های قلبی عروقی، اختلالات مرتبط با اکسیداسیون، دیابت، عفونت‌ها (قارچی و باکتریایی) و اختلالات سیستم ایمنی و همچنین سرطان. در سال‌های اخیر، توجه قابل توجهی بر روی ترکیبات زیست فعال ضد سرطان حاصل از قارچ‌های دارویی یا خوراکی متمرکز شده است و با پیشرفت تحقیقات در این زمینه، انتظار می‌رود که در آینده استفاده درمانی گسترده‌تری از این قارچ‌های دارویی در پزشکی مدرن مشاهده شود (J. Liu et al., 2013).

۳-۱-۱. خواص آنتی اکسیدانی

قارچ دکمه‌ای سفید دارای پتانسیل آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به سایر قارچ‌های خوراکی می‌باشد. این خاصیت آنتی اکسیدانی عمدتاً به ترکیبات فنلی با وزن مولکولی کم موجود در قارچ دکمه‌ای سفید مربوط می‌شود. این ترکیبات فنلی می‌توانند به عنوان سوبستراهای طبیعی آنزیم‌های اکسیداتیو مانند پراکسیدازها یا پلی فنل اکسیدازها عمل کنند که در سطوح بالایی در قارچ وجود دارند. عفونت‌های باکتریایی، کبودی‌ها و سایر آسیب‌های بافتی، یا حمل و نگهداری ناکافی قارچ می‌تواند منجر به جداسازی سلول‌ها و فعال شدن این آنزیم‌ها شود. در این موارد، ترکیبات فنلی می‌توانند فوراً اکسید شده و به ملانین‌های قهوه‌ای یا پلیمرهای مشابه تجزیه شوند و نقش بالقوه مفید اجزا قارچ را کاهش دهند (Sarıkaya & Gulcin, 2013). مطالعات نشان داده‌اند که ترکیبات فنلی اصلی در عصاره اتانولی قارچ دکمه‌ای سفید شامل آنتی اکسیدان‌های طبیعی مانند کاتچین، اسید فرولیک، اسید گالیک، اسید پروتوکاتچوئیک و میریستین است (Ouchi et al., 2009). سروتونین یکی دیگر از ترکیب بیوشیمیایی مهم است که خاصیت آنتی اکسیدانی قوی دارد. استخراج سروتونین از قارچ‌ها می‌تواند پتانسیل پیشگیری از بیماری آلزایمر را داشته باشد (Muszyńska et al., 2011).

ویتامین E یک دسته دیگر از ترکیبات مهم است که شامل توکوفرول‌ها و توکوترینول‌ها می‌شود. در قارچ‌های خوراکی، انواع توکوفرول‌ها مانند آلفا، بتا، گاما و دلتا شناسایی و اندازه‌گیری شده‌اند، اما تاکنون توکوترینول‌ها در آنها گزارش نشده است.



از بین توکوفرولها، آلفاتوکوفرول فعالترین شکل ویتامین E است و نقش مهمی در محافظت از غشای سلول دارد. اما آلفاتوکوفرول میتواند در مقادیر زیاد نقش پرواکسیدانی نیز داشته باشد. مقدار آلفاتوکوفرول شناسایی شده در قارچهای خوراکی بسیار کمتر از برخی منابع غذایی دیگر سرشار از ویتامین E مانند بادام، تخمه آفتابگردان، آووکادو و غیره است. در مقایسه با منابع غذایی دیگر، قارچ دکمه ای سفید نسبتاً غنی از بتاتوکوفرول است. در مجموع، قارچها منابع خوبی از ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند سروتونین و توکوفرولها هستند (Reis et al., 2012).

۲-۱-۳. خواص ضد تومور

پلی ساکاریدهای فعال زیستی یا کمپلکسهای پلی ساکارید-پروتئین موجود در قارچهای دارویی به نظر می رسد که پاسخ های ایمنی ذاتی و سلولی را تقویت می کنند و فعالیت های ضد توموری را در حیوانات و انسان ها نشان می دهند. تحریک سیستم دفاعی میزبان توسط این پلیمرهای زیست فعال قارچهای دارویی اثرات قابل توجهی بر بلوغ، تمایز و تکثیر بسیاری از انواع سلول های ایمنی دارد. گزارش شده است که بسیاری از این پلیمرهای قارچی دارای خواص ایمنی درمانی با تسهیل مهار رشد و تخریب سلول های تومور هستند. اگرچه مکانیسم اقدامات ضد توموری آنها هنوز به طور کامل شناخته نشده است، اما به نظر می رسد تحریک و تعدیل پاسخ های ایمنی کلیدی میزبان توسط این پلیمرهای قارچی مرکزی است. شواهد اخیر نشان می دهد که پلیمرهای قارچی- β گلوکان ممکن است باعث تحریک انواع بسیاری از سلول های ایمنی در حیوانات و انسان شود (Kurita et al., 2020). بررسی تعدادی از ترکیبات پلی ساکارید قارچی مانند لنتینان، کرسستین (PSK)، PSP، اسکیزوفیلان و بفانگین در مراحل آزمایشات بالینی انجام شده و به طور گسترده و موفقیت آمیزی برای درمان سرطان های مختلف و سایر بیماری ها در آسیا استفاده می شوند، اما در بسیاری از کشورهای غربی کاربرد آنها محدود است، زیرا در بسیاری از موارد استانداردهای این آزمایشات ممکن است الزامات نظارتی فعلی غرب را برآورده نکنند (Tian et al., 2012).

۳-۱-۳. خواص ضد سرطان

قارچها گنجینه های فیتوشیمیایی نادیده گرفته شده ای هستند که پتانسیل بسیار زیادی برای کاربردهای درمانی دارند. فهم بهتر متابولیت های ضد سرطانی موجود در پلی ساکاریدهای قارچ می تواند به پیشرفت روش های درمان سرطان کمک کند. در مورد موضوع سلنیوم و سرطان، شواهد بالینی متناقضی وجود دارد. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده اند که سطوح پایین سلنیوم در بدن با افزایش خطر برخی سرطانها مرتبط است، از جمله سرطان های ریه، پروستات و کولورکتال. اما یک مطالعه اخیراً، نشان داد که مصرف بیش از حد مکمل سلنیوم ممکن است خطر ابتلا به برخی سرطانها را تغییر دهد. شواهد نشان می دهند که سطح سلنیوم بهینه ممکن است برای پیشگیری از سرطان مفید باشد، اما مصرف بیش از حد آن نیز می تواند خطرناک باشد. بیشتر مطالعات بالینی برای روشن شدن ارتباط دقیق سلنیوم با سرطان مورد نیاز است (Khan et al., 2018). دریافتند که در میان ترکیبات قارچ دکمه ای سفید، سه پلی ساکارید اصلی شامل گالاکتومانان، آلفا گلوکان و بتا گلوکان، حدود ۵۵.۸ درصد آن را تشکیل می دهند. نتایج یافته ها بسیار جالب است که سطح پایین بتا گلوکان این قارچ، می تواند نقش مهمی در تقویت سیستم ایمنی مخاطی داشته باشد (Cheung, 2013). علاوه بر این، براساس پژوهش میزان قابل توجه فیبر موجود در قارچ دکمه ای سفید



، باعث افزایش سرعت ترشح ایمونو گلوبولین A می شود (Smiderle et al., 2013). فراتر از این، شواهد پژوهشی نشان می دهند که ترکیبات فنلی و لکترین های موجود در قارچ دکمه ای سفید به طور چشمگیری قادرند رشد سلول های سرطانی را مهار کنند. به طوری که عصاره این قارچ توانسته است تکثیر سلول های لوسمی HL-60 را متوقف نماید، زیرا باعث القای مرگ برنامه ریزی شده سلولی می شود. همچنین، این عصاره رشد سلول های سرطان پروستات PC3 و DU145 را در مطالعات حیوانی سرکوب کرده است. مطالعات علمی نشان داده اند که عصاره قارچ دکمه ای سفید حاوی ترکیبات زیست فعال مفیدی از جمله لکترین و ترکیبات فنلی است که نقش مهمی در تقویت مکانیسم های دفاع آنتی اکسیدانی سلولی و مهار رشد سلول های سرطانی ایفا می کنند. در این راستا، این عصاره توانسته است رشد سلول های سرطان ریه را به طور موثری کنترل کند. همچنین، آرژنین استخراج شده از کلاهک این قارچ، قادر بوده است رشد سلول های تومور را به تأخیر بیاورد (Jeong et al., 2012). بنابراین، توصیه می شود به ویژه بیماران سرطانی از قارچ دکمه ای سفید به عنوان یک مکمل غذایی مفید استفاده کنند. به طور کلی، این یافته ها نشان می دهند که قارچ ها دارای پتانسیل بالقوه ای برای کاربرد در پیشگیری و درمان برخی از سرطان ها است. اما برای تأیید و توسعه این کاربردها، نیاز به انجام تحقیقات تکمیلی و بیشتر در این زمینه وجود دارد.

۴-۱-۳. خواص ضد دیابت

بر اساس شواهد پژوهشی موجود، قارچ ها دارای پتانسیل قابل توجهی برای مدیریت و بهبود شرایط بیماری های متابولیک همچون دیابت و اختلالات قلبی-عروقی هستند. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می دهند که عوامل خطر اصلی این بیماری ها، همچون اختلالات لیپیدی و هیپرگلیسمی، به شدت تحت تأثیر عادات غذایی فرد قرار دارند؛ از این رو، توجه به ویژگی های تغذیه ای و ترکیبات بالقوه درمانی مواد غذایی طبیعی همچون قارچ ها، از جمله قارچ دکمه ای سفید، می تواند در مدیریت این اختلالات متابولیک نقش بسزایی داشته باشد (Jeong et al., 2010). بر اساس شواهد موجود، قارچ خوراکی حاوی سطوح قابل توجهی از ریزمغذی های مفید همچون ویتامین های C، B12 و D، همچنین ترکیبات آنتی اکسیدانی از قبیل پلی فنول ها و فیبر های غذایی است که به طور بالقوه می توانند اثرات مہاری بر فرآیندهای پاتوژنیک مرتبط با دیابت و اختلالات قلبی-عروقی داشته باشند (Calvo et al., 2016). مطالعات نشان داد که عصاره های استخراج شده از قارچ دکمه ای سفید قادرند تولید انسولین را افزایش دهند، فعالیت آنزیم کلیدی در گیر در متابولیسم گلوکز را بهبود بخشند و در نتیجه سطح قند خون را به طور قابل توجهی کاهش دهند (Ekowati et al., 2018). این عصاره ها همچنین توانسته اند پروفایل لیپیدی را بهبود بخشند، به طوری که میزان کلسترول HDL را افزایش و سطوح کلسترول LDL، تری گلیسیریدها و شاخص های التهابی همچون مالون دی آلدئید را کاهش دهند (Abou Zaid et al., 2017). به موازات این اثرات مفید بر شاخص های متابولیک، افزایش در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز نیز مشاهده شده است. لذا به نظر می رسد قارچ دکمه ای سفید حاوی ترکیبات زیست فعال متعددی است که به طور بالقوه می توانند در مدیریت و کنترل بیماری های متابولیک شایع همچون دیابت و اختلالات قلبی-عروقی کاربرد داشته باشند و در مقایسه با داروهای شیمیایی متداول، گزینه ای طبیعی تر و مطمئن تر را فراهم آورند. قارچ دکمه ای سفید به دلیل داشتن فیبر بالا به کاهش سطح گلوکز خون کمک



می کند. محتوای فیبر بالا در این قارچ خوراکی به عنوان یک مانع در برابر عملکرد آنزیم های گوارشی عمل می کند که سطح گلوکز خون را کاهش می دهد (Volman et al., 2010). پروپیونات یک استر از اسید پروپیونیک است که از قارچ سفیددکمه ای استخراج می شود و به خواص ضد دیابتی آن کمک می کند. پروپیونات بیشتر توسط کبد جذب می شود، در حالی که استات وارد جریان خون شده و توسط بافت های محیطی متابولیزه می شود. اسیدهای چرب زنجیره کوتاه (SCFA) مانند پروپیونات و استات ممکن است خطر ابتلا به اختلالات گوارشی، سرطان و بیماری های قلبی عروقی را کاهش دهند. در حالی که استات باعث افزایش سنتز کلسترول می شود، پروپیونات، به عنوان یک تولید کننده گلوکون، سنتز کلسترول را مهار می کند. مطالعات نشان داده اند که مصرف مواد غذایی حاوی فیبر و الیگوساکاریدها می تواند به افزایش تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه در روده بزرگ و در نتیجه کاهش سطح گلوکز خون منجر شود. در مجموع، پروپیونات به دلیل اثرات ضد دیابتی و تنظیم کننده لیپید خود می تواند برای سلامت متابولیکی مفید باشد. مصرف آلفا گلوکان تولید لیپولی ساکارید را کاهش داد، که منجر به کاهش قابل توجهی در غلظت گلوکز شد. گزارش کردند که ترپنوئیدها و فلاونوئیدها ترکیبات ثانویه ای هستند که فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز را در موش های مبتلا به دیابت افزایش می دهند (Wan et al., 2022).

۵-۱-۳. ضد چاقی

چاقی یک بیماری مزمن چند عاملی است و در سراسر جهان شایع است. بر اساس تخمین سازمان جهانی بهداشت، ۱.۵٪ از بزرگسالان جهان تا سال ۲۰۲۵ چاق خواهند شد. چاقی باعث بار جسمی و روحی می شود و باعث ایجاد بیماری های متعدد با مرگ و میر قابل توجهی مانند دیابت، فشار خون بالا، سرطان ها، افسردگی، بیماری کلیه و کبد، و ... می شود. مداخله در سبک زندگی می تواند به طور موثر چاقی را مدیریت کند. در نتیجه توسعه و استفاده از داروهای ضد چاقی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. با این حال، داروهای اثبات شده ضد چاقی که به صورت تجاری در دسترس هستند، عوارض جانبی شدیدی دارند و در پیشگیری از عوارض مرتبط با چاقی مؤثر نیستند. بنابراین، توسعه داروهای موثر ضد چاقی با کاربردهای بالینی امیدوارکننده و عوارض جانبی قابل کنترل از نظر تجاری امیدوارکننده است. از این رو منابع طبیعی به ویژه منابع غذایی که صدها سال است در طب عامیانه برای مبارزه با چاقی و بیماری های مرتبط با چاقی با سمیت کم یا عوارض جانبی مورد استفاده قرار گرفته است، مورد توجه قرار گرفته است (Dubey et al., 2019).

قارچ ها به علت غنی بودن از ترکیبات زیستی فعال مانند آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، پلی ساکاریدها، پلی فنل ها، الیاف، استرول ها و ترپن ها، دارای پتانسیل آنتی اکسیدانی هستند و می توانند اثرات مفیدی بر روی بیومارکرهای مرتبط با بیماری های قلبی در درمان چاقی داشته باشند (Shbeeb et al., 2019).

فیتواسترول ها ترکیبات شبیه کلسترول هستند که به طور طبیعی در غذاهای گیاهی وجود دارند و می توانند جذب کلسترول را کاهش دهند. پژوهشگران طی بررسی های خود دریافتند که فیتواسترول های موجود در قارچ قارچ دکمه ای سفید باعث کاهش کلسترول LDL و کلسترول پلاسما می شوند. همچنین این قارچ مقدار قابل توجهی لوواستاتین دارد که می تواند سطح کلسترول خون را کاهش دهد و ریسک بیماری های قلبی-عروقی را کاهش دهد (Lin et al., 2009).



پژوهشگران برای اولین بار پتانسیل هم افزایی ارگوسترول و اسید لینولئیک را برای بهبود سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی و بهبود اختلال متابولیک مرتبط با چاقی ارزیابی کردند. عصاره ی تهیه شده از قارچ دکمه ای سفید کاهش آسیب ناشی از رادیکال های آزاد همراه با بهبود سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی به طور مستقیم یا غیرمستقیم نقش محافظتی از خود نشان داد. همچنین نشان داد که حساسیت به انسولین و هموستاز گلوکز را در موش های چاق ناشی از رژیم غذایی پرچرب بهبود می بخشد. ارگوسترول به عنوان یک ترکیب دارای فعالیت کاهش دهنده ی چربی عمل کرد و هم افزایی ارگوسترول و لینولئیک اسید در تعدیل عوارض مرتبط با چاقی نقش بسیاری داشت (Xu et al., 2013). به طور کلی، ترکیبات زیستی موجود در قارچ ها، می توانند در کنترل چربی خون بالا و بیماری های قلبی-عروقی مرتبط با آن، همچنین تنظیم گلیسمی، مفید باشند و به عنوان یک رویکرد رژیمی مناسب برای مدیریت چاقی و اختلالات مطرح باشند.

۳-۱-۶. ضد میکروبی

مطالعات اخیر نشان داده اند که عصاره قارچ ها دارای خواص ضد میکروبی قابل توجهی است. گویای آن هستند که این عصاره به طور موثری بر باکتری های گرم مثبت اثر مهاری دارد (Tambekar et al., 2006). همچنین مطالعات در مورد باکتری های گرم منفی نیز گزارشاتی از اثرات مهاری آن وجود دارد (Tehrani et al., 2012). محققان معتقدند که ترکیبات ضد میکروبی موجود در عصاره قارچ، به ویژه پروتئین ها، می توانند به عنوان منابع طبیعی ترکیبات ضد باکتری در صنایع مختلف مورد استفاده قرار گیرند و از این رو، این مواد طبیعی حائز اهمیت فراوانی هستند (Gebreyohannes et al., 2019). فراتر از خواص ضد میکروبی، شواهدی وجود دارد که نشان می دهد عصاره قارچ های خوراکی دارای فعالیت ضد ویروسی بر علیه ویروس هپاتیت C هستند. این اثر احتمالاً به دلیل توانایی ترکیبات موجود در عصاره در مهار فعالیت پروتئاز ویروس هپاتیت C می باشد (Wu et al., 2016). بنابراین، قارچ ها به عنوان منبعی غنی از ترکیبات زیستی فعال با خواص ضد ویروسی و ضد میکروبی شناخته شده است که می تواند توجه صنایع غذایی و دارویی را به خود جلب کند.

۳-۱-۷. خواص ضد التهابی

لوازم آرایشی محصولات می هستند که برای پاکسازی و زیبایی پوست مورد استفاده قرار می گیرند و به آنها محصولات مراقبت شخصی نیز گفته می شود. امروزه، تقاضای رو به رشد مصرف کننده برای لوازم آرایشی حاوی مواد طبیعی و ارگانیک به عنوان تقاضای مصرف کننده برای محصولاتی که سالم تر، ارگانیک و زیست محیطی تلقی می شوند، وجود دارد. بنابراین، مواد مختلف استخراج شده از قارچ ها، اکنون راه خود را به مواد آرایشی باز می کنند.

بسیاری از ترکیبات قارچ دارای خواص آنتی اکسیدانی قوی و همچنین ضد التهابی هستند که اغلب در تلاش برای رفع نگرانی های آرایشی مانند خطوط ریز، چین و چروک، رنگ ناهموار و بافت مورد استفاده قرار می گیرند. خواص مغذی، ضد التهابی، احیا کننده و آنتی اکسیدانی قارچ باعث استفاده آینده نگر آنها در لوازم آرایشی و بهداشتی و مواد غذایی می شود. قارچ ها به عنوان منبع سنتی ترکیبات زیست فعال طبیعی برای قرن ها ارزشمند بوده اند و اخیراً برای اجزای بالقوه در صنعت



آرایشی و بهداشتی مورد بهره برداری قرار گرفته اند. بسیاری از قارچ ها و مواد تشکیل دهنده آنها برای پوست و مو مفید شناخته شده اند. فنل ها، پلی فنول ها، ترپنوئیدها، سلنیوم، پلی ساکاریدها، ویتامین ها و ترکیبات آلی فرار. این ترکیبات دارای اثرات آنتی اکسیدانی، ضد پیری، ضد چین و چروک، سفید کنندگی و مرطوب کنندگی عالی هستند که آنها را به کاندیدایی ایده آل برای محصولات آرایشی تبدیل می کند (Mukherjee et al., 2024). عصاره های قارچی و متابولیت های زیست فعال آنها فعالیت هایی مانند ضد تیروزیناز، ضد هیالورونیداز، ضد کلاژناز و ضد الاستاز را نشان داده اند. این ترکیبات همچنین دارای پتانسیل آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی هستند (Taofiq et al., 2019). برخی ترکیبات زیست فعال و مکانیسم های عملکرد آنها شناسایی شده اند، اما مطالعات بیشتری برای شناسایی ترکیبات اصلی و مکانیسم های عملکرد آنها نیاز است. کاربردهای بالقوه عصاره های قارچی و متابولیت های آنها در مبارزه با پیری، کاهش التهاب پوست و اصلاح هیپرپیگمانتاسیون شناسایی شده اند و این ادعاها باید توسط آزمایشات بالینی به درستی ارزیابی شوند.

۳-۲. فواید غذایی قارچ خوراکی

قارچ ها در سراسر جهان به عنوان مواد تشکیل دهنده غذاهای لذیذ در نظر گرفته شده اند، به ویژه به دلیل طعم منحصر به فردشان و توسط بشر به عنوان یک شگفتی آشپزی مورد توجه قرار گرفته اند. علاوه بر این، آنها به دلیل ویژگی های غذایی عملکردی خود به خوبی شناخته شده اند. قارچ حاوی انواع مواد شیمیایی مانند پروتئین ها، پلی ساکاریدها، کربوهیدرات ها، استروئیدها، ویتامین ها، نوکلئوتیدها، آنزیم ها، فلاونوئیدها، گلیکوپروتئین ها، فنل ها، تانن ها، اسیدهای آمینه و پلی فنل های اکسید شده است. محتوای غذایی قارچ به دلیل حداکثر پروتئین، مواد معدنی، فیبر، حداقل چربی و ویتامین آن است. مشخص شده است که اینها سیستم ایمنی را تقویت می کنند. قارچ همچنین حاوی فلاونوئیدها، تانن ها و آلکالوئیدها است. آنها برای رژیم های گیاهخواری مفید هستند زیرا تمام اسیدهای آمینه لازم را برای نیازهای بزرگسالان ایجاد می کنند. همچنین، قارچ ها نسبت به اکثر سبزیجات و برگ ها دارای حداکثر سطح پروتئین هستند. جزء معدنی یکی از اجزای حیاتی رژیم غذایی است. مشخص شده است که برخی از گونه های قارچ وحشی خوراکی دارای محتوای بیشتری از مواد معدنی هستند، در حالی که رایج ترین آنها کلسیم و منیزیم است. قارچ علاوه بر مواد معدنی، منبع برجسته ای از اسیدهای چرب غیراشباع و ویتامین ها، به ویژه ویتامین B و ویتامین C است (Krishnamoorthi et al., 2022).

۳-۲-۱. محتوای پروتئین

در این دنیای مدرن، کشت و مصرف قارچ خوراکی رو به افزایش است و تقاضای زیادی برای آن وجود دارد، زیرا قارچ از نظر طعم و مواد مغذی مطلوب است و به عنوان یک منبع پروتئینی جایگزین برای گوشت و پروتئین حیوانی در حال ظهور است، به ویژه در کشورهای در حال توسعه که با مشکل کمبود پروتئین مواجه هستند. تولید قارچ می تواند راه حل مناسبی برای این چالش باشد، چرا که قارچ ها نسبتاً سریع رشد می کنند و از نظر کیفیت پروتئین بالا بوده و ترکیب اسیدهای آمینه آنها قابل مقایسه با پروتئین حیوانی است، که به ویژه برای متعادل کردن مصرف بالای منابع غذایی حیوانی پروتئینی در کشورهای توسعه یافته اهمیت دارد. قارچ دکمه ای سفید غنی از انواع مختلف اسیدهای آمینه است. گزارش شده است که اسیدهای آمینه اصلی



موجود در قارچ شامل اسید آسپارتیک، سرین، گلیسین، ترئونین، گلوتامین، والین، سیستئین، آلانین، لوسین، ایزولوسین، لیزین، هیستیدین، پرولین، آرژنین، تیروزین و نورلوسین هستند (Louis et al., 2021). با این حال، گزارش شده است که شرایط قبل و بعد از برداشت و مراحل مختلف رشد قارچ ها می تواند بر ترکیبات غذایی و شیمیایی آنها تأثیر بگذارد (Ahlawat et al., 2016).

۳-۲-۲. محتوای چربی

چربی های خام فقط در مقادیر کمی در قارچ ها وجود دارند، در حالی که مقدار قابل توجهی از اسیدهای چرب ضروری مانند اسید لینولئیک در آن یافت می شود. ترکیبات اسید چرب موجود در قارچ ها شامل اسیدهای استئاریک، پالمیتیک، لینولئیک، کاپریلیک، اولئیک، اروسیک و ایکوزانوئیک است. ۴۴ همچنین بر اساس گزارش اسیدهای پالمیتیک و لینولئیک به ترتیب ۱۴.۷۱-۱۲.۶۷٪ و ۶۷.۲۹-۶۱.۸۲٪ از ۱۳ اسید چرب شناسایی شده در این قارچ را تشکیل می دهند (Barros et al., 2008). با این حال، اسیدهای پالمیتیک، لینولئیک و استئاریک را به عنوان اسیدهای چرب اصلی موجود در قارچ ها گزارش کردند (Baars et al., 2016).

۳-۲-۳. محتوای کربوهیدرات

محتوای کربوهیدرات کل در قارچ ها، شامل کربوهیدرات های قابل هضم و غیر قابل هضم، متفاوت بوده و از ۳۵٪ تا ۷۰٪ وزن خشک متغیر است. کربوهیدرات های قابل هضم موجود در قارچ عبارتند از مانیتول و گلوکز که معمولاً در مقادیر بسیار کم (کمتر از ۱٪ وزن خشک) و همچنین گلیکوژن (۵-۱۰٪ وزن خشک) وجود دارند. در مقابل، کربوهیدرات های غیر قابل هضم شامل الیگوساکاریدهایی مانند ترهالوز و پلی ساکاریدهای غیرنشاسته ای نظیر کیتین، بتاگلوکان ها و مانان ها هستند که بخش عمده کربوهیدرات های قارچ را تشکیل می دهند. این پلی ساکاریدهای غیرنشاسته ای های قارچ را می توان به عنوان فیبر غذایی در نظر گرفت که ممکن است مزایای فیزیولوژیکی برای انسان داشته باشند. تنوع زیادی در محتوای فیبر غذایی قارچ ها، بسته به شکل مورفولوژیکی و گونه آنها وجود دارد، به طوری که بعضی از گونه ها سطوح پایین فیبر غذایی دارند، در حالی که برخی دیگر دارای فیبر بالایی هستند. به طور کلی، قارچ ها فیبر غذایی را بین ۵٪ تا ۲۵٪ از رژیم غذایی تأمین می کنند (CHERNO et al., 2016). مطالعات نشان داده اند که محتوای کیتین در قارچ دکمه ای سفید در مقایسه با سایر گونه های قارچی بسیار بیشتر است. این نکته مهم است که کیتین یک فیبر نامحلول است که باعث تقویت عملکرد سیستم ایمنی و بهبود سلامت روده می شود، و محتوای کیتین بالاتر به سلامت کمک می کند. محتویات کربوهیدرات موجود در قارچ دکمه ای سفید را بررسی کرد و دریافت که ترهالوز و مانیتول دو قند فراوان هستند (Reis et al., 2012).

۳-۲-۴. محتوای ویتامین

در میان اجزای حساس موجود در غذاها، ویتامین ها از جایگاه ویژه ای برخوردارند، زیرا تغییرات در محتوای آنها می تواند شاخصی برای ارزیابی کیفیت غذا به شمار آید. متأسفانه، سطوح ویتامینی محصولات غذایی تحت تأثیر فرآیندهای اولیه،



نگهداری و ذخیره سازی قرار می گیرد. (Furlani & Godoy, 2008). در میان ویتامین ها، ویتامین D بیشترین تقاضا را دارد زیرا منابع گیاهی بسیار محدودی برای این ویتامین وجود دارد. قارچ ها منبع طبیعی ویتامین D هستند، اما با توجه به نتایج حاصل از بررسی ها قارچ های وحشی در مقایسه با قارچ های پرورشی به مقدار بیشتری یافت می شود که به دلیل قرار گرفتن در معرض نور خورشید است اشعه ماوراء بنفش (UV) موجود در نور خورشید یک واکنش فتوشیمیایی منحصراً به فرد را کاتالیز می کند که به موجب آن استرول قارچی، ارگوسترول، از طریق یک سری واکنش های فتوشیمیایی و حرارتی، مشابه آنچه در پوست انسان رخ می دهد، به ویتامین D تبدیل می شود. برای شبیه سازی فرآیند طبیعی سنتز ویتامین D، پرورش دهندگان قارچ تجاری اخیراً منابع نور ماوراء بنفش را در فرآیندهای تولید خود وارد کرده اند (Jasinghe & Perera, 2005). قارچ ها منبع مناسبی از ویتامین D هستند، زیرا در دیواره سلولی آنها ماده ای به نام ارگوسترول وجود دارد که پیش ساز این ویتامین محسوب می شود. ارگوسترول فراوان ترین استرول موجود در غشای سلولی قارچ های خوراکی است و مانند کلسترول در سلول های جانوران، یکپارچگی غشای سلولی قارچ ها را حفظ می کند. این ترکیب بیوشیمیایی به صورت آزاد و استری در قارچ ها حضور دارد (Roberts et al., 2008). گزارش کردند قارچ خوراکی هنگام قرارگیری در معرض تابش ماورای بنفش (در محدوده ۲۸۰ تا ۳۲۰ نانومتر)، تحت فرایند فتولیز قرار گرفته و به پیش ویتامین D₂ (پیش ارگوکلسیفرول) تبدیل می شود. سپس این ترکیب به صورت حرارتی به ویتامین D₂ (ارگوکلسیفرول) تبدیل می گردد که برای تغذیه انسان حائز اهمیت است (Mattila et al., 2002). به همین دلیل، ارگوسترول به موضوعی پرطرفدار در تحقیقات دارویی تبدیل شده است و اثرات سودمند آن بر اکسیداسیون، عملکرد سیستم ایمنی، دیابت، سرطان و سایر بیماری ها گزارش شده است.

۳-۲-۵. محتوای مواد معدنی

قارچ ها به عنوان منابع ارزشمند مواد معدنی شناخته می شوند، زیرا حاوی یون های حیاتی متعددی همچون پتاسیم، فسفر، منیزیم، کلسیم، سدیم، مس و روی هستند که نقش مهمی در فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بدن ایفا می کنند. گوشت قارچ به ویژه غنی از پتاسیم و فسفر است و همچنین منبع خوبی از عناصر کمیاب مانند مس و روی محسوب می شود. عناصر معدنی اصلی موجود در قارچ ها شامل فسفر، پتاسیم، کلسیم، روی، آهن، منیزیم و سدیم هستند که به فواید سلامتی این ماده غذایی ارزشمند کمک می کنند. در مجموع، قارچ ها به دلیل غنی بودن از این ترکیبات معدنی حیاتی، به عنوان منابع غذایی بسیار مناسب برای تأمین نیازهای بدن به این عناصر شناخته می شوند (CHERNO et al., 2016).

۳-۳. مشکلات پس از برداشت قارچ خوراکی

۳-۳-۱. قهوه ای شدن قارچ خوراکی

آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) به عنوان یک آنزیم کلیدی در فرآیند قهوه ای شدن قارچ ها و سایر میوه ها و سبزیجات معرفی شده است. به عنوان یک آنزیم کلیدی در فرآیند قهوه ای شدن قارچ ها و سایر میوه ها و سبزیجات معرفی شده است. هنگامی که این مواد غذایی بریده، آسیب دیده یا در معرض هوا قرار می گیرند، آنزیم پلی فنل اکسیداز با اکسیژن تماس پیدا کرده و واکنش آنزیمی را تحریک می کند. این واکنش منجر به اکسیداسیون ترکیبات فنلی موجود در بافت می شود که در



نتیجه آن رنگدانه های قهوه ای تشکیل می شوند و باعث تغییر رنگ قارچ ها می گردد. فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند دما، pH و وجود بازدارنده ها یا فعال کننده ها قرار دارد. به طور کلی، دمای پایین می تواند فعالیت آنزیمی را کاهش دهد، در حالی که دمای بالاتر آن را افزایش می دهد. درک این عوامل تأثیرگذار بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در صنایع غذایی بسیار مهم است، زیرا می توان از طریق تکنیک هایی همچون عملیات حرارتی، اسیدی کردن و استفاده از مهارکننده های آنزیمی، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را کنترل کرد و از قهوه ای شدن ناخواسته در قارچ ها و سایر محصولات جلوگیری نمود. در نتیجه، این تکنیک ها می توانند به افزایش ماندگاری این مواد غذایی منجر شوند (Roberts et al., 2008).

۳-۴. عوامل موثر بر فساد قارچ خوراکی پس از برداشت

عوامل موثر بر فساد قارچ خوراکی پس از برداشت شامل عوامل داخلی و خارجی است. عوامل داخلی شامل فعالیت آب، سرعت تنفس و فعالیت میکروبی می شوند. این عوامل می توانند تغییراتی در کیفیت قارچ ها ایجاد کنند، مانند قهوه ای شدن، تغییر سختی و از دست دادن کیفیت غذایی. عوامل خارجی نیز شامل دما، رطوبت نسبی و آسیب مکانیکی است (Rangsinth et al., 2023).

۳-۴-۱. عوامل داخلی شامل موارد زیر است:

۳-۴-۱-۱. فعالیت آب

عوامل داخلی موثر بر فساد قارچ خوراکی پس از برداشت شامل فعالیت آب (aw) است. فعالیت آب به معنای نسبت فشار بخار آب در ماده غذایی (pw.kpa) به فشار بخار اشباع آب خالص (pwo.kpa) در همان دما است. قارچ های تازه برداشت شده دارای رطوبت بالایی هستند که باعث رشد سریع میکروارگانیسم ها می شود. اما به دلیل ساختار اپیدرمی آسیب پذیر، قارچ های خوراکی ممکن است در طول نگهداری رطوبت خود را از دست داده و مشکلاتی مانند پژمردگی، پوسیدگی و قهوه ای شدن را تجربه کنند (Falandysz & Borovička, 2013).

۳-۴-۱-۲. سرعت تنفس

سطح اکسیژن در فرآیندهای متابولیکی تنفسی تأثیرگذار است و کیفیت نگهداری قارچ های خوراکی پس از برداشت به سرعت تنفس بستگی دارد. در همین راستا، نرخ تنفس نسبتاً پایین نقش حیاتی در افزایش ماندگاری قارچ های خوراکی دارد. دمای نگهداری نقش عمده ای در میزان تنفس ایفا می کند و هرچه دمای نگهداری بالاتر باشد، میزان تنفس قارچ پس از برداشت بیشتر خواهد شد. قارچ های خوراکی به دلیل ساختار اپیدرمی نازک و متخلخل خود، سرعت تنفس بالایی دارند. در طول نگهداری، فساد میکروبی افزایش یافته و منجر به افزایش میزان تنفس، قهوه ای شدن و سایر تغییرات نامطلوب می شود. شیوع میکروارگانیسم ها بر روی قارچ، با تأثیر بر میزان تنفس، موجب کوتاه شدن دوره نگهداری و کاهش جدی در ارزش اقتصادی محصول می گردد. مهمترین ویژگی متابولیسم قارچ، سرعت تنفس بالا و رطوبت بالا است. همراه با نبود یک سد محافظ در



برابر از دست دادن آب، تمایل به از دست دادن رطوبت دارند و به سرعت دچار زوال باکتریایی می شوند. بنابراین، نرخ تنفس قارچ شاخصی از ماندگاری آن هاست (Çağlarımak, 2009).

۳-۴-۱-۳. فعالیت میکروبی

در طول دوره پس از برداشت، قارچ های خوراکی به دلیل نداشتن بافت محافظ و رطوبت بالا، بستری ایده آل برای رشد میکروارگانیسم هایی مانند باکتری ها و قارچ ها هستند. این آلودگی های میکروبی باعث ایجاد تغییرات زیادی در فعالیت آنزیم ها می شود. در طول استرس فیزیولوژیکی ناشی از این آلودگی، پراکسیداز و کاتالاز فعال می شوند که منجر به تغییرات نامطلوب در بافت، طعم یا بو و قهوه ای شدن محصول می شود. با فساد میکروبی این محصول، ارزش تجاری آن از بین می رود. رشد عوامل بیماری زان نیز یکی دیگر از عواملی است که بر کیفیت محصول تأثیر می گذارد (Zheng et al., 2023).

۳-۴-۲. عوامل خارجی شامل موارد زیر است:

۳-۴-۲-۱. دما

دما نقش مهمی در رشد میکروارگانیسم ها ایفا می کند و از عوامل موثر بر قهوه ای شدن قارچ ها است. به دلیل نوسانات دما، قارچ ها پس از برداشت دستخوش تغییرات فیزیولوژیکی از جمله نرم شدن، تغییر رنگ، بی طعم شدن و از دست دادن مواد مغذی، تسریع پیری و کاهش کیفیت می شوند. دما به عنوان عامل حیاتی با تسریع اعمال فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پس از برداشت بر فرایند نرم شدن و از دست رفتن سفتی محصول اثر می گذارد. در حالت ایده آل، دمای بالا و طولانی مدت باعث تسریع از دست رفتن سفتی قارچ در طول نگهداری می شود. همچنین دما می تواند بر فعالیت آنزیم ها و در نتیجه فساد قارچ تأثیر بگذارد، به طوری که با افزایش دما، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز نیز افزایش می یابد. برای حفظ کیفیت قارچ ها، بهترین دمای نگهداری ۰ تا ۵ درجه سانتی گراد است که می تواند زمان نگهداری را به ۴-۶ روز افزایش دهد (W. Liu et al., 2013). مطالعات انجام شده روی قارچ دکمه ای سفید نشان می دهد که فعالیت آنزیم فنل اکسیداز با تغییرات دما و محتوای آب این قارچ در ارتباط است. در دمای ۰ تا ۱۵ درجه سانتیگراد، فعالیت آنزیم فنل اکسیداز افزایش یافت که احتمالاً به دلیل کاهش متابولیسم و آسیب کمتر به آنزیم در دماهای پایین تر است. اما در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، فعالیت آنزیم کاهش یافت که می تواند به علت افزایش سرعت واکنش های متابولیکی و آسیب بیشتر به آنزیم در این دمای بالاتر باشد. همچنین با کاهش محتوای آب در قارچ تازه، فعالیت آنزیم فنل اکسیداز افزایش یافت که کاهش آب سبب تغلیظ آنزیم و افزایش فعالیت آن می شود. این نتایج نشان می دهند که کنترل دما و محتوای آب می تواند به پیش بینی و مدیریت سطح قهوه ای شدن قارچ های دکمه ای سفید کمک کند و این اطلاعات می تواند در فرآیندهای نگهداری و فرآوری قارچ کاربرد داشته باشد (Nogales-Delgado, 2021).

۳-۴-۲-۲. رطوبت نسبی



رطوبت نسبی به طور قابل توجهی بر کاهش رطوبت در قارچ تأثیر می‌گذارد. هرچه رطوبت نسبی کمتر باشد، از دست دادن رطوبت سریع‌تر است. استفاده از رطوبت نسبی بالاتر در شرایط ذخیره‌سازی به حداقل رساندن تلفات کیفیت قارچ پس از برداشت کمک می‌کند. قارچ‌های تازه دارای رطوبت بالایی بین ۸۵ تا ۹۵ هستند. چنین سطح رطوبت بالایی برای رشد میکروبی ایده‌آل است، بنابراین، قارچ‌ها باید در دمای پایین نگهداری شوند تا آلودگی میکروارگانیسم‌ها به حداقل برسد. در طول دوره پس از برداشت، رطوبت قارچ به تدریج کاهش می‌یابد و در نتیجه کاهش وزن مداوم رخ می‌دهد. رنگ قارچ‌ها پس از برداشت به دلیل از دست دادن آب و فعالیت آنزیم‌ها روند قهوه‌ای شدن را نشان می‌دهد (Li et al., 2013).

۳-۲-۴. آسیب مکانیکی

قارچ‌ها به دلیل فقدان پوشش محافظ کوتیکول در سطح خود، در برابر آسیب‌های مکانیکی بسیار آسیب‌پذیر هستند. این آسیب‌ها می‌تواند هنگام حمل و نقل پس از برداشت و در طول فرآیندهای مختلف، به آنها وارد شود و عمر مفید آنها را کاهش دهد. این آسیب‌های مکانیکی، یکپارچگی غشای سلولی قارچ‌ها را به هم می‌ریزد و باعث تولید مقادیر اضافی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در آنها می‌شود. افزایش سطوح ROS، منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و در نتیجه، از دست رفتن کارکرد صحیح غشا خواهد شد. همچنین، این آسیب‌ها امکان تماس آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) موجود در پلاستیدها را با ترکیبات فنلی درون وزیکول‌های سلولی فراهم می‌کند. این واکنش، در نهایت به قهوه‌ای شدن ظاهر قارچ‌ها منجر می‌شود. بنابراین، برای حفظ سلامت و افزایش عمر مفید قارچ‌ها، توجه دقیق به جلوگیری از هرگونه آسیب مکانیکی در طول فرآیندهای پس از برداشت بسیار حائز اهمیت است. پس از برداشت، حفظ کیفیت و طول عمر قارچ بسیار مهم است. برای این منظور، کنترل دمای نگهداری قارچ‌ها بسیار حیاتی است. دمای پایین از طریق کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها، کاهش سرعت تنفس قارچ‌ها و به حداقل رساندن از دست دادن رطوبت، باعث افزایش عمر مفید قارچ‌ها می‌شود (Zhang et al., 2018).

۳-۵. روش‌های نگهداری قارچ خوراکی

به طور کلی روش‌های نگهداری قارچ را می‌توان به سه دسته تقسیم کرد: فرآیند حرارتی شامل خشک کردن و سرد کردن، فرآیند فیزیکی مانند بسته‌بندی، تابش و فراصوت و فرآیند شیمیایی مانند پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی با توجه به کارایی و هزینه مناسب که نه تنها اثر نگهداری مطلوبی دارد، بلکه دارای مزایای راحتی، کم هزینه بودن، سازگاری با محیط زیست و ایمنی انسان و غیره است، بسته بندی یکی از روش‌های عملی برای افزایش ماندگاری قارچ است (Wang LiuQing et al., 2018).

۳-۵-۱. روش‌های حرارتی

۳-۵-۱-۱. خشک کردن

خشک کردن قارچ یک روش استاندارد و معمول نگهداری است که به طور موثر فعالیت میکروبی را کاهش داده و عمر ماندگاری را افزایش می‌دهد. همچنین باعث حفظ طعم، بافت و ارزش غذایی قارچ می‌شود. در مطالعات مختلفی، تکنیک‌های مختلف خشک کردن قارچ مانند خشک کردن خورشیدی، هوای گرم، انجمادی، خلأ، مایکروویو و مادون قرمز بررسی شده و



مزایای هر کدام از جمله بهبود کیفیت نهایی محصول گزارش شده است. بنابراین خشک کردن به عنوان یک روش مهم و کارآمد برای نگهداری طولانی مدت و حفظ کیفیت قارچ شناخته می شود (Argyropoulos et al., 2011). مطالعات نشان داده اند که قارچ های خشک شده نمی توانند بیش از ۱۲ ماه نگهداری شوند بدون اینکه کیفیت آنها به شدت کاهش یابد. همچنین، خشک کردن محصولات کشاورزی با استفاده از جریان هوای گرم دارای معایب متعددی است. این روش موجب اتلاف قابل توجه انرژی حرارتی، راندمان پایین انتقال حرارت به محصول، زمان عملیات نسبتاً طولانی و همچنین کیفیت پایین و جمع شدگی محصول خشک شده می شود. این روش خشک کردن حتی با وجود سرعت بالا، منجر به کاهش کیفیت و افت ارزش محصول نهایی می شود. بنابراین، استفاده از روش های جایگزین می تواند راه حل بهتری باشد. در خشک کن های میکروویو، انرژی الکترومغناطیسی مستقیماً به انرژی جنبشی مولکول های آب تبدیل می شود. این امر باعث می شود که گرما مستقیماً در محصول تولید شود و انتقال انرژی تحت تأثیر موانع انتقال، به ویژه در مواد چسبناک، قرار نگیرد. از آنجایی که امواج میکروویو می توانند به داخل ماده نفوذ کنند، در این روش می توان گرما را در کل حجم ماده تولید کرد. این ویژگی در مقایسه با خشک کردن با جریان هوای گرم که در آن انتقال حرارت به سطح ماده محدود می شود، منجر به افزایش سرعت خشک شدن می گردد. همچنین، این روش در مصرف انرژی نیز صرفه جویی ایجاد می کند. بنابراین، خشک کردن با استفاده از امواج میکروویو می تواند روشی کارآمد و انرژی بر باشد که باعث افزایش سرعت و بهبود کیفیت خشک شدن محصولات می شود. خشک کردن در خلأ با کاهش فشار، باعث کاهش دمای خشک شدن می شود. این امر به نوبه خود، موجب حفظ ویژگی های کیفی مواد غذایی از جمله رنگ، طعم، ارزش غذایی و ترکیبات فعال زیستی می گردد (Bakshi et al., 2023).

خشک کردن با استفاده از اشعه مادون قرمز روشی مناسب به ویژه برای محصولات با برش های نازک است. این روش خشک کردن دارای مزایای متعددی است. در این روش، حرارت دادن مواد به طور مستقیم و بدون تغییر در ساختار آنها انجام می شود که باعث حفظ کیفیت ساختاری مواد می شود. همچنین، با حفظ ساختار مواد، عملکرد بیولوژیکی و ارزش غذایی آنها نیز افزایش می یابد. فرایند خشک کردن با اشعه مادون قرمز نسبت به روش های متداول، هزینه های عملیاتی کمتری دارد. این روش همچنین باعث کاهش تلفات ناشی از خشک شدن می شود، زیرا با جذب مستقیم حرارت توسط مواد، میزان تلفات به حداقل می رسد. علاوه بر این، خشک کردن با اشعه مادون قرمز سرعت بالاتری دارد بدون اینکه موجب سوختن مواد شود (Motevali et al., 2011). که خشک کردن انجمادی می تواند به حفظ مواد مغذی و شکل اصلی مواد در حدی بسیار بالا کمک کند. این روش به ویژه برای خشک کردن قارچ هایی با کیفیت بالا مانند دکمه ای سفید به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد با این حال، مصرف انرژی بالا و انتقال حرارت کم در این روش، موجب محدود شدن کاربرد آن می شود. خشک کردن انجمادی نیازمند فرایندهای پیچیده و هزینه بری است که باعث افزایش بهای تمام شده محصول نهایی می شود. همچنین بازده حرارتی پایین این روش به معنای راندمان کم انرژی آن است. بنابراین برای غلبه بر محدودیت های این روش، به انجام تحقیقات و توسعه روش های جدیدتر خشک کردن با بازده انرژی بالاتر و هزینه کمتر نیاز است. این امر می تواند کاربرد خشک کردن انجمادی را در صنایع مواد غذایی و دارویی گسترش دهد (Aguirre et al., 2009).



۲-۱-۵-۳. خنک کننده خلا

از آنجا که قارچ‌ها دارای رطوبت بالا و ساختار متخلخل هستند، روش خنک‌سازی خلا رایج‌ترین و کاربردی‌ترین فناوری برای حفظ کیفیت آن‌ها است. در این روش، خنک‌سازی از طریق تبخیر رطوبت از محصول انجام می‌شود. در مقایسه با روش‌های خنک‌سازی معمولی، خنک‌سازی خلا می‌تواند زمان خنک‌سازی و سرعت رشد میکروبی را به میزان قابل توجهی کاهش دهد. با این حال، هزینه‌های سرمایه‌گذاری بالا و کاهش وزن بیشتر در مقایسه با سرمایش معمولی، موجب محدود شدن کاربرد آن شده است.

مقایسه خنک‌سازی خلا با سایر روش‌های خنک‌سازی مرسوم مورد استفاده در محصولات تازه انجام شده است. یکی از مزایایی که برجسته است، زمان خنک‌سازی کوتاه خنک‌کننده خلا در مقایسه با خنک‌کننده هوای اجباری و اتاق ذخیره‌سازی سرد است. از نظر مصرف انرژی، خنک‌کننده خلا کارآمدتر است (Brosnan & Sun, 2001).

۲-۵-۳. روش‌های فیزیکی

۱-۲-۵-۳. میدان الکتریکی پالسی

روش میدان الکتریکی پالسی غیرحرارتی برای حفظ کیفیت مواد غذایی یک فرآیند مؤثر است که از طریق ایجاد منافذ موقت یا طولانی مدت در غشای میکروارگانیسم‌ها، منجر به اختلال غیرقابل برگشت در سلول‌ها و غیرفعال شدن آنها می‌شود. این فرآیند که الکتروپوراسیون نامیده می‌شود، سلول‌ها را می‌کشد در حالی که به مواد حل شده اجازه می‌دهد به طور الکتروفوریتیک بین بخش‌های سلولی حرکت کنند. در مورد استفاده از روش میدان الکتریکی پالسی غیرحرارتی برای نگهداری پس از برداشت قارچ‌ها، تحقیقات نسبتاً محدودی انجام شده است. اما تحقیقات موجود نشان می‌دهد که این فرآیند می‌تواند باعث تغییرات مورفولوژیکی و وزن مولکولی در پلی ساکاریدهای موجود در دیواره سلولی قارچ‌ها شود. این تغییرات ممکن است بر ترکیب و کیفیت غذایی قارچ‌ها تأثیر بگذارد، اگرچه نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه است (Su et al., 2024).

۲-۲-۵-۳. تابش

پرتودهی به عنوان یک رویکرد فناوری مؤثر و جامع برای غیرفعال سازی مواد غذایی شناخته می‌شود. این فناوری می‌تواند مواد غذایی را برای پذیرش‌های مختلف، مانند فضا، نظامی، و بیماران مبتلا به نقص ایمنی، آماده کند. پرتودهی برای غیرفعال سازی میکروبی بسیار ارتقا یافته است و در نهایت عمر مفید مواد خوراکی را افزایش می‌دهد. تابش باعث ایجاد تغییرات شیمیایی می‌شود و با پیدایش رادیکال هیدروکسیل همراه است که با DNA میکروبی واکنش می‌دهد و باعث کاهش ظرفیت تولید مثل می‌شود. میوه‌ها و سبزیجات به دلیل رطوبت ماتریکس غنی از مواد مغذی، در نهایت به راه‌هایی برای تکثیر میکروبی تبدیل می‌شوند و باعث ضایعات زیادی در قلمرو کشاورزی و مواد غذایی می‌شوند. این ویژگی‌ها تابش را به عنوان یک دارایی قوی برای افزایش ماندگاری محصولات باغی و در نتیجه جلوگیری از ضایعات و ضررهای اقتصادی ایجاد می‌کند. تابش مواد غذایی باعث تحریک تشعشعات غیریونیزان مانند UV، نور مرئی، مادون قرمز، امواج رادیویی و تشعشعات یونیزان مانند پرتوهای گاما، اشعه ایکس و پرتوهای الکترونی شتاب‌دار می‌شود. به طور خاص، تشعشعات یونیزان با طول موج‌های بسیار کوتاه‌تر و شدت



بالا تر، یک سیستم موثر است. به دلیل انرژی بالای موجود، آنها در تغییر اتم ها با حذف الکترون برای تشکیل یون قوی هستند. این استفاده از آن را برای عملیات های مختلف فرآیندی در حوزه کشاورزی و مواد غذایی تأیید می کند (Alkawareek et al., 2014).

۳-۵-۲-۳. پلاسما

پلاسما سرد به عنوان یک فناوری نوظهور در نظر گرفته می شود که می تواند جایگزین بالقوه ای برای تکنیک های نگهداری مرسوم باشد. پلاسما گازی یونیزه شده است که از اعمال میدان الکتریکی یا الکترومغناطیسی به گاز (هوا، اکسیژن، نیتروژن، آرگون، هلیوم) تولید می شود و باعث برخورد الکترون ها با مولکول ها یا اتم های گاز و تولید یونیزاسیون می شود. بنابراین، پلاسما از ترکیبات شیمیایی فعال، مانند گونه های فعال اکسیژن، رادیکال های آزاد، سوپراکسید تشکیل شده است. همه این ترکیبات می توانند طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها و آنزیم ها را بدون تأثیر بر کیفیت تغذیه ای، فیزیکی یا حسی آنها غیرفعال کنند (Gavahian et al., 2019).

۳-۵-۲-۴. بسته بندی

بسته بندی مواد غذایی یک جنبه حیاتی در فرایند تولید و توزیع آنهاست. هدف اصلی بسته بندی مواد غذایی، محافظت از محصول در برابر عوامل خارجی و تضمین سلامت و کیفیت آن برای مصرف کننده است. با توجه به افزایش شهرنشینی و جهانی سازی، تقاضای مصرف کنندگان برای غذاهای ایمن و با کیفیت بالا رو به افزایش است. بسته بندی مواد غذایی می تواند طول عمر محصول را از چند ساعت تا چند ماه افزایش دهد، با توجه به ترکیبات و طیف وسیعی از عوامل بیرونی. این احتمال وجود دارد که یک محصول غذایی در حین جابجایی، آماده سازی یا حمل و نقل با عوامل فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی تماس پیدا کند. بسته بندی محصولات غذایی را برای حفظ خوبی و تازگی خود تسهیل می کند و از دامنه آلودگی که در تماس با سایر محصولات غذایی یا قطعات مواد در هر نقطه از زنجیره تامین مواد غذایی ایجاد می شود، جلوگیری می کند. بسته بندی مواد غذایی نقش بسیار مهمی در زنجیره تامین مواد غذایی ایفا می کند. به عنوان یک لایه محافظ در برابر آلودگی، محیط خارجی و آسیب های مکانیکی در حین حمل و نقل عمل می کند (Cliffe-Bymes & O'Beime, 2008). همچنین، بسته بندی به عنوان یک ابزار پیشگیرانه عمل می کند تا اطمینان حاصل شود محصول در تمام مراحل توزیع مهر و موم شده است. این از نشت و دستکاری محصول جلوگیری می کند و اطمینان می دهد که محصول تا زمان استفاده نهایی توسط مصرف کننده سالم باقی می ماند. بنابراین بسته بندی نقش حیاتی در حفظ سلامت و کیفیت مواد غذایی در طول زنجیره تامین دارد. این یکی از مهمترین جنبه های بسته بندی محصولات غذایی است و نشان می دهد که شما درک عمیقی از اهمیت و نقش آن در این زمینه دارید. شایان توجه است که بسته بندی مواد غذایی به عنوان ابزاری شناسایی و ارتباطی میان تولید کننده و مصرف کننده نقش حائز اهمیتی ایفا می کند. جزئیات محصول همچون حقایق تغذیه ای، مزایای سلامتی، راهنمای استفاده و نگهداری، منشأ تولید، تاریخ سازندگی و انقضا، و سایر اطلاعات مرتبط بر روی آن درج می شود. فراتر از این، بسته بندی مناسب ابزاری بازاریابی است



که به جذابیت طبقات متنوع مصرف کنندگان با توجه به سن، جنسیت، فرهنگ و سایر عوامل پاسخ می دهد. همچنین بسته بندی ابزاری برای بهینه سازی است که به خرید مقدار دلخواه محصول کمک کرده و به طور غیرمستقیم از ایجاد ضایعات جلوگیری می نماید (Han, 2005).

۳-۵-۳. روش های شیمیایی

۳-۵-۳-۱. شستشو با عوامل ضد میکروبی

شستشوی قارچ ها برای برداشتن پوشش چسبنده ضروری است، اما این امر باعث آسیب مکانیکی و افزایش جذب آب می شود که در نهایت منجر به خرابی سریع تر قارچ ها می گردد. همچنین، برش باعث پخش شدن باکتری ها بر روی سطوح بریده شده و کبودی بیشتر به دلیل جابجایی بیشتر و اختلال در سلول های قارچ می شود، که بسترها و آنزیم ها را قادر می سازد تا واکنش های قهوه ای شدن آنزیمی را آغاز کنند. با این حال، شستشوی قارچ ها با عوامل ضد میکروبی و ضد قهوه ای به منظور بهبود کیفیت، کنترل زوال و افزایش پذیرش مصرف کننده محبوبیت تجاری به دست آورده است. اگر فرآورده های شستشوی موثر با عوامل ضد میکروبی و ضد قهوه ای یافت شود، این امر همراه با تکنیک های بسته بندی مناسب می تواند ارزش بازار را بیشتر کند. بنابراین، یافتن این فرآورده های شستشوی موثر می تواند راه حلی مناسب برای بهبود کیفیت و افزایش ماندگاری قارچ ها باشد (Han, 2014).

۳-۵-۳-۲. ازن

ازن اکسیژن فعال است و از آن به عنوان یک شکل سه اتمی از اکسیژن یاد می شود. این یک عامل طبیعی است و دارای خاصیت ضد میکروبی گسترده ای است که همراه با پتانسیل اکسیداسیون، آن را به گزینه ای جذاب برای صنایع غذایی تبدیل می کند. کاربرد ازن در صنعت نگهداری مواد غذایی به دلیل فقدان باقی مانده های مضر برای محیط زیست جذاب است. ازن به شدت قارچ کش و ضد باکتری است و همچنین برای حذف افت کش ها، علف کش ها و باقی مانده های دیگر استفاده می شود. ازن بر طعم غذا تأثیر نمی گذارد و هیچ باقیمانده قابل تشخیصی در محصولات تیمار شده با آن باقی نمی گذارد (Escriche et al., 2001).

۳-۵-۳-۳. آب الکترولیز شده

یک ضد عفونی کننده امیدوارکننده با طیف وسیع برای استفاده در صنایع غذایی است. این ضد عفونی کننده از طریق الکترولیز یک محلول نمکی تولید می شود و دارای فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی است. این فعالیت ضد میکروبی ناشی از غلظت کلر آزاد موجود در آن و تشکیل اسید هیپوکلروس می باشد. همچنین، پتانسیل اکسیداسیون-کاهش و اثر ترکیبی این عوامل در تعیین این فعالیت ضد میکروبی نقش دارند. استفاده از آب الکترولیز شده یک مفهوم پایدار و سبز است و دارای چندین مزیت نسبت به سیستم های نظافت سنتی از جمله مقرون به صرفه بودن، سهولت کاربرد، ضد عفونی مؤثر، تولید در محل و ایمنی



برای انسان و محیط زیست. این ویژگی ها آن را به یک سیستم ضد عفونی کننده و نظافتی مناسب تبدیل می کند (Rahman et al., 2016).

۴-۳-۵. پوشش های خوراکی

در حوزه مواد غذایی پوشش های خوراکی نقش حیاتی در بهبود کیفیت و حفظ محصولات ایفا می کنند. این پوشش ها مستقیماً بر روی مواد غذایی اعمال می شوند تا ظاهر، کیفیت و ماندگاری آن ها را افزایش دهند. این پوشش ها می توانند به صورت غوطه وری، برسی یا اسپری بر روی سطوح غذایی اعمال و سپس خشک شوند تا لایه ای محافظ ایجاد کنند. استفاده از پوشش های خوراکی برای طیف گسترده ای از محصولات غذایی، از جمله میوه های تازه و کم فرآوری شده، توجه را افزایش داده است. این پوشش ها به عنوان حاملی برای طیف وسیعی از افزودنی های غذایی عمل می کنند، از جمله عوامل ضد قهوه ای، رنگ ها، طعم دهنده ها، مواد مغذی و ادویه ها. همچنین، پوشش های ضد میکروبی می توانند عمر مفید محصول را افزایش داده و خطر رشد پاتوژن را بر روی سطوح غذا کاهش دهند (Thakur et al., 2021). بر اساس اطلاعات ارائه شده، پوشش های خوراکی می توانند به عنوان راه حل مناسبی برای افزایش عمر نگهداری میوه ها و سبزی ها مطرح باشند. این پوشش ها به عنوان موافقی برای تبادل گاز عمل می کنند و در نتیجه، عمر نگهداری محصولات را افزایش می دهند. با توجه به افزایش تقاضای جهانی برای محصولات تازه و نیاز به روش های کنترلی سازگار با محیط زیست، پوشش های خوراکی می توانند گزینه ای مناسب و کارآمد برای حفظ تازگی و افزایش عمر انبارداری محصولات باشند. این روش ها در مقایسه با روش های سنتی، مزایایی چون میزان باقی مانده کم، عدم سمیت و هزینه های اقتصادی کمتر را دارا هستند. استفاده از پوشش های خوراکی می تواند سبب بهبود حفظ قند کل، اسید اسکوربیک و ترکیبات زیست فعال در طول دوره ذخیره سازی شود. این پوشش ها همچنین می توانند از قهوه ای شدن سریع و تحلیل رفتن قارچ های دکمه ای سفید جلوگیری کنند. پوشش های خوراکی به طور کامل بیرون قارچ ها را می پوشانند و از تبادل گاز و از دست دادن رطوبت جلوگیری می کنند، در عین حال کیفیت آنها را نیز حفظ می کنند. بنابراین، پوشش های خوراکی به طور موثری می توانند در حفظ کیفیت و افزایش عمر ماندگاری میوه ها و سبزی های تازه نقش داشته باشند. این ویژگی ها آنها را به عنوان یک روش کارآمد و سازگار با محیط زیست برای نگهداری محصولات تازه مطرح می کند. به قارچ دکمه ای سفید، پودر پوست سیب و پوشش کربوکسی متیل سلولز داده می شود تا کیفیت آنها حفظ شده و عمر مفید آنها پس از برداشت طولانی تر گردد از این رو، این پوشش خوراکی می تواند در کاربردهای عملی و تجاری مفید باشد و در افزایش طول عمر نگهداری قارچ دکمه ای و سایر محصولات تازه کاربرد داشته باشد. هدف اصلی ارائه یک سیستم ذخیره سازی کارآمدتر برای مواد خوراکی است. این امر با هدف کاهش آسیب های کیفی در دوره پس از برداشت و همچنین کاهش نرخ تلفات محصول، به منظور افزایش عمر مفید آن دنبال می شود. افزون بر این، بهبود خواص پوشش های کاربردی نیز در دستور کار قرار دارد. بدین منظور، امکان استفاده از مواد درونزا همچون عوامل ضد قهوه ای، ضد میکروبی، مواد مغذی،



پیش سازهای فرار و رنگ ها وجود دارد. همچنین، افزودن سایر مواد همچون نگهدارنده ها، آنتی اکسیدان ها و عوامل سفت کننده به این پوشش ها می تواند در بهبود پایداری میکروبی، ظاهر و بافت محصول پوشش داده شده مؤثر باشد (Dawadi et al., 2022).

۴. بحث و نتیجه گیری

قارچ ها یک منبع پروتئین گیاهی محبوب هستند زیرا حاوی انواع مواد شیمیایی فعال زیستی با طیف وسیعی از فواید سلامتی مانند توانایی های کاهش کلسترول و مبارزه با سرطان هستند. قارچ ها به دلیل سرعت تنفس سریع و نداشتن مانعی برای جلوگیری از دست دادن آب، مانند کوتیکول، سرعت تبخیر بسیار بالایی دارند. قارچ هایی که آب بیشتری دارند بیشتر در معرض آلودگی میکروبی هستند. در نتیجه، تعدادی از استراژی های حفظ کیفیت پس از برداشت اجرا شده است. استفاده از انواع روش های نگهداری همراه با نیازهای سرمایه گذاری کم یا زمان پردازش سریع باید به منظور افزایش کیفیت قارچ پس از برداشت ترویج شود.

منابع

- Abou Zaid, O., Sonbaty, S., & Neama, M. (2017). Anti-diabetic activity of *Agaricus bisporus*: A biochemical and pathological study. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(2): 1740-1745.
- Aguirre, L., Frias, J. M., Barry-Ryan, C & Grogan, H. (2009). Modelling browning and brown spotting of mushrooms (*Agaricus bisporus*) stored in controlled environmental conditions using image analysis. *Journal of food engineering*, 91(2): 280-286.
- Ahlawat, O., Manikandan, K., & Singh, M (2016). Proximate composition of different mushroom varieties and effect of UV light exposure on vitamin D content in *Agaricus bisporus* and *Volvarela volvacea*. *Mushroom Research*, 2 5(1).
- Alkawareek, M. Y., Gorman, S. P., Graham, W. G., & Gilmore, B. F (2014). Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma. *International journal of antimicrobial agents*, 43(2): 154-160.
- Argyropoulos, D., Khan, M. T., & Müller, J. (2011). Effect of air temperature and pre-treatment on color changes and texture of dried *Boletus edulis* mushroom. *Drying Technology*, 29(16): 1890-1900.
- Baars, J., Sonnenberg, A., Mumm, R., Stijger, I., & Wehrens, H. (2016). *Metabolites contributing to taste in Agaricus bisporus*.
- Bakshi, N., Jain, S., Raman, A., & Pant, T. (2023). Microwave: An overview. *Ultrasound and Microwave for Food Processing*: 19-59.
- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M., & Ferreira, I. C. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and chemical toxicology*, 46(8): 2742-2747.
- Brosnan, T., & Sun, D.-W. (2001). Precooling techniques and applications for horticultural products—a review. *International Journal of Refrigeration*, 24(2): 154-170.
- Çağlarımak, N. (2009). Determination of nutrients and volatile constituents of *Agaricus bisporus* (brown) at different stages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(4): 634-638.
- Calvo, M. S., Mehrotra, A., Beelman, R. B., Nadkarni, G., Wang, L., Cai, W., Goh, B. C., Kalaras, M. D., & Uribarri, J. (2016). A retrospective study in adults with metabolic syndrome: diabetic risk factor response



- to daily consumption of *Agaricus bisporus* (white button mushrooms). *Plant Foods for Human Nutrition*, 71: 245-251 .
- CHERNO, N., OSOLINA, S., & NIKITINA, A. (2016). Chemical composition of *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* fruiting bodies and their morphological parts. *Food and Environment Safety Journal*, 12(4) .
- Cheung, P. C. (2013). Mini-review on edible mushrooms as source of dietary fiber: Preparation and health benefits. *Food Science and Human Wellness*, 2(3-4): 162-166 .
- Cliffe-Byrnes, V., & O'Beirne, D. (2008). Effects of washing treatment on microbial and sensory quality of modified atmosphere (MA) packaged fresh sliced mushroom (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biology and Technology*, 48(2): 283-294 .
- Dawadi, E., Magar, P. B., Bhandari, S., Subedi, S., Shrestha, S., & Shrestha, J. (2022). Nutritional and post-harvest quality preservation of mushrooms: A review. *Heliyon*, 8(12) .
- Dubey, S. K., Chaturvedi, V. K., Mishra, D., Bajpeyee, A., Tiwari, A., & Singh, M. (2019). Role of edible mushroom as a potent therapeutics for the diabetes and obesity. *3 Biotech*, 9: 1-12 .
- Ekowati, N., Yuniati, N. I., Hernayanti, H., & Ratnaningtyas, N. I. (2018). Antidiabetic potentials of button mushroom (*Agaricus bisporus*) on alloxan-induced diabetic rats. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 10(3):655-662 .
- Escriche, I., Serra, J., Gomez, M., & Galotto, M. (2001). Effect of ozone treatment and storage temperature on physicochemical properties of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Food Science and Technology International*, 7(3): 251-258 .
- Falandysz, J., & Borovička, J. (2013). Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms: health benefits and risks. *Applied microbiology and biotechnology*, 97: 477-501 .
- Furlani, R. P. Z., & Godoy, H. T. (2008). Vitamins B1 and B2 contents in cultivated mushrooms. *Food chemistry*, 106(2): 816-819 .
- Gavahian, M., Chu, Y. H., & Jo, C. (2019). Prospective applications of cold plasma for processing poultry products: Benefits, effects on quality attributes, and limitations. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(4): 1292-1309 .
- Gebreyohannes, G., Nyerere, A., Bii, C & Berhe Sbhatu, D. (2019). Determination of antimicrobial activity of extracts of indigenous wild mushrooms against pathogenic organisms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019(1): 6212673 .
- Han, J. H. (2005). New technologies in food packaging: Overview. In *Innovations in food packaging* (pp. 3-11). Elsevier .
- Han, J. H. (2014). A review of food packaging technologies and innovations. *Innovations in food packaging*, 3-12 .
- Jasinghe, V. J., & Perera, C. O. (2005). Distribution of ergosterol in different tissues of mushrooms and its effect on the conversion of ergosterol to vitamin D2 by UV irradiation. *Food chemistry*, 92(3): 541-546 .
- Jeong, S. C., Jeong, Y. T., Yang, B. K., Islam, R., Koyyalamudi, S. R., Pang, G., Cho, K. Y., & Song, C. H. (2010). White button mushroom (*Agaricus bisporus*) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hypercholesterolemic rats. *Nutrition research*, 30(1): 49-56 .
- Jeong, S. C., Koyyalamudi, S. R., Jeong, Y. T., Song, C. H., & Pang, G. (2012). Macrophage immunomodulating and antitumor activities of polysaccharides isolated from *Agaricus bisporus* white button mushrooms. *Journal of Medicinal Food*, 15(1): 58-65 .
- Khan, A. A., Gani, A., Khanday, F. A., & Masoodi, F. (2018). Biological and pharmaceutical activities of mushroom β -glucan discussed as a potential functional food ingredient. *Bioactive carbohydrates and dietary fibre*, 16: 1-13 .
- Krishnamoorthi, R., Srinivash, M., Mahalingam, P. U., & Malaikozhundan, B. (2022). Dietary nutrients in edible mushroom, *Agaricus bisporus* and their radical scavenging, antibacterial, and antifungal effects. *Process Biochemistry*, 121: 10-17 .
- Kuria, A., Fang, X., Li, M., Han, H., He, J., Aaseth, J. O., & Cao, Y. (2020). Does dietary intake of selenium protect against cancer? A systematic review and meta-analysis of population-based prospective studies. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(4): 684-694 .



- Li, P., Zhang, X., Hu, H., Sun, Y., Wang, Y., & Zhao, Y. (2013). High carbon dioxide and low oxygen storage effects on reactive oxygen species metabolism in *Pleurotus eryngii*. *Postharvest Biology and Technology*, 85: 141-146 .
- Lin, X., Ma, L., Racette, S. B., Anderson Spearie, C. L., & Ostlund Jr, R. E. (2009). Phytosterol glycosides reduce cholesterol absorption in humans. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 296(4): G931-G935 .
- Liu, J., Jia, L., Kan, J., & Jin, C.-h. (2013). In vitro and in vivo antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food and chemical toxicology*, 51: 310-316 .
- Liu, W., Zou, L.-q., Liu, J.-p., Zhang, Z.-q., Liu, C.-m., & Liang, R.-h. (2013). The effect of citric acid on the activity, thermodynamics and conformation of mushroom polyphenoloxidase. *Food chemistry*, 140(1-2): 289-295 .
- Louis, E., Villalobos-Carvajal, R., Reyes-Parra, J., Jara-Quijada, E., Ruiz, C., Andrades, P., Gacitúa, J., & Beldarraín-Iznaga, T. (2021). Preservation of mushrooms (*Agaricus bisporus*) by an alginate-based-coating containing a cinnamaldehyde essential oil nanoemulsion. *Food Packaging and Shelf Life*, 28, 100662 .
- Mattila, P., Lampi, A.-M., Ronkainen, R., Toivo, J., & Piironen, V. (2002). Sterol and vitamin D2 contents in some wild and cultivated mushrooms. *Food chemistry*, 76(3):298-293.
- Motevali, A., Minaei, S., Khoshtaghaza, M. H., & Amirnejat, H. (2011). Comparison of energy consumption and specific energy requirements of different methods for drying mushroom slices. *Energy*, 36(11):6433-6441 .
- Mukherjee, A., Das, S., Chakraborty, D., Pal, N., & Das, N. (2024). Fungi's treasure in cosmeceuticals-a comprehensive chemical approach. *South African Journal of Botany*, 166: 311-331 .
- Muszyńska, B., Sułkowska-Ziaja, K., & Ekiert, H. (2011). Indole compounds in fruiting bodies of some edible Basidiomycota species. *Food chemistry*, 125(4): 1306-1308 .
- Nogales-Delgado, S. (2021). Polyphenoloxidase (PPO): Effect, current determination and inhibition treatments in fresh-cut produce. *Applied Sciences*, 11(17): 7813 .
- Ouchi, Y., Yoshikawa ,E., Futatsubashi, M., Yagi, S., Ueki, T., & Nakamura, K. (2009). Altered brain serotonin transporter and associated glucose metabolism in Alzheimer disease. *Journal of Nuclear Medicine*, 50(8): 1260-1266 .
- Rahman, S., Khan, I., & Oh, D. H. (2016). Electrolyzed water as a novel sanitizer in the food industry: current trends and future perspectives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(3): 471-490 .
- Rangsinth, P., Sharika, R., Pattarachotanant, N., Duangjan, C., Wongwan, C., Sillapachaiyaporn, C., Nilkhet, S., Wongsirojkul, N., Prasansuklab, A., & Tencomnao, T. (2023). Potential beneficial effects and pharmacological properties of ergosterol, a common bioactive compound in edible mushrooms. *Foods*, 12(13): 2529 .
- Reis, F. S., Martins, A., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2012). Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: A comparative study between in vivo and in vitro samples. *Food and chemical toxicology*, 50(5): 1201-1207 .
- Roberts, J. S., Teichert, A., & McHugh, T. H. (2008). Vitamin D2 formation from post-harvest UV-B treatment of mushrooms (*Agaricus bisporus*) and retention during storage. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(12): 4541-4544 .
- Sarikaya, S., & Gulcin, I. (2013). Radical scavenging and antioxidant capacity of serotonin. *Current Bioactive Compounds*, 9(2): 143-152 .
- Shbeeb, D. A., Farahat, M. F., & Ismail, H. M. (2019). Macronutrients analysis of fresh and canned *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* mushroom species sold in Alexandria markets, Egypt. *Egypt. Prog. Nutr*, 21: 203-209 .
- Smiderle, F. R., Alquini, G., Tadra-Sfeir, M. Z., Iacomini, M., Wichers, H. J., & Van Griensven, L. J. (2013). *Agaricus bisporus* and *Agaricus brasiliensis* (1→ 6)-β-d-glucans show immunostimulatory activity on human THP-1 derived macrophages. *Carbohydrate Polymers*, 94(1): 91-99 .



- Su, W., Wang, Q., Li, J., Qiu, Z., & Qiu, Y. (2024). Effects of pulsed electric field technology on the nutritional value and biological function of plant food. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, 1385533 .
- Tambekar, D., Sonar, T., Khodke, M., & Khante, B. (2006). The novel antibacterials from two edible mushrooms: *Agaricus bisporus* and *Pleurotus sajor caju* .
- Taofiq, O., Rodrigues, F., Barros, L., Barreiro, M. F., Ferreira, I. C., & Oliveira, M. B. P. (2019). Mushroom ethanolic extracts as cosmeceuticals ingredients: Safety and ex vivo skin permeation studies. *Food and chemical toxicology*, 127: 228-236 .
- Tehrani, M. H. H., Fakhrehoseini, E., Nejad, M. K., Mehregan, H., & Hakemi-Vala, M. (2012). Search for proteins in the liquid extract of edible mushroom, *agaricusbisporus*, and studying their antibacterial effects. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 11(1): 145 .
- Thakur, R. R., Shahi, N. C., Mangaraj, S., Lohani, U. C., & Chand, K. (2021). Development of an organic coating powder and optimization of process parameters for shelf life enhancement of button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 45, (۳) e15306 .
- Tian, Y., Zeng, H., Xu, Z., Zheng, B., Lin, Y., Gan, C., & Lo, Y. M. (2012). Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of polysaccharides recovered from white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Carbohydrate Polymers*, 88(2):522-529.
- Volman, J., Mensink, R., Van Griensven, L., & Plat, J. (2010). Effects of α -glucans from *Agaricus bisporus* on ex vivo cytokine production by LPS and PHA-stimulated PBMCs; a placebo-controlled study in slightly hypercholesterolemic subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64(7): 720-726 .
- Wan, Y., Xia, J., Xu, J.-f., Chen, L., Yang, Y., Wu, J.-J., Tang, F., Ao, H., & Peng, C. (2022). Nuciferine, an active ingredient derived from lotus leaf, lights up the way for the potential treatment of obesity and obesity-related diseases. *Pharmacological research*, 175, 106002 .
- Wang LiuQing, W. L., Hu QiuHui, H. Q., Pei Fei, P. F., Mariga Alfred Mugambi, M. A. M., & Yang WenJian, Y. W. (2018). Influence of different storage conditions on physical and sensory properties of freeze-dried *Agaricus bisporus* slices .
- Wu, Y., Choi, M.-H., Li, J., Yang, H., & Shin, H.-J. (2016). Mushroom cosmetics: the present and future. *Cosmetics*, 3(3): 22 .
- Xu, H., Yang, Y.-J., Yang, T., & Qian, H.-Y. (2013). Statins and stem cell modulation. *Ageing research reviews*, 12(1): 1-7 .
- Zhang, K., Pu, Y.-Y., & Sun, D.-W. (2018). Recent advances in quality preservation of postharvest mushrooms (*Agaricus bisporus*): A review. *Trends in Food Science & Technology*, 78: 72-82
- Zheng, C., Li, J., Liu, H., & Wang, Y. (2023). Review of postharvest processing of edible wild-grown mushrooms. *Food Research International*, 113223 .

مروری بر کاربردهای هوش مصنوعی در بهبود تولید و کیفیت گیاهان دارویی

اصغر مارزی زاده^{*۱}

^{*۱} گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران، تهران. (marzizadeh.asghar69@gmail.com)

چکیده

استفاده از هوش مصنوعی در کشاورزی و تولید گیاهان دارویی به سرعت در حال رشد است و پتانسیل عظیمی برای بهبود عملکرد و کیفیت محصولات دارد. هوش مصنوعی می‌تواند با تحلیل داده‌های بزرگ و پیش‌بینی روندها، بهینه‌سازی فرآیندهای تولید، و مدیریت دقیق منابع، نقش مهمی در بهبود تولید و کیفیت گیاهان دارویی ایفاء کند. این فناوری می‌تواند به کشاورزان کمک کند تا با شناسایی الگوهای بیماری و آفات، زمان مناسب برای کاشت و برداشت، و بهینه‌سازی شرایط محیطی، بهره‌وری خود را افزایش دهند. علاوه بر این، هوش مصنوعی می‌تواند در شناسایی ترکیبات فعال گیاهان دارویی و توسعه داروهای جدید نقش داشته باشد. با استفاده از مدل‌های یادگیری ماشین و شبکه‌های عصبی، محققان می‌توانند داده‌های پیچیده را تحلیل کرده و ترکیبات دارویی مؤثرتر و با کارایی بالاتر را کشف کنند. علاوه بر این، پتانسیل هوش مصنوعی برای افزایش پایداری در کشاورزی با ترویج شیوه‌های سازگار با محیط زیست و منابع کارآمد، اهمیت آن را در دستیابی به اهداف بلندمدت کشاورزی برجسته می‌کند. این مقاله به بررسی کاربردهای مختلف هوش مصنوعی در کشاورزی و تولید گیاهان دارویی پرداخته و نشان می‌دهد که چگونه این فناوری می‌تواند به بهبود کیفیت و کمیت تولیدات گیاهان دارویی کمک کند و به توسعه داروهای جدید و مؤثرتر منجر شود.

واژگان کلیدی: کشاورزی هوشمند، گیاهان دارویی، هوش مصنوعی



۱. مقدمه

علیرغم تجربه و تخصص غنی کشاورزان در کشت گیاهان دارویی، این صنعت با چالش‌های متعددی مواجه است که مانع از پتانسیل کامل آن می‌شود. کشاورزان با الگوهای آب و هوایی غیرقابل پیش بینی، شیوع آفات و بیماری‌ها و محدودیت‌های منابع دست و پنجه نرم می‌کنند که اغلب منجر به بازده محصول ناسازگار و کیفیت متغیر می‌شود. روش‌های سنتی کشت، اگرچه ریشه عمیقی در تاریخ دارند، ممکن است همیشه با خواسته‌های کشاورزی مدرن همخوانی نداشته باشند. از آنجایی که تقاضای جهانی برای گیاهان دارویی با کیفیت بالا همچنان در حال افزایش است، نیاز مبرمی به راه حل‌های نوآورانه برای غلبه بر این چالش‌ها وجود دارد. بخش کشاورزی ایران با بهره‌گیری از فناوری‌های پیشرفته می‌تواند به کارایی، پایداری و عملکرد بیشتری در تولید گیاهان دارویی دست یابد. هوش مصنوعی به عنوان یکی از فناوری‌های پیشرفته، از طریق کاربردهای مختلف نوآورانه، انقلابی در تولید و کیفیت گیاهان دارویی ایجاد می‌کند (Mohd *et al.*, 2021). این کاربردها شامل شیوه‌های بهینه کشت، کنترل کارآمد آفات، شناسایی بیماری‌های گیاهی، کنترل کیفیت در تولید و بهبود فرآیندهای استخراج است. همچنین، هوش مصنوعی پتانسیل قابل توجهی برای افزایش کیفیت و کمیت تولید گیاهان دارویی دارد که در نهایت منجر به توسعه داروهای جدید و موثرتر می‌شود، با استفاده از تجزیه و تحلیل داده‌های پیشرفته، الگوریتم‌های یادگیری ماشین و اتوماسیون، هوش مصنوعی می‌تواند مراحل مختلف فرآیند تولید را بهینه کند (Chlingaryan *et al.*, 2018). برخی از فرآیندها و جنبه‌های هوش مصنوعی که می‌تواند به بهبود تولید و کیفیت گیاهان دارویی کمک کند، می‌توان به، بهبود مدیریت محصول، شیوه‌های بهینه کشت، توسعه تکنیک‌های جدید کشت، کنترل آفات و مدیریت بیماری، کنترل کیفیت در تولید، شناسایی و تجزیه و تحلیل ترکیب شیمیایی، تقویت فرآیندهای استخراج، بهینه‌سازی استفاده از منابع، نوآوری در کاربردهای دارویی، پشتیبانی از آزمایشات بالینی، اشاره شده است. این مقاله به برخی کاربردهای هوش مصنوعی در رسیدگی به این مشکلات می‌پردازد و نشان می‌دهد که چگونه هوش مصنوعی می‌تواند انقلابی در تولید و کیفیت گیاهان دارویی در ایران ایجاد کند.

۲. مواد و روش‌ها

ادغام هوش مصنوعی در کشت و تولید گیاهان دارویی با افزایش عملکرد و کیفیت، صنعت را متحول کرده است. فن‌آوری‌های هوش مصنوعی، از جمله یادگیری ماشینی و یادگیری عمیق، راه‌حل‌های نوآورانه‌ای را ارائه می‌دهند که چالش‌های مختلفی را که در شیوه‌های کشاورزی سنتی با آن مواجه است، ارائه می‌دهد. همچنین، هوش مصنوعی می‌تواند بهبود تولید و کیفیت گیاهان دارویی را از طریق انجام تحلیل‌های داده‌ای و پیش‌بینی‌های دقیق برای مدیریت محیط‌های کشت، تنظیم شرایط محیطی، و افزایش کارایی استفاده از منابع انرژی و مواد معدنی ارائه دهد. پیشرفت‌های اخیر در هوش مصنوعی به طور قابل توجهی بر کشت بافت گیاهی در گیاهان دارویی تأثیر گذاشته است. استفاده از تکنیک‌های هوش مصنوعی مانند شبکه‌های عصبی مصنوعی امکان کنترل دقیق پارامترها در کشت بافت را فراهم می‌کند که منجر به بهبود نرخ تشکیل ساقه و ریشه می‌شود. با سفرای سازی شرایط رشد و در دسترس بودن مواد مغذی، هوش مصنوعی به روش‌های تکثیر کارآمدتر کمک می‌کند و در



نهایت منجر به عملکرد بالاتر و بهبود کیفیت گیاهان دارویی می شود. برخی از فرآیندها و جنبه های هوش مصنوعی که می تواند به بهبود تولید و کیفیت گیاهان دارویی کمک کند در زیر به آنها اشاره خواهیم کرد.

۲-۱. بهبود مدیریت محصول

فناوری های هوش مصنوعی می توانند مدیریت محصول را با نظارت دقیق و کنترل شرایط محیطی بهبود بخشند. این شامل کیفیت خاک، رطوبت، نور و تنظیم دما است که برای رشد بهینه گیاهان دارویی بسیار مهم است. حسگرهای مبتنی بر هوش مصنوعی و تجزیه و تحلیل داده ها به کشاورزان کمک می کنند تا سلامت گیاه را در زمان واقعی نظارت کنند و به مداخلات به موقع برای جلوگیری از بیماری ها و بهینه سازی شرایط رشد اجازه دهند. از طریق تکنیک هایی مانند سنجش از دور و یادگیری ماشینی، کشاورزان می توانند بازدهی بالاتر و محصولات با کیفیت بهتر را به دست آورند (Malabadi *et al.*, 2023).

۲-۲. شیوه های بهینه کشت

هوش مصنوعی با فعال کردن برنامه های بهینه کاشت و مدیریت منابع، کارایی کشت گیاهان دارویی را به طور قابل توجهی بهبود می بخشد. مدل های پیشرفته هوش مصنوعی داده های مربوط به رطوبت خاک، شرایط محیطی و سلامت گیاه را تجزیه و تحلیل می کنند و به کشاورزان اجازه می دهند تا برنامه های آبیاری و کوددهی دقیقی ایجاد کنند (Gupta *et al.*, 2024). با استفاده از این فناوری ها، کشاورزان می توانند به طور موثر بر محصولات خود نظارت کنند و در نتیجه عملکرد را افزایش داده و اتلاف منابع را کاهش دهند. علاوه بر این، سیستم های مجهز به هوش مصنوعی می توانند بهترین زمان کاشت را بر اساس داده های آب و هوایی پیش بینی کنند، که در نهایت از شیوه های کشاورزی پایدارتر پشتیبانی می کند (Gupta *et al.*, 2024).

۲-۳. توسعه تکنیک های جدید کشت

هوش مصنوعی می تواند با تجزیه و تحلیل عوامل و شرایط مختلفی که تحت آن گیاهان دارویی شکوفا می شوند، به توسعه تکنیک های جدید و بهبود یافته رشد کمک کند. برای مثال، مدل های یادگیری ماشینی می توانند سناریوهای مختلف رشد را شبیه سازی کنند و شرایط بهینه را برای برنامه های اصلاحی با هدف توسعه گونه های گیاهی جدید با خواص دارویی پیشرفته شناسایی کنند. علاوه بر این، فناوری های هوش مصنوعی مانند الگوریتم های ژنتیک می توانند به انتخاب صفات ژنتیکی در گیاهانی که برای استفاده دارویی مطلوب هستند، کمک کرده و روند پرورش را تسریع کنند (Malabadi *et al.*, 2023).

۲-۴. کنترل آفات و مدیریت بیماری

کنترل آفات و بیماری ها در کشت گیاهان دارویی ضروری است، زیرا آلودگی می تواند کیفیت محصول را به شدت تحت تاثیر قرار دهد. راه حل های مبتنی بر هوش مصنوعی امکان نظارت در زمان واقعی جمعیت آفات و شناسایی بیماری های گیاهی را فراهم می کنند (Kariyanna *et al.*, 2024). به عنوان مثال، الگوریتم های هوش مصنوعی داده های جمع آوری شده



از حسگرهای محیطی و الگوهای تاریخی آفات را برای پیش‌بینی شیوع احتمالی تجزیه و تحلیل می‌کنند. این قابلیت پیش‌بینی به کشاورزان در اجرای طرح‌های درمان هدفمند کمک می‌کند و نیاز به کاربردهای آفت‌کش‌های وسیع الطیف را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد. علاوه بر این، مدل‌های یادگیری عمیق برای تشخیص خودکار بیماری‌های گیاهی توسعه می‌یابند که امکان مداخله سریع را فراهم می‌کند که تلفات محصول را به حداقل می‌رساند و سلامت کلی گیاه را ارتقا می‌دهد (Cherlinka, 2024).

۵-۲. کنترل کیفیت در تولید

اطمینان از کیفیت گیاهان دارویی برای کارایی و ایمنی آنها بسیار مهم است. فناوری‌های هوش مصنوعی برای نظارت و طبقه‌بندی مواد گیاهی دارویی در حین تولید در حال اجراء هستند. به عنوان مثال، تکنیک‌های یادگیری ماشین، مانند شبکه‌های عصبی کانولوشن (CNN)، در سیستم‌های تشخیص خودکار برای شناسایی گونه‌های مختلف و ارزیابی کیفیت آنها استفاده می‌شود (Owais et al., 2022). علاوه بر این، هوش مصنوعی می‌تواند استقرار نشانگرهای Q را تسهیل کند که بررسی‌های کیفیت را در دسته‌های مختلف گیاهان دارویی استاندارد می‌کند و از ثبات در خواص درمانی محصولات گیاهی اطمینان می‌دهد (Zhou et al., 2024).

۳. نتایج

استفاده از هوش مصنوعی به طور قابل توجهی هم تولید و هم کیفیت گیاهان دارویی را افزایش می‌دهد. این تحول به ویژه در شیوه‌های کشاورزی ارزشمند است، جایی که تکنیک‌های هوش مصنوعی به کشاورزان و محققان برای بهینه‌سازی جنبه‌های مختلف کشت گیاهان قدرت می‌دهد. این مطالعه به بررسی چگونگی استفاده از یادگیری ماشین برای پیش‌بینی و مدیریت بیماری‌های گیاهی می‌پردازد که برای بهبود عملکرد محصول و حفظ سلامت گیاه بسیار مهم است. این بینش‌هایی را در مورد کاربردهای عملی هوش مصنوعی در نظارت و پیشگیری از بیماری‌ها ارائه می‌دهد که مستقیماً به تولید گیاهان دارویی سود می‌رساند (Bock et al., 2017). این بررسی تکنیک‌های مختلف یادگیری ماشین مورد استفاده برای پیش‌بینی عملکرد محصول و ارزیابی وضعیت نیتروژن را مورد بحث قرار می‌دهد. دانش به‌دست‌آمده از این تحقیق می‌تواند برای بهینه‌سازی شرایط رشد گیاهان دارویی و افزایش کمیت و کیفیت استفاده شود (Chlingaryan et al., 2018).

۱-۳. تقویت فرآیندهای استخراج

هوش مصنوعی نقشی اساسی در بهینه‌سازی فرآیندهای استخراج ایفاء می‌کند که برای جداسازی ترکیبات فعال زیستی از گیاهان دارویی حیاتی هستند. تکنیک‌هایی مانند یادگیری ماشین و مدل‌سازی پیش‌بینی به تعیین شرایط استخراج بهینه (مانند نوع حلال، دما و زمان) برای به حداکثر رساندن بازده و خلوص کمک می‌کند. برای مثال، سیستم‌های هوش مصنوعی استراتژی‌های استخراجی را توسعه می‌دهند که می‌توانند در زمان واقعی بر اساس اندازه‌گیری‌های مداوم از فرآیندها تنظیم شوند،

در نتیجه کارایی را افزایش می دهند و در عین حال هزینه ها و استفاده از منابع را به حداقل می رسانند. علاوه بر این، روش های تقویت شده با هوش مصنوعی اغلب با کاهش ضایعات شیمیایی تولید شده در طول فرآیندهای استخراج منجر به اتخاذ شیوه های پایدارتر می شوند (Alloun *et al.*, 2024).

۳-۲. شناسایی و تجزیه و تحلیل ترکیب شیمیایی

سیستم های هوش مصنوعی همچنین برای تجزیه و تحلیل ترکیب شیمیایی گیاهان دارویی و شناسایی ترکیبات جدید با خواص دارویی بالقوه مورد استفاده قرار می گیرند. الگوریتم های یادگیری ماشینی می توانند داده های طیفی را برای شناسایی و تعیین کمیت ترکیبات زیست فعال موجود در مواد گیاهی تجزیه و تحلیل کنند. با ادغام روش های محاسباتی با پایگاه های اطلاعاتی بیولوژیکی گسترده، محققان می توانند مواد فعال زیستی جدیدی را از گیاهان دارویی سنتی کشف کنند که سپس می توانند برای کاربردهای دارویی کشف شوند (Yoo *et al.*, 2020).

۳-۳. بهینه سازی استفاده از منابع

برنامه های کاربردی مبتنی بر هوش مصنوعی می توانند کارایی استفاده از منابع در کشت گیاهان دارویی از جمله آب، کود و آفت کش ها را به طور قابل توجهی بهبود بخشند. با تجزیه و تحلیل مقادیر زیادی از داده ها، هوش مصنوعی می تواند به کشاورزی دقیق کمک کند، که برنامه ورودی را با توجه به نیازهای خاص هر گیاه یا محصول تنظیم می کند. این نه تنها گیاهان سالم تر را تضمین می کند، بلکه ضایعات و اثرات زیست محیطی را به حداقل می رساند که منجر به شیوه های کشاورزی پایدارتر می شود (Malabadi *et al.*, 2023).

۳-۴. نوآوری در کاربردهای دارویی

ادغام هوش مصنوعی در تحقیقات گیاهان دارویی تنها به کشت محدود نمی شود. بلکه به برنامه های دارویی نیز گسترش می یابد. هوش مصنوعی می تواند شناسایی ترکیبات زیست فعال در گیاهان دارویی را از طریق داده کاوی و تجزیه و تحلیل پیش بینی تسهیل کند. با استفاده از الگوریتم های یادگیری ماشینی بر روی داده های شیمیایی و بیولوژیکی، محققان می توانند داروهای بالقوه جدیدی را کشف کنند و ترکیباتی را شناسایی کنند که ممکن است در روش های تحقیقاتی سنتی نادیده گرفته شده باشند (Choi *et al.*, 2023).

۳-۵. پشتیبانی از آزمایشات بالینی

در نهایت، هوش مصنوعی می تواند نقش مهمی در برنامه ریزی و اجرای آزمایش های بالینی برای داروهای جدید مشتق شده از گیاهان دارویی داشته باشد. الگوریتم های هوش مصنوعی می توانند داده های بالینی تاریخی را تجزیه و تحلیل کنند تا نتایج را پیش بینی کنند، دوزهای بهینه را شناسایی کنند و دموگرافیک بیماران را که احتمالاً از یک داروی جدید سود می برند،



پیشنهاد کنند. این قابلیت تحلیلی نه تنها فرآیند آزمایش را ساده می کند، بلکه احتمال نتایج موفقیت آمیز را نیز افزایش می دهد و منجر به معرفی سریعتر داروهای مؤثر به بازار می شود (Meenakshi *et al.*, 2023).

۴. بحث و نتیجه گیری

توانایی هوش مصنوعی برای بهبود شیوه های کشاورزی، بهینه سازی فرآیندها و ایجاد نوآوری در تحقیقات به طور قابل توجهی به بهبود کیفیت و کمیت تولید گیاهان دارویی کمک خواهد کرد. با استفاده از این فناوری پیشرفته، کشاورزان می توانند محصولات با کیفیت تری تولید کنند که خواص دارویی بالاتری دارند و به کاهش ضایعات و افزایش پایداری کمک می کنند. بنابراین، هوش مصنوعی می تواند نقش مهمی در ایجاد یک آینده پایدارتر و موفق تر برای کشاورزی و تولید گیاهان دارویی ایفاء کند.

منابع

- Alloun, W., Calvio, C. (2024). Bio-Driven Sustainable Extraction and AI-Optimized Recovery of Functional Compounds from Plant Waste: A Comprehensive Review. 10: 126. <https://www.mdpi.com/journal/fermentation>
- Bock, C. H., Parker, P. E., & Cook, A. Z. (2017). Applications of machine learning in plant disease epidemiology. *Plant Pathology*, 66(7): 1006-1017.
- Cherlinka V. (2024). AI and Pest Management: Protecting Yields with Smart Technology. <https://www.agribusinessglobal.com>.
- Chlingaryan, A., Sukkarieh, S., & Whelan, B. (2018). Machine learning approaches for crop yield prediction and nitrogen status estimation in precision agriculture: A review. *Computers and Electronics in Agriculture*, 151, 61-69. doi:10.1016/j.compag.2018.05.012.
- Choi, J., Byun, SW., Lim, T., Lee, HI., Shin, HS., Kim, GW. (2023). Artificial Intelligence-Based Plant Breeding using Genotype and Phenotype Data: Methods and Future Work. *Agricultural and Food Sciences, Environmental Science*. <https://doi.org/10.1109/BigData59044.2023.10386874>
- Gupta, DK., Anselmo Pagani, A., Zamboni, P., Singh, A. (2024). AI-powered revolution in plantsciences: advancements, applications, and challenges for sustainable agriculture and food security. *Journal of Exploration of Foods and Foodomics*. 2:443–59. <https://doi.org/10.37349/eff.2024.00045>
- Kariyanna, B., Sowjanya, M. (2024). Unravelling the use of artificial intelligence in management of insect pests. *journal homepage: Smart Agricultural Technology*. 8 : 100517 .
- Malabadi, RB., Nethravathi, TL., Kolkar, KP., Chalannavar, RK., Mudigoudra, BS., , Lavanya, L., Abdi, G., Baijnath, H. (2023). Cannabis sativa: Applications of Artificial Intelligence (AI) and Plant Tissue Culture for Micropropagation. *INTERNATIONAL JOURNAL OF RESEARCH AND INNOVATION IN APPLIED SCIENCE (IJRIAS) ISSN*. <https://doi.org/10.51584/IJRIAS.2023.8614>
- Mohd, A. A., & Bajgai, Y. (2021). AI and medicinal plant extraction: Challenges and opportunities. *Trends in Biotechnology*, 39(8), 674-685. doi:10.1016/j.tibtech.2021.03.002.
- Meenakshi, B., Sumathy, B., Barathwaj, SR Y., Haariharan, NC., Krishnakanth, L., Soumya, M. (2023). Artificial Intelligence Enhanced - Plant and Soil Monitoring Systems. *Agricultural and Food Sciences, Computer Science*. <https://doi.org/10.1109/ICCEBS58601.2023.10449202>
- Owais A, M., Nazrul, I., Burhan, Hussein., Umar, Y. (2022). Automated Real-Time Identification of Medicinal Plants Species in Natural Environment Using Deep Learning Models—A Case Study from Borneo Region. *MDPI*: <https://www.mdpi.com/journal/plants>.



- Yoo, S., Yang, HC., Lee, S., Shin, J., Min, S., Lee, E., Song, M., Lee, D. (2020). A Deep Learning-Based Approach for Identifying the Medicinal Uses of Plant-Derived Natural Compounds. Medicinal Candidates of Natural Compounds. <http://www.frontiersin.org>. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.584875>.
- Zhou, E., Shen, Q., Hou, Y. (2024). Integrating artificial intelligence into the modernization of traditional Chinese medicine industry: a review.

سیلیمارین: گزینه‌ای نوین در مدیریت بیماری‌های کبدی و سرطان

پرویز ملک زاده^۱، حانیه رحمانی^{۱*}، رضا شیخ اکبری مهر^۱

^{*} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم. (hani18rahmani@gmail.com)

چکیده

سیلیمارین عصاره‌ای از گیاه خار مریم، به عنوان یک درمان طبیعی با خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد فیبروتیک، به ویژه در درمان اختلالات کبدی و سرطان، مورد توجه قرار گرفته است. این ترکیب می‌تواند از تجمع چربی در کبد جلوگیری کرده و عملکرد کبدی بیماران مبتلا به الکلیسم را بهبود بخشد. همچنین، سیلیمارین به عنوان یک عامل حمایتی در درمان عفونت‌های HIV و عفونت‌های میکروبی با مهار باکتری‌ها و قارچ‌های مقاوم به آنتی بیوتیک بررسی شده است. با توجه به ایمنی و عدم وجود عوارض جانبی قابل توجه، سیلیمارین به عنوان گزینه‌ای امیدوارکننده در مدیریت بیماری‌های کبدی و سرطان و همچنین به عنوان محصولی طبیعی با کاربردهای اقتصادی در صنایع داروسازی و کشاورزی مطرح می‌شود. این مقاله مروری بر اثرات درمانی و اقتصادی سیلیمارین و پتانسیل‌های آن در بهبود سلامت انسان و توسعه کشاورزی پایدار تمرکز دارد.

واژگان کلیدی: بیماری کبدی، خارمریم، سیلیمارین، گیاه دارویی.



۱. مقدمه

گیاهان دارویی از دیرباز در طب سنتی و مدرن به عنوان منبعی ارزشمند برای درمان بیماری‌ها و بهبود سلامت انسان شناخته شده‌اند. این گیاهان شامل ترکیبات فعال و طبیعی هستند که می‌توانند اثرات مفیدی بر روی سیستم‌های مختلف بدن داشته باشند. استفاده از گیاهان دارویی به دلیل خواص ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و سم‌زدایی، در درمان اختلالات گوارشی، کبدی و همچنین تقویت سیستم ایمنی رواج دارد. با توجه به افزایش تمایل به درمان‌های طبیعی، پژوهش‌ها در زمینه اثرات درمانی این گیاهان همچنان ادامه دارد و به دنبال شناسایی و بهره‌برداری از خواص جدید آن‌ها است (Valková, (Ďúranová, Bilčíková, & Habán, 2020).

خار مریم (*Silybum marianum* L.)، گیاهی از خانواده کاسنیان (Asteraceae) است که به عنوان یک گیاه دارویی حائز اهمیت شناخته می‌شود. این گیاه بومی مناطق مدیترانه‌ای است و به طور گسترده‌ای در سایر نقاط جهان نیز کشت می‌شود. گونه اصلی آن دارای خواص درمانی متعددی است که به ویژه به خاطر ترکیب فعال آن، سیلی‌مارین، مشهور است (Elateeq, Sun, Nxumalo, & Gabr, 2020). از نظر مورفولوژیکی، خار مریم به صورت گیاهی چندساله با ساقه‌ای راست و برگ‌های بزرگ و دندانه‌دار مشخص می‌شود. گل‌های این گیاه به رنگ بنفش یا صورتی و در سبدهایی با شکل گرد قرار دارند. این ویژگی‌ها نه تنها به شناسایی آن کمک می‌کند، بلکه نقش مهمی در جذب حشرات گرده افشان و تولید بذر دارد (Elateeq et al., 2020; Khazaei, Seidavi, & Bouyeh, 2022). خار مریم به دلیل خواص دارویی‌اش، به ویژه در درمان مشکلات کبدی و صفراوی، در طب سنتی و داروسازی مدرن مورد توجه قرار گرفته است. این گیاه به عنوان یک منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات ضدالتهابی شناخته می‌شود و تحقیقات بسیاری در زمینه اثرات مثبت آن بر سلامت انجام شده است. در مجموع، خار مریم گیاهی با ارزش دارویی است که علاوه بر اهمیت سیستماتیک و مورفولوژیکی، نقش بسزایی در بهبود سلامت انسان دارد (Valková et al., 2020).

۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت یک مطالعه مروری انجام شده است که به بررسی مقالات معتبر به زبان انگلیسی و منابع الکترونیکی مختلف در زمینه گیاه خار مریم پرداخته است. برای این منظور، از پایگاه‌های داده‌ای نظیر PubMed، Scopus، Web of Science و موتور جستجوی Google Scholar استفاده شده است. در این تحقیق، با به کارگیری کلیدواژه‌های مرتبط شامل خار مریم، خواص دارویی، فواید غذایی و کاربرد در طب سنتی، اطلاعات جمع‌آوری و تحلیل شده است. هدف این مطالعه ارائه یک نمای کلی از یافته‌های موجود و بررسی کاربردهای مختلف گیاه خار مریم در زمینه‌های پزشکی و تغذیه‌ای است.

۳. نتایج

۳-۱. سیستماتیک و رده‌بندی گیاه خارمریم

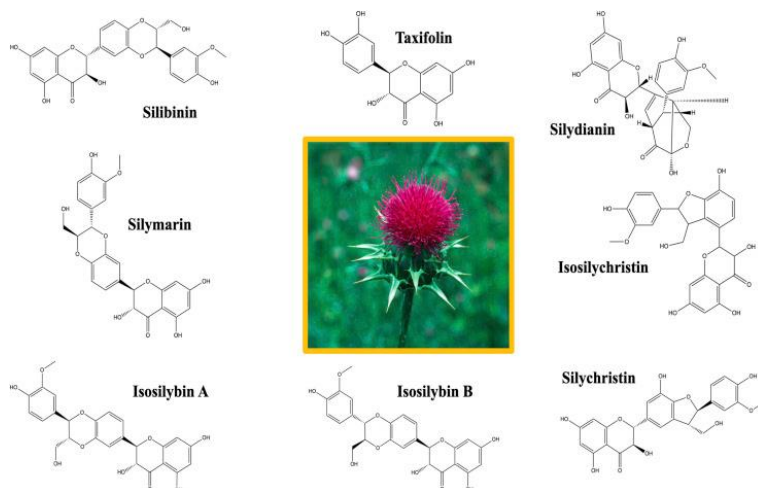
گیاه خار مریم (*Silybum marianum*) به عنوان یک گیاه چندساله با ویژگی‌های خاص، در سیستماتیک و رده‌بندی به شرح زیر قرار می‌گیرد: سلسله گیاهان (Plantae)، شاخه دانه‌داران (Angiosperms)، رده دو لپه‌ای‌ها (Eudicots)، راسته

کاسنی‌سانان (Asterales)، خانواده کاسنیان (Asteraceae)، جنس *Silybum* و گونه *Silybum marianum*. خار مریم گیاهی است بلند که می‌تواند به ارتفاع ۲ متر برسد و دارای رگبرگ‌های سفید صاف، برگ‌های سبز تیره و خارهای روی ساقه است. شکوفه‌های این گیاه به رنگ ارغوانی بوده و در نوک قله به صورت تک گل آذین قرار دارند. سرهای عظیم با شاخه‌ها و گلچه‌های گرد دوجنسه با رنگ‌های بنفش، قرمز یا سفید مشخص می‌شوند. خار مریم عموماً خود گرده افشان است و شکل دانه غبار آن وقتی به ناحیه استوایی نگاه می‌کند، به صورت ضخیم و در دید قطبی نیمه دقیق به نظر می‌رسد. در اکثر موارد، طول دانه‌ها بین شش تا هشت میلی‌متر است. این ویژگی‌ها علاوه بر اهمیت دارویی، به شناسایی و مطالعه این گیاه کمک می‌کند (Khazaei et al., 2022; X. Wang, Zhang, & Wu, 2020).

۳-۲. مواد شیمیایی و ترکیبات موجود در گیاه خارمریم

گیاه خار مریم حاوی ترکیبات و مواد شیمیایی متعددی است که تأثیرات دارویی و درمانی آن را توجیه می‌کنند. دانه‌های این گیاه شامل مخلوط‌هایی از جمله آپیزین، سیلیبین، سیلی‌بینین A و B، سیلیس کریستین، دئوکسی سیلین کریستین، دهیدروسیلیبین و دئوکسی سیلیدیانین هستند. عصاره دانه خشک خار مریم تا ۴ درصد سیلیمارین دارد، که ترکیبی از فلاونوئیدها مانند سیلیبینین A و B، سیلیدانین و سیلیس کریستین است. سایر فلاونولیگنان‌های موجود در کنسانتره این گیاه شامل سیلاندرین، سیلیبینوم، پالمیتیک، سیلی هرمن و اسیدهای میریستیک و مایاریک هستند (El-Ghany, 2022; Elateeq et al., 2020).

این ترکیبات به دلیل خواص محافظتی کبدی خود شناخته شده‌اند. علاوه بر این، دانه‌های خشک گیاه حاوی ۲۰ درصد روغن بدون خاصیت درمانی هستند. سیلیمارین به سرعت از دستگاه گوارش جذب می‌شود و پس از ۲ تا ۴ ساعت به بالاترین غلظت در خون خود می‌رسد، با نیمه عمر ترشح ۶ ساعت. حدود ۸۰ درصد این دارو از طریق صفرا ترشح می‌شود. سیلیبین به عنوان بهترین عامل پیشگیری از سرطان و ماده محافظ کبد موجود در سیلیمارین شناخته می‌شود و تمرکز آن در صفرا چندین برابر سایر اجزاء است. این ویژگی‌ها به خار مریم جایگاهی ویژه در درمان‌های طبیعی و مکمل‌های دارویی بخشیده است (Akhtar et al., 2023).





شکل ۱- ترکیبات ثانویه موجود در گیاه خارمریم

۳-۳. سیلیمارین ترکیبی با اثر دارویی ویژه در گیاه خارمریم

سیلیمارین ترکیبی با اثر دارویی ویژه است که در گیاه خار مریم وجود دارد. این ترکیب عمدتاً از فلاونوئیدها و فلاونولیکانها تشکیل شده و به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی شناخته می شود. سیلیمارین به طور خاص برای خواص محافظتی کبدی اش مشهور است و می تواند به بهبود عملکرد کبد، سم زدایی و محافظت در برابر آسیب های کبدی ناشی از سموم و الکل کمک کند (Gillessen & Schmidt, 2020; MacDonald-Ramos, Michán, Martínez-Ibarra, & Cerbón, 2021). این ترکیب همچنین به کاهش التهاب و بهبود فرآیندهای ترمیمی در کبد کمک می کند. مطالعات نشان داده اند که سیلیمارین می تواند در درمان اختلالات کبدی مانند هپاتیت و سیروز مؤثر باشد. علاوه بر این، سیلیمارین ممکن است خواص ضدسرطانی داشته باشد و به عنوان یک عامل پیشگیری کننده در برابر برخی انواع سرطان ها عمل کند. به همین دلیل، سیلیمارین به عنوان یک مکمل طبیعی در طب سنتی و مدرن به طور گسترده ای مورد توجه قرار گرفته است (Singh et al., 2023).

سیلیمارین؛ یک عصاره استاندارد شده از گیاه خار مریم، عمدتاً شامل سیلینین و ترکیباتی مانند دهیدروسیلینین (DHSB)، کورتستین، تاکسیفلین و سیلی کریستین است که به خاطر اثرات مفید خود شناخته شده اند. شواهد حاکی از آن است که این ترکیبات می توانند به کاهش رشد تومور، پیشگیری از سمیت کبدی و محافظت از چندین عضو در برابر آسیب های ایسکمیک کمک کنند. اثرات محافظتی کبدی سیلیمارین، به ویژه در پیشگیری از آسیب های ناشی از مسمومیت با آمونیتا و الکل، به خوبی ثابت شده است. همچنین شواهد قوی نشان می دهند که سیلیمارین دارای فعالیت های ضد میکروبی و ضد سرطانی است. در مدل های حیوانی، سیلیمارین می تواند از قلب، مغز، کبد و کلیه ها در برابر آسیب های ایسکمیا-بازپرفیوژن محافظت کند، احتمالاً از طریق پیش شرطی. در حالی که مکانیسم های پیش شرطی به طور کلی مطالعه شده اند، مکانیسم خاصی که سیلیمارین را قادر می سازد تا از قلب در برابر ایسکمیا محافظت کند، هنوز به طور گسترده ای بررسی نشده است. در نتیجه، این مرور بر ارزیابی مطالعات موجود در مورد حفاظت قلبی ناشی از سیلیمارین و ارتباط آن با مکانیسم های تثبیت شده پیش شرطی تمرکز دارد (Elateeq et al., 2020). در ادامه در مورد کاربردهای درمانی سیلیمارین استخراج شده از گیاه خار مریم اشاره می شود که شامل موارد ذیل می باشد:

۳-۳-۱. استفاده از سیلیمارین در درمان بیماری های کبدی

سیلیمارین عصاره ای از گیاه خار مریم است که به طور سنتی برای درمان اختلالات کبدی استفاده می شود. این ترکیب عمدتاً شامل سیلینین، سیلی دیانین و سایر فلاونوئیدهای پلی فنولیک می باشد و تأثیرات محافظتی قوی بر کبد دارد. سیلیمارین به واسطه فعالیت های آنتی اکسیدانی، ضد فیبروتیک، ضد آپوپتوز و ضد التهابی خود، به کاهش آسیب های کبدی کمک می کند. مطالعات نشان داده اند که سیلیمارین می تواند از تجمع چربی در کبد جلوگیری کند و اثرات مثبتی بر بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ داشته باشد. همچنین، این ترکیب دارای خاصیت محافظت از کبد در برابر آسیب های ناشی از مسمومیت با قارچ ها و الکل است. علاوه بر این، سیلیمارین به عنوان یک عامل حمایتی در درمان عفونت های HIV نیز استفاده شده است. با توجه به ایمنی و

عدم وجود عوارض جانبی قابل توجه، سیلیمارین به عنوان یک گزینه درمانی امیدوارکننده برای بیماری های کبدی، از جمله هپاتیت و سیروز، شناخته می شود. همانطور که در شکل شماره ۲ مشاهده میکنید شربت عصاره خار مریم به عنوان یک دارو درمانی برای بیماران در دسترس است. مطالعات اخیر همچنین نشان داده اند که این ترکیب می تواند اثرات مفیدی بر سایر اعضای بدن داشته باشد و از آسیب های ایسکمیک در کلیه، مغز و قلب محافظت کند (Aghemo et al., 2022; Gillessen & Schmidt, 2020).

سیلیمارین که از گیاه خار مریم استخراج می شود، به عنوان یک عامل محافظت کننده کبدی در برابر مسمومیت الککل شناخته شده است. این ترکیب دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی است که می تواند به کاهش آسیب های ناشی از مصرف الککل کمک کند. سیلیمارین با کاهش تولید رادیکال های آزاد و التهابات کبدی، از سلول های کبدی محافظت می کند و به ترمیم بافت کبدی آسیب دیده کمک می کند.

تحقیقات نشان داده اند که سیلیمارین می تواند از تجمع چربی در کبد جلوگیری کرده و به بهبود عملکرد کبدی در بیماران مبتلا به الکلیسم کمک کند. همچنین، این ترکیب می تواند با مهار اثرات سمی الککل بر روی سلول های کبدی، از بروز بیماری های کبدی مانند سیروز پیشگیری کند. به طور کلی، سیلیمارین به عنوان یک گزینه درمانی مؤثر در مدیریت مسمومیت های ناشی از الککل و حفاظت از سلامت کبد مطرح است (Kalopitas et al., 2021; Tighe, Akhtar, Iqbal, & Ahmed, 2020).



شکل ۲- عصاره خار مریم حاوی ماده مؤثره سیلیمارین

۳-۳-۲. استفاده از سیلیمارین در درمان سرطان

سیلیمارین که از دانه های گیاه خار مریم استخراج می شود، به خاطر ترکیبات اصلی خود، شامل سیلیبین A و B، ایزوسیلیبین ها و سایر فلاونوئیدها، به عنوان یک ترکیب مؤثر در درمان سرطان شناخته می شود. این ترکیبات به ویژه به خاطر خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی خود مشهور هستند (Fallah et al., 2021). در مطالعات بالینی، سیلیمارین عمدتاً در بیماران مبتلا به هپاتیت و سیروز مورد بررسی قرار گرفته است، اما تحقیقات کوچکی نیز درباره اثرات آن در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد، سرطان پروستات، سرطان سینه و کارسینوم کبدی انجام شده است. به خصوص، سیلیبین در مدل های



حیوانی مؤثر در درمان کولیت ناشی از هاپتن نشان داده شده است. این ترکیبات با مکانیزم‌های مختلفی از جمله کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو می‌توانند به مهار رشد تومورها کمک کنند، و به این ترتیب، سیلیمارین به عنوان یک گزینه درمانی امیدوارکننده برای سرطان‌ها در نظر گرفته می‌شود (Wadhwa et al., 2022; Y. Wang, Yuan, Wu, Wu, & Zhang, 2023).

۳-۳-۳. خاصیت ضد میکروبی سیلیمارین

سیلیمارین که از گیاه خار مریم استخراج می‌شود، دارای خواص ضد میکروبی قابل توجهی است که آن را به عنوان یک گزینه درمانی طبیعی در برابر عفونت‌های میکروبی معرفی می‌کند. تحقیقات نشان داده‌اند که سیلیمارین می‌تواند فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی داشته باشد و از رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌های مضر جلوگیری کند (Gillessen & Schmidt, 2020; Koltai & Fliegel, 2022). این ترکیب به خصوص در مهار باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و قارچ‌های بیماری‌زا مؤثر است. خواص آنتی‌اکسیدانی سیلیمارین نیز به تقویت سیستم ایمنی بدن و افزایش مقاومت در برابر عفونت‌ها کمک می‌کند. به علاوه، این ترکیب می‌تواند با کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو، به بهبود علائم عفونت‌های میکروبی کمک کند (Aghemo et al., 2022; Banaee et al., 2023).

3-4. کاربرد اقتصادی از گیاه خار مریم

پرورش گیاه خار مریم به عنوان یک گیاه دارویی و معطر، در سال‌های اخیر به طور فزاینده‌ای مورد توجه قرار گرفته است. این گیاه به دلیل خواص ضد میکروبی، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی خود، در صنایع داروسازی و تولید مکمل‌های غذایی کاربرد دارد. علاوه بر این، خار مریم به عنوان یک ادویه در آشپزی و همچنین در صنایع عطرسازی و آرایشی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بازار رو به رشد محصولات طبیعی و گیاهی، فرصت‌های اقتصادی مناسبی را برای کشاورزان و تولیدکنندگان فراهم کرده است. همچنین، پرورش خار مریم به عنوان یک گیاه مقاوم در برابر بیماری‌ها و آفات، نیاز به استفاده کمتر از سموم شیمیایی را کاهش می‌دهد و به این ترتیب به حفظ محیط زیست کمک می‌کند. این عوامل، خار مریم را به یک گزینه جذاب برای کشاورزی پایدار و سودآور تبدیل کرده است (Tighe et al., 2020; Y. Wang et al., 2023).

4. بحث و نتیجه گیری

در پایان می‌توان گفت که سیلیمارین، به عنوان عصاره‌ای از گیاه خار مریم، دارای خواص درمانی متعددی است که آن را به گزینه‌ای امیدوارکننده در مدیریت بیماری‌های کبدی، سرطان و عفونت‌های میکروبی تبدیل کرده است. اثرات محافظتی کبدی سیلیمارین، به ویژه در مقابل مسمومیت الکلی و آسیب‌های ناشی از التهاب، نشان‌دهنده پتانسیل بالای آن برای بهبود سلامت کبد می‌باشد. همچنین، خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی این ترکیب، به مهار رشد تومورها و تقویت سیستم ایمنی کمک می‌کند. علاوه بر جنبه‌های درمانی، پرورش گیاه خار مریم به عنوان یک منبع اقتصادی پایدار و مقاوم در برابر بیماری‌ها، فرصت‌های جدیدی را برای کشاورزان و تولیدکنندگان فراهم می‌آورد. بنابراین، سیلیمارین نه تنها به عنوان یک درمان طبیعی



مورد توجه قرار دارد، بلکه می تواند به عنوان یک گزینه اقتصادی پایدار در کشاورزی نیز مورد استفاده قرار گیرد. این ترکیب با توجه به ایمنی و عدم وجود عوارض جانبی قابل توجه، می تواند به عنوان یک مکمل مؤثر در درمان های سنتی و مدرن مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

- Aghemo, A., Alekseeva, O. P., Angelico, F., Bakulin, I. G., Bakulina, N. V., Bordin, D., . . . Kagarmanova, E. M. (2022). Role of silymarin as antioxidant in clinical management of chronic liver diseases: A narrative review. *Annals of Medicine*, 54(1): 1548-1560.
- Akhtar, M. N., Saeed, R., Saeed, F., Asghar, A., Ghani, S., Ateeq, H., . . . Waheed, M. (2023). Silymarin: a review on paving the way towards promising pharmacological agent. *International Journal of Food Properties*, 26(1): 2256-2272.
- Banaee, M., Impellitteri, F., Multisanti, C. R., Sureda, A., Arfuso, F., Piccione, G., & Faggio, C. (2023). Evaluating silymarin extract as a potent antioxidant supplement in diazinon-exposed rainbow trout: oxidative stress and biochemical parameter analysis. *Toxics*, 11(9): 737.
- El-Ghany, W. A. A. (2022). The potential uses of silymarin, a milk thistle (*Silybum marianum*) derivative, in poultry production system. *Online Journal of Animal and Feed Research*, 12(1): 46-52.
- Elateeq, A. A., Sun, Y., Nxumalo, W., & Gabr, A. M. (2020). Biotechnological production of silymarin in *Silybum marianum* L.: A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29, 101775.
- Fallah, M., Davoodvandi, A., Nikmanzar, S., Aghili, S., Mirazimi, S. M. A., Aschner, M., . . . Naghsh, N. (2021). Silymarin (milk thistle extract) as a therapeutic agent in gastrointestinal cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 142, 112024.
- Gillessen, A., & Schmidt, H. H.-J. (2020). Silymarin as supportive treatment in liver diseases: a narrative review. *Advances in therapy*, 37(4): 1279-1301.
- Kalopitas, G., Antza, C., Doundoulakis, I., Siargkas, A., Kouroumalis, E., Germanidis, G., . . . Chourdakis, M. (2021). Impact of Silymarin in individuals with nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition*, 83, 111092.
- Khazaei, R., Seidavi, A., & Bouyeh, M. (2022). A review on the mechanisms of the effect of silymarin in milk thistle (*Silybum marianum*) on some laboratory animals. *Veterinary Medicine and Science*, 8(1): 289-301.
- Koltai, T., & Fliegel, L. (2022). Role of silymarin in cancer treatment: facts, hypotheses, and questions. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 27, 2515690X211068826.
- MacDonald-Ramos, K., Michán, L., Martínez-Ibarra, A., & Cerbón, M. (2021). Silymarin is an ally against insulin resistance: A review. *Annals of hepatology*, 23, 100255.
- Singh, M., Kadhim, M. M., Turki Jalil, A., Oudah, S. K., Aminov, Z., Alsaikhan, F., . . . Farhood, B. (2023). A systematic review of the protective effects of silymarin/silibinin against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cancer Cell International*, 23(1): 88.
- Tighe, S. P., Akhtar, D., Iqbal, U., & Ahmed, A. (2020). Chronic liver disease and silymarin: A biochemical and clinical review. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 8(4): 454.
- Valková, V., Ďuranová, H., Bilčíková, J., & Habán, M. (2020). Milk thistle (*Silybum marianum*): a valuable medicinal plant with several therapeutic purposes. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9(4): 836.
- Wadhwa, K., Pahwa, R., Kumar, M., Kumar, S., Sharma, P. C., Singh, G., . . . Kaushik, D. (2022). Mechanistic insights into the pharmacological significance of silymarin. *Molecules*, 27(16): 5327.
- Wang, X., Zhang, Z., & Wu, S.-C. (2020). Health benefits of *Silybum marianum*: Phytochemistry, pharmacology, and applications. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(42): 11644-11664.
- Wang, Y., Yuan, A.-J., Wu, Y.-J., Wu, L.-M., & Zhang, L. (2023). Silymarin in cancer therapy: Mechanisms of action, protective roles in chemotherapy-induced toxicity, and nanoformulations. *Journal of Functional Foods*, 100, 105384.

گزنه گیاهی باستانی با خواص مدرن – بررسی جامع کاربردها و فواید درمانی

پرویز ملک زاده^۱، حمیده زنگنه^{۱*}، مرتضی یوسف زادی^۱

^{۱*}گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه قم، قم. (hamideh.zanganehh@gmail.com)

چکیده

گزنه (*Urtica dioica*)، گیاهی دارویی با قدمتی طولانی، به دلیل خواص ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی خود، توجه بسیاری از محققان و پزشکان را به خود جلب کرده است. ترکیبات مؤثر موجود در گزنه، مانند فلاونوئیدها و فنولها، با مهار آنزیمهای التهابی و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانها، به کاهش التهاب و آسیب سلولی کمک می کنند. این گیاه در درمان بیماریهایی مانند آرتрит، نقرس و دیابت نوع ۲ مؤثر بوده و همچنین در تقویت سیستم ایمنی و تسکین علائم آلرژی نقش دارد. کاربردهای گسترده گزنه در صنایع داروسازی، غذایی، نساجی و آرایشی، به عنوان منبعی برای تولید مکملهای طبیعی، غذاها و محصولات مراقبت از پوست، آن را به یک گیاه ارزشمند تبدیل کرده است. مطالعات بالینی متعدد نیز از اثربخشی گزنه در درمان برخی بیماریها پشتیبانی می کنند. با توجه به این خواص و کاربردهای متنوع، گزنه پتانسیل بالایی برای توسعه داروهای جدید و محصولات طبیعی دارد.

واژگان کلیدی: آرتروز، ترکیبات موثره، دیابت، ضد التهاب، گزنه.



۱. مقدمه

گزنه (*Urtica dioica* L.) یکی از گیاهان علفی چندساله و وحشی است که به طور گسترده‌ای در مناطق معتدل اروپا، آسیا، شمال آفریقا و آمریکای شمالی رشد می‌کند. این گیاه با ویژگی‌های خاص خود و خواص دارویی متعدد، مورد توجه محققان و متخصصان در زمینه‌های مختلف قرار گرفته است. گزنه به عنوان یک محصول خوراکی و دارویی شناخته می‌شود و در طب سنتی قرن‌هاست که به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. برگ‌های جوان گزنه سرشار از ویتامین‌ها، مواد معدنی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند که می‌توانند به بهبود سلامت انسان کمک کنند (Taheri et al. 2022). این گیاه به دلیل خواص ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی‌اش در درمان بیماری‌های مختلفی مانند آرتریت، نقرس و مشکلات ادراری استفاده می‌شود. همچنین، ریشه گزنه به‌ویژه در درمان هیپرپلازی خوش خیم پروستات و تسکین علائم آن مؤثر است. گزنه به دلیل ترکیبات زیست‌فعال خود، می‌تواند در کنترل قند خون، کاهش فشار خون و تقویت سیستم ایمنی نیز نقش بسزایی داشته باشد. علاوه بر کاربردهای دارویی، گزنه در صنایع غذایی، آرایشی و نساجی نیز به کار می‌رود. الیاف این گیاه به‌عنوان جایگزین پایدار برای الیاف دیگر در تولید پارچه‌های ارگانیک، مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین، استفاده از گزنه به‌عنوان آفت‌کش طبیعی در کشاورزی، پتانسیل‌های بیشتری را برای کاهش استفاده از مواد شیمیایی مضر فراهم می‌آورد (Abi Sleiman et al. 2024).

با توجه به تنوع کاربردها و خواص منحصر به فرد گزنه، تحقیقات بیشتری در مورد ترکیبات شیمیایی و تأثیرات آن بر سلامت انسان و محیط زیست ضروری است. در این راستا، شناخت عمیق‌تری از این گیاه می‌تواند به بهره‌برداری بهینه از آن در صنایع مختلف و بهبود سلامت عمومی کمک کند. در این پژوهش تلاش شده است کلیه خواص و کاربردهای دارویی گیاه گزنه بررسی و گزارش شود.

۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت یک مطالعه مروری انجام شده است که به بررسی مقالات معتبر به زبان انگلیسی و منابع الکترونیکی مختلف پرداخته است. برای این منظور، از پایگاه‌های داده‌ای نظیر PubMed، Scopus، Web of Science و موتور جستجوی Google Scholar استفاده شده و با به کارگیری کلیدواژه‌های گزنه، خواص دارویی، فواید غذایی و مشکلات پس از برداشت، اطلاعات جمع‌آوری گردیده است.

۳. نتایج

۳-۱. سیستماتیک و رده‌بندی گزنه

گزنه (*Urtica dioica* L.) یک گیاه علفی چندساله وحشی و گل‌دار است که به طور معمول در مناطق معتدل نیمکره شمالی یافت می‌شود. این گیاه به‌عنوان یک محصول چندمنظوره شناخته می‌شود و در اروپا، آسیا، شمال آفریقا و آمریکای شمالی رشد می‌کند. گزنه دارای ساقه‌ای چهارگوش و ارتفاعی بین ۱ تا ۲ متر است. برگ‌های آن به شکل بیضی یا تخم‌مرغی و دندانه‌دار هستند که از دو طرف پوشیده از تارهای ریز و نیش‌دار می‌باشند؛ این تارها حاوی ترکیباتی هستند که می‌توانند باعث



سوزش و خارش پوست شوند. گل های گزنه به صورت خوشه ای و کوچک، معمولاً در فصل تابستان ظاهر می شوند و به رنگ سبز مایل به زرد هستند (Abi Sleiman et al. 2024).

۳-۲. مواد شیمیایی و ترکیبات موجود در گیاه گزنه

گزنه به عنوان یک گیاه دارویی و خوراکی، دارای ترکیبات زیست فعال متنوعی است که خواص درمانی فراوانی را به آن می بخشد. این گیاه سرشار از فلاونوئیدها، تانن ها و اسیدهای چرب است و به ویژه غنی از پروتئین، ویتامین C و پیش ویتامین A می باشد. مواد معدنی موجود در گزنه شامل روی، آهن، کلسیم و منیزیم است که هر یک نقش مهمی در حفظ سلامت عمومی دارند. ریشه گزنه حاوی ترکیبات ارزشمندی چون لکترین ها، پلی ساکاریدها و استرول ها است. فلاونوئیدهای موجود در ریشه، نظیر کامفرول، کوئرستین و روتین، دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی هستند. همچنین، لیگنان های موجود در این گیاه، مانند ایزولاریسی رسینول، به تقویت سیستم ایمنی و کاهش خطر ابتلا به بیماری های مزمن کمک می کنند (Subba and Pradhan 2022).

برگ های گزنه نیز غنی از ترکیبات فنلی، ویتامین ها و مواد معدنی هستند که می توانند خواص دارویی متعددی را ارائه دهند. این ترکیبات به ویژه برای سلامتی زنان مفید هستند و می توانند به تسکین علائم پیش از قاعدگی و کاهش خونریزی قاعدگی کمک کنند. علاوه بر این، دانه های گزنه حاوی کاروتنوئیدهایی مانند لوتئین و β -کاروتن هستند که به سلامت چشم و پوست کمک می کنند. تریکوم های گزنه، حاوی هیستامین، استیل کولین و سروتونین هستند که می توانند تأثیرات مثبتی بر روی سیستم عصبی و کاهش التهاب داشته باشند. خواص دارویی گزنه شامل اثرات ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و کنترل فشار خون است که می توانند در درمان بیماری های قلبی و عروقی مؤثر واقع شوند (Bhusal et al. 2022). با توجه به غنای ترکیبات دارویی گزنه، این گیاه به عنوان یک منبع ارزشمند در طب سنتی و مدرن شناخته می شود و می تواند به عنوان مکمل غذایی و دارویی در درمان بیماری ها مورد استفاده قرار گیرد.

۳-۳. فواید و کاربرد گزنه در صنعت

۳-۳-۱. صنعت غذایی

گزنه به عنوان یک گیاه خوراکی مشهور است و در تهیه غذاهای مختلف از جمله سوپ ها، سالادها و جای ها استفاده می شود. برگ های جوان گزنه سرشار از ویتامین ها و مواد معدنی هستند و می توانند به عنوان یک افزودنی مغذی در رژیم های غذایی مختلف به کار روند. همچنین، عصاره گزنه به عنوان مکمل غذایی برای کاهش قند خون و بهبود سلامت عمومی شناخته شده است. در نپال، گزنه به عنوان یک سبزی مغذی محبوب است و در بسیاری از آشپزخانه ها مورد استفاده قرار می گیرد (Devkota et al. 2022).



۳-۳-۲. صنعت دارویی

گزنه به دلیل خواص دارویی خود در طب سنتی و مدرن استفاده می‌شود. ترکیبات فعال موجود در این گیاه شامل فلاونوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که در درمان بیماری‌های مختلف از جمله آرتрит، نقرس و مشکلات ادراری مؤثرند. عصاره ریشه گزنه برای تسکین علائم هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات و کاهش التهاب مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین، خواص ضد باکتریایی و ضد ویروسی این گیاه باعث جلب توجه محققان در زمینه تولید داروهای طبیعی شده است. این کاربرد صنعتی و دارویی گیاه گزنه به دلیل اهمیت موضوع در یک بخش جداگانه با جزئیات کاملتر در این مقاله آورده شده است (Dhakal et al. 2024).

۳-۳-۳. صنعت نساجی

گزنه به عنوان یک منبع الیاف طبیعی در صنعت نساجی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه به دلیل خاصیت مقاومتی و دوام بالا، می‌تواند به عنوان جایگزینی پایدار برای پنبه و دیگر الیاف مورد استفاده قرار گیرد. در گذشته، گزنه به طور گسترده‌ای برای تولید پارچه‌های ارزان و با کیفیت استفاده می‌شد. امروزه، با افزایش توجه به تولیدات پایدار، تحقیقات بر روی کشت و پردازش گزنه برای تولید منسوجات ارگانیک در حال افزایش است. کشف یک پارچه ۲۸۰۰ ساله در دانمارک که از گزنه بافته شده، نشان می‌دهد که در عصر برنز اروپا، از گیاهان وحشی به عنوان منبع تولید پارچه استفاده می‌شده است. این یافته ضرورت بازنگری در فهم ما از مدیریت منابع و تولید نساجی در اروپای پیش از تاریخ را نمایان می‌سازد (Semwal et al. 2023).

۳-۳-۴. صنعت کشاورزی

گزنه به عنوان یک آفت کش گیاهی در کشاورزی کاربرد دارد. عصاره گزنه دارای خواص حشره کشی و قارچ کشی است و می‌تواند به کنترل آفات و بیماری‌ها در محصولات کشاورزی کمک کند. همچنین، کاشت گزنه می‌تواند به افزایش جمعیت شکارچیان طبیعی آفات کمک کند و به عنوان یک کود طبیعی در خاک عمل کند. این گیاه به دلیل خواص نیتروژن‌زایی و بهبود کیفیت خاک، در کشاورزی ارگانیک مورد توجه قرار گرفته است (Samakar et al. 2022).

۳-۳-۵. صنعت آرایشی

ترکیبات موجود در گزنه، به ویژه آنتی‌اکسیدان‌ها و ویتامین‌های موجود در آن، باعث شده تا این گیاه در تولید محصولات آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار گیرد. عصاره گزنه می‌تواند به کاهش التهاب و بهبود سلامت پوست کمک کند و به عنوان یک ماده مؤثر در درمان آکنه و سایر مشکلات پوستی شناخته می‌شود. همچنین، به دلیل خواص ضد پیری، در تولید محصولات مراقبت از پوست و مو کاربرد دارد (Majedi et al. 2021).



۳-۳-۶. صنعت دامپزشکی

گزنه در تغذیه دامها و بهبود سلامت آنها کاربرد دارد. این گیاه به دلیل محتوای بالای پروتئین و ویتامینها می تواند به بهبود عملکرد تولیدی در طیور و دیگر دامها کمک کند. مطالعات نشان داده اند که گزنه می تواند به افزایش تولید تخم مرغ در مرغها و بهبود کیفیت شیر در گاوها منجر شود. همچنین، به عنوان یک منبع طبیعی برای تقویت سیستم ایمنی در حیوانات استفاده می شود (Grauso et al. 2020; Majedi et al. 2021).

۳-۳-۷. صنعت آبی پروری

گزنه به عنوان یک مکمل غذایی در آبی پروری برای بهبود رشد و سلامت ماهیها کاربرد دارد. افزودن گزنه به رژیم غذایی ماهیها می تواند به افزایش رشد، بهبود شاخصهای ایمنی و کاهش مرگ و میر ناشی از عفونت کمک کند. این گیاه می تواند به عنوان یک منبع طبیعی پروتئین در تغذیه آبزیان مؤثر باشد و به بهبود کیفیت آبهای پرورشی نیز کمک کند (Tabrizi et al. 2022).

۳-۴. کاربرد گزنه در پزشکی و درمان

۳-۴-۱. خواص ضد التهابی

گزنه به خاطر ترکیبات فعال خود، از جمله فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی، دارای خواص ضد التهابی قوی است. این خواص به خصوص در درمان بیماریهای مزمن التهابی مانند آرتریت روماتوئید و نقرس مؤثر است. عصاره گزنه می تواند آنزیمهای التهابی مانند COX-1 و COX-2 را مهار کند و تولید سایتوکاینهای التهابی را کاهش دهد (Jaiswal and Lee 2022).

۳-۴-۲. مدیریت علائم هیپرپلازی پروستات

ریشه گزنه به خصوص در درمان هیپرپلازی خوش خیم پروستات (BPH) کاربرد دارد. این گیاه می تواند با کاهش فعالیت آنزیمهای مرتبط با تولید هورمونهای جنسی و مهار رشد سلولهای پروستات، علائم BPH را تسکین دهد. مصرف عصاره ریشه گزنه می تواند به کاهش نیاز به مداخلات جراحی کمک کند (Dhakal et al. 2024).

۳-۴-۳. خواص آنتی اکسیدانی

گزنه به دلیل وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی، قادر است رادیکالهای آزاد را خنثی کند. این خاصیت می تواند در پیشگیری از بیماریهای مرتبط با پیری و برخی انواع سرطانها مؤثر باشد. آنتی اکسیدانها می توانند به محافظت از سلولها در برابر آسیبهای اکسیداتیو کمک کنند (Jaiswal and Lee 2022; Semwal et al. 2023).



۴-۳. کاهش قند خون

تحقیقات نشان داده‌اند که عصاره گزنه می‌تواند به کاهش قند خون کمک کند. این اثر ممکن است ناشی از افزایش حساسیت به انسولین و کاهش جذب گلوکز در روده باشد. بنابراین، گزنه می‌تواند به عنوان یک مکمل مفید در مدیریت دیابت نوع ۲ مورد استفاده قرار گیرد (Babashpour-Asl et al. 2014; Bhusal et al. 2022).

۴-۳-۵. خواص ضد باکتریایی و ضد ویروسی

عصاره گزنه دارای خواص ضد باکتریایی قوی است و می‌تواند به کنترل عفونت‌های باکتریایی کمک کند. همچنین، برخی از ترکیبات موجود در گزنه دارای فعالیت ضد ویروسی هستند و می‌توانند در کاهش عفونت‌های ویروسی، از جمله HIV و سایر ویروس‌ها مؤثر باشند (Tabrizi et al. 2022).

۴-۳-۶. تسکین علائم آلرژی

گزنه به عنوان یک درمان طبیعی برای آلرژی‌های فصلی شناخته می‌شود. ترکیبات موجود در این گیاه می‌توانند به مهار فعالیت هیستامین و کاهش علائم آلرژیک کمک کنند. مصرف چای گزنه یا عصاره آن می‌تواند به تسکین علائم رینیت آلرژیک کمک کند (Samakar et al. 2022; Subba and Pradhan 2022).

۴-۳-۷. تقویت سیستم ایمنی

گزنه به عنوان یک تقویت کننده طبیعی سیستم ایمنی شناخته می‌شود. ترکیبات موجود در این گیاه می‌توانند به بهبود عملکرد سیستم ایمنی و افزایش مقاومت بدن در برابر عفونت‌ها کمک کنند (Devkota et al. 2022).

۴-۳-۸. استفاده در مکمل‌های غذایی و دارویی

گزنه به عنوان یک ماده اولیه در تولید مکمل‌های غذایی و دارویی، مورد استفاده قرار می‌گیرد. این مکمل‌ها می‌توانند به عنوان یک منبع طبیعی از ویتامین‌ها، مواد معدنی و ترکیبات بیولوژیکی فعال، در سلامت عمومی و پیشگیری از بیماری‌ها مؤثر باشند (Subba and Pradhan 2022).

۴. بحث و نتیجه گیری

گزنه به عنوان یک گیاه چندمنظوره با خواص دارویی و غذایی منحصر به فرد، پتانسیل‌های فراوانی در بهبود سلامت انسان و کاربردهای صنعتی دارد. همانطور که در جدول ۱؛ نشان داده شده است، خواص ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی این گیاه، آن را به یک گزینه مناسب برای درمان بیماری‌های مزمن و بهبود وضعیت سلامت عمومی تبدیل کرده است. همچنین، توانایی گزنه در کنترل قند خون و تقویت سیستم ایمنی، اهمیت آن را در مدیریت دیابت و پیشگیری از عفونت‌ها افزایش می‌دهد. علاوه بر کاربردهای پزشکی، گزنه در صنایع غذایی، نساجی، آرایشی و کشاورزی نیز به کار می‌رود. این گیاه به عنوان یک منبع



پایدار از الیاف طبیعی و آفت کش های غیر شیمیایی، می تواند به کاهش آسیب های محیطی و بهبود کیفیت محصولات کمک کند.

جدول ۱. کاربرد صنعتی و دارویی گیاه گزنه

خواص گزنه	کاربردها در پزشکی و درمان	خواص گزنه	کاربرد در صنعت
ضد التهابی	درمان بیماری های مزمن: آرتрит و نقرس	صنعت غذایی	تهیه غذاها و مکمل های مغذی
آنتی اکسیدانی	پیشگیری از بیماری مرتبط با پیری و سرطان	صنعت دارویی	تولید داروهای طبیعی
کنترل قند خون	مدیریت دیابت نوع ۲	صنعت نساجی	تولید پارچه های ارگانیک
ضد باکتریایی و ضد ویروسی	کنترل عفونت های باکتریایی و ویروسی	صنعت کشاورزی	به عنوان آفت کش طبیعی
تقویت سیستم ایمنی	افزایش مقاومت بدن در برابر عفونت ها	صنعت آرایشی	مراقبت از پوست و مو
تسکین علائم آلرژی	درمان آلرژی های فصلی	صنعت دامپزشکی	بهبود سلامت دام ها
کاهش فشار خون	بهبود سلامت قلب و عروق	صنعت آبرزی پروری	مکمل غذایی برای ماهی ها
مکمل های غذایی و دارویی	تولید مکمل های طبیعی		

منابع

- Abi Sleiman M, Younes M, Hajj R, Salameh T, Abi Rached S, Abi Younes R, Daoud L, Doumiati JL, Frem F, Ishak R (2024). *Urtica dioica*: Anticancer Properties and Other Systemic Health Benefits from In Vitro to Clinical Trials. International Journal of Molecular Sciences 25 (13):7501.
- Babashpour-Asl M, Baleghi M, Sajadi P, Golalipour M (2014) Different aspects and results of modern studies of *Urtica dioica*: A review. J Babol Univ Med Sci 16 (S1):47-54.
- Bhusal KK, Magar SK, Thapa R, Lamsal A, Bhandari S, Maharjan R, Shrestha S, Shrestha J (2022). Nutritional and pharmacological importance of stinging nettle (*Urtica dioica* L.): A review. Heliyon 8 (6).
- Devkota HP, Paudel KR, Khanal S, Baral A, Panth N, Adhikari-Devkota A, Jha NK, Das N, Singh SK, Chellappan DK (2022). Stinging nettle (*Urtica dioica* L.): Nutritional composition, bioactive compounds, and food functional properties. Molecules 27 (16):5219.
- Dhakar N, Joshi R, Acharya S, Bhandari S, Subedi A, Nath M (2024). Exploring the Diverse Ethnopharmacological Applications of *Urtica dioica* L.: An Extensive Review. Journal of Agricultural Sciences and Engineering 6 (2):60-72.
- Grauso L, de Falco B, Lanzotti V, Motti R (2020). Stinging nettle, *Urtica dioica* L.: Botanical, phytochemical and pharmacological overview. Phytochemistry Reviews 19:1341-1377.
- Jaiswal V, Lee H-J (2022) Antioxidant activity of *Urtica dioica*: An important property contributing to multiple biological activities. Antioxidants 11 (12):2494.



- Majedi S, Abdulsattar Faraj T, Jalal Ahmed H, HS Hussain F (2021) A review of biochemical structures of *Urtica dioica* metabolites and their pharmaceutical effects. Chemical Review and Letters.
- Samakar B, Mehri S, Hosseinzadeh H (2022). A review of the effects of *Urtica dioica* (nettle) in metabolic syndrome. Iranian journal of basic medical sciences 25 (5):543.
- Semwal P, Rauf A, Olatunde A, Singh P, Zaky MY, Islam MM, Khalil AA, Aljohani AS, Al Abdulmonem W, Ribaudo G (2023). The medicinal chemistry of *Urtica dioica* L.: from preliminary evidence to clinical studies supporting its neuroprotective activity. Natural products and bioprospecting 13 (1):16.
- Subba S, Pradhan K (2022). A comprehensive review on common plants with remarkable medicinal properties: *Urtica dioica*. J Med Plants Stud 10:87-91.
- Tabrizi R, Sekhavati E, Nowrouzi-Sohrabi P, Rezaei S, Tabari P, Ghoran SH, Jamali N, Jalali M, Moosavi M, Kolahi A-A (2022). Effects of *Urtica dioica* on metabolic profiles in type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. Mini reviews in medicinal chemistry 22 (3):550-563.
- Taheri Y, Quispe C, Herrera-Bravo J, Sharifi-Rad J, Ezzat SM, Merghany RM, Shaheen S, Azmi L, Prakash Mishra A, Sener B (2022). *Urtica dioica*-derived phytochemicals for pharmacological and therapeutic applications. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine 2022 (1):4024331.

گیاهان حاوی افدرین یک داروی بی خطر در درمان چاقی و اضافه وزن

پرویز ملک زاده^۱، نرگس خادم^{۱*}، مرتضی یوسف زادی^۱

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه قم، قم. (N_Khadem80@yahoo.com)

چکیده

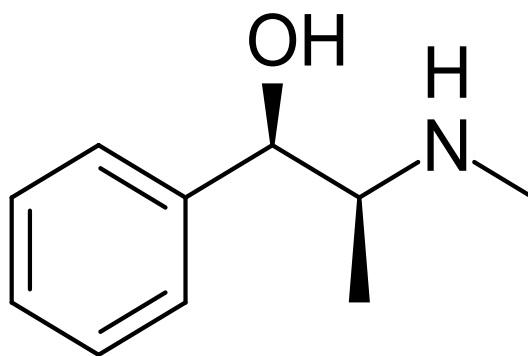
چاقی و اضافه وزن به عنوان یکی از چالش‌های بهداشتی جهانی شناخته می‌شوند که با خطرات متعددی برای سلامتی همراه هستند. در این مقاله، به بررسی اثرات گیاه حاوی افدرین، به ویژه *Ephedra sinica* به عنوان داروهای طبیعی و بی‌خطر در مدیریت وزن پرداخته می‌شود. افدرین، که از این گیاهان استخراج می‌شود، به دلیل اثرات متابولیکی و افزایش سوخت و ساز بدن، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که مصرف این گیاهان می‌تواند به کاهش وزن و بهبود ترکیب بدن کمک کند، بدون اینکه عوارض جانبی جدی ایجاد کند. این مقاله به بررسی مکانیزم‌های عمل افدرین، دزهای مؤثر، و مقایسه آن با داروهای رایج در درمان چاقی می‌پردازد. در نهایت، یافته‌ها نشان می‌دهند که گیاهان حاوی افدرین می‌توانند به عنوان یک گزینه درمانی طبیعی و ایمن در برنامه‌های کنترل وزن مورد استفاده قرار گیرند. این مقاله مروری بر اثرات درمانی گیاه *Ephedra sinica* روی کاهش وزن و چاقی تمرکز دارد.

واژگان کلیدی: اضافه وزن، افدرین، چاقی، سلامت.

۱. مقدمه

۱-۱. افدرین

افدرین یک آلکالوئید طبیعی است که عمدتاً در گیاهان از جنس افدرا (*Ephedra*) یافت می‌شود. این ترکیب دارای فرمول شیمیایی $C_{10}H_{15}NO$ و جرم ملکولی حدود ۱۶۵.۲۳ گرم بر مول است. ساختار مولکولی افدرین شامل یک حلقه بنزنی و یک زنجیره جانبی است که به گروه‌های عاملی آمینه و هیدروکسیل متصل شده‌اند (شکل ۱). این ساختار به افدرین خاصیت‌های دارویی و محرکی می‌دهد که در درمان برخی شرایط پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. گیاه افدرا به عنوان منبع طبیعی این ماده شناخته می‌شود و در طب سنتی و داروسازی به کار می‌رود (Dnyanadev, Shete, Dnyaneshwari, Mayuri, & Priya, 2022).



شکل ۱- ساختار شیمیایی افدرین

افدرین عمدتاً در گیاهان از جنس افدرا (*Ephedra*) یافت می‌شود، که شامل حدود ۵۰ گونه مختلف است. این گیاهان اغلب در مناطق خشک و کوهستانی رشد می‌کنند و در نقاط مختلفی از جهان، به ویژه در آسیا، آمریکای شمالی و اروپا، پراکنده‌اند. پراکندگی افدرین در گیاهان افدرا به این شکل است که غلظت آن معمولاً در بخش‌های مختلف گیاه، مانند ساقه و برگ‌ها، متفاوت است. در برخی از گونه‌ها، مانند *Ephedra sinica*، غلظت افدرین بالاتر است و بنابراین این گونه‌ها بیشتر در تولید داروها و مکمل‌های گیاهی استفاده می‌شوند (Dousari, Satarzadeh, Amirheidari, & Forootanfar, 2022). افدرین ابتدا از گیاه *Ephedra edulis* جدا شد. این دارو به دلیل قرار داشتن در فهرست داروهای اساسی سازمان بهداشت جهانی (WHO) اهمیت زیادی دارد. در ایالات متحده، افدرین گاهی توسط متخصصان زنان و زایمان در حین بیهوشی برای افزایش فشار خون در زمان زایمان استفاده می‌شود. همچنین، افدرین برای درمان چاقی، آسم و نارکولپسی به کار می‌رود. این دارو ممکن است ارزش درمانی بالایی در برخی بیماری‌های نادر عصبی نیز داشته باشد. با این حال، افدرین گاهی به‌طور نادرست برای بهبود عملکرد در ورزشکاران استفاده می‌شود و به همین دلیل در مکمل‌های غذایی برای ورزشکاران یافت می‌شود. برای



جلوگیری از این سوءاستفاده، افدرین در فهرست مواد ممنوعه سازمان جهانی مبارزه با دوپینگ قرار دارد (Chang et al., 2024; Kubo, Kubo, Toki, Yokota, & Morimoto, 2023).

عوارض جانبی اصلی افدرین شامل تند ضربانی قلب، هایپرتنشن و توهومات است. افدرین به عنوان یک محرک تصور می شود که می تواند توهومات را القا کند. همچنین، این دارو با تأثیر مستقیم یا غیرمستقیم بر گیرنده های آدرنژیک در مغز، هوشیاری را افزایش و خواب آلودگی را کاهش می دهد، که احتمالاً توضیح دهنده استفاده تفریحی (غیرمجاز) از افدرین است. افدرین به طور سنتی در برخی ترکیبات دارویی بدون نسخه برای درمان علائم سرماخوردگی وجود دارد و بیماران اغلب بدون اطلاع پزشک خود از آن استفاده می کنند. این موضوع گاهی موجب تعجب پزشکان می شود که چرا این بیماران با هایپرتنشن مراجعه می کنند. همچنان تلاش های بالینی برای یافتن کاربردهای جدید افدرین در حال انجام است و در حال حاضر ۹۲ آزمایش بالینی برای بررسی احتمال کاربردهای بیشتر این دارو وجود دارد. بنابراین، درک بهتر اثرات قلبی افدرین بر روی انسان اهمیت دارد (Yoo, Yoon, Yee, & Gwak, 2021).

۲. مواد و روش ها

این پژوهش به صورت یک مطالعه مروری انجام شده است که به بررسی مقالات معتبر به زبان انگلیسی و منابع الکترونیکی مختلف پرداخته است. برای این منظور، از پایگاه های داده ای نظیر PubMed، Scopus، Web of Science و موتور جستجوی Google Scholar استفاده شده است. با به کارگیری کلیدواژه های مرتبط شامل گیاهان حاوی افدرین، خواص دارویی افدرین، تأثیرات متابولیکی و مدیریت وزن، اطلاعات جمع آوری گردیده است. فرآیند جستجو به گونه ای طراحی شد که مقالات منتشر شده بین سال های ۲۰۲۰ تا ۲۰۲۴ را شامل شود.

۳. نتایج

۳-۱. نقش افدرین در گیاه

این ترکیب نقش مهمی در گیاه افدرا به عنوان یک ماده دفاعی دارد و به گیاه کمک می کند تا در برابر شرایط محیطی سخت، نظیر خشکی و آفت ها، مقاومت کند. همچنین، افدرین در گیاهان افدرا به عنوان یک عامل سمپاتومیمتیک شناخته شده است و می تواند تأثیراتی مشابه داروهای مشابه در انسان ها داشته باشد. در گیاهان، عوامل سمپاتومیمتیک معمولاً به ترکیباتی اشاره دارند که به عنوان مواد دفاعی عمل می کنند و می توانند تأثیرات مشابه با تحریک سیستم عصبی سمپاتیک در جانوران یا انسان ها داشته باشند. این ترکیبات می توانند به گیاهان کمک کنند تا در برابر استرس های محیطی، مانند خشکی یا آفت ها، مقاومت کنند (Lu et al., 2023).

افدرین در گیاهان نقش های مهمی ایفا می کند که به افزایش مقاومت و بقای آن ها کمک می کند. یکی از این نقش ها، دفاع در برابر آفات و بیماری ها است. افدرین با ایجاد طعم تلخ و نامطبوع، از گیاهان در برابر حشرات و جانوران گیاهخوار محافظت می کند و همچنین می تواند رشد برخی میکروارگانیسم های بیماری زا را کنترل کند. علاوه بر این، افدرین در فرآیندهای

رشد و نمو گیاه نیز تأثیر گذار است و می تواند بر تقسیم سلولی، طولانی شدن سلول ها و سنتز پروتئین تأثیر بگذارد. علاوه بر این، گیاهان در مواجهه با تنش های محیطی مانند خشکی، شوری و دمای بالا، مقدار افدرین ترشح شده را افزایش می دهند. این افزایش به گیاهان کمک می کند تا با شرایط دشوار سازگار شوند و به این ترتیب، بقا و رشد خود را در شرایط نامساعد حفظ کنند. به طور کلی، افدرین به عنوان یک مولکول کلیدی در تنظیم پاسخ های دفاعی و رشد گیاهان عمل می کند (Dnyanadev et al., 2022; Neumann, Azatsian, Höhm, Hofmann, & Gergs, 2023).

۳-۲. گیاهان حاوی افدرین

۳-۲-۱. *Ephedra sinica*

Ephedra sinica، که به نام های ماهونگ یا چای افدرین نیز شناخته می شود، گیاهی از خانواده *Ephedraceae* است که عمدتاً در چین و برخی مناطق آسیای شرقی رشد می کند (شکل ۲). این گیاه به خاطر محتوای بالای افدرین و دیگر آلکالوئیدهای فعال خود، به ویژه در ساقه های گیاه، به طور گسترده ای در طب سنتی چینی مورد استفاده قرار می گیرد. افدرین، پسوودو افدرین و سایر آلکالوئیدها عمدتاً در ساقه های این گیاه یافت می شوند و کاربردهای متعددی دارند، از جمله درمان مشکلات تنفسی مانند آسم و برونشیت، افزایش انرژی و کاهش خستگی، و همچنین استفاده در درمان چاقی و به عنوان یک محرک در ورزش. با این حال، افدرین می تواند عوارض جانبی نظیر افزایش فشار خون، تند ضربانی قلب و مشکلات خواب را به همراه داشته باشد. به همین دلیل، مصرف این گیاه باید با احتیاط انجام شود و تحت نظر متخصص باشد. همچنین، به دلیل اثرات قوی و عوارض جانبی احتمالی، *Ephedra sinica* در بسیاری از کشورها تحت مقررات سخت گیرانه ای قرار دارد و استفاده از مکمل های حاوی آن محدود شده است (Dousari et al., 2022).



شکل ۲- گیاه ماهونگ

۳-۳. کاربرد افدرین در پزشکی و درمان

چاقی به عنوان یک وضعیت غیرطبیعی تعریف می شود که در آن چربی اضافی در بدن به دلیل عدم تعادل در فرآیندهای متابولیکی جمع می شود. این مشکل به عنوان یکی از چالش های اصلی در حوزه سلامت عمومی و اقتصاد شناخته می شود. در سال های اخیر، شیوع چاقی به طور مداوم رو به افزایش بوده و طبق آمار، بیش از ۴۰ درصد از جمعیت ایالات متحده با این مشکل



مواجه‌اند. چاقی می‌تواند به بروز انواع بیماری‌ها مانند دیابت نوع ۲، بیماری‌های قلبی-عروقی، مشکلات اسکلتی-عضلانی، سرطان و اختلالات روانی منجر شود (Duan et al., 2021; Kubo et al., 2023).

برای کاهش وزن، تغییر در سبک زندگی شامل کاهش کالری مصرفی و افزایش فعالیت بدنی اولین و مهم‌ترین گزینه است. به علاوه، درمان‌های دارویی نیز می‌توانند در مدیریت چاقی مؤثر باشند، به ویژه زمانی که شاخص توده بدن (BMI) بیشتر از ۳۰ کیلوگرم بر متر مربع باشد یا در شرایطی که BMI بیش از ۲۷ کیلوگرم بر متر مربع در کنار بیماری‌های دیگر وجود دارد. چندین دارو برای درمان چاقی تأیید شده‌اند که شواهد کافی از ایمنی و اثربخشی آن‌ها موجود است، از جمله اورلیستات، فترمین-توپیرامات، نالتروکسان-بوپروپیون و لیراگلوتید. همچنین، انواعی از داروهای گیاهی و عصاره‌ها مانند کیتوزان، گارسینیا، چای سبز، صمغ گوار، ماهونگ، سوسپانسیون و پیروات برای کاهش وزن در دسترس هستند؛ اما شواهد بالینی برای این محصولات به وضوح مشخص نیست (Dousari et al., 2022; Stohs, Shara, & Ray, 2020).

۳-۴. کاهش وزن

۱-۴-۳. نقش اقدرین در کاهش وزن

برخی از مطالعات نشان داده‌اند که اقدرین می‌تواند به کاهش وزن در دوره‌های کوتاه مدت (معمولاً چند هفته) کمک کند، اما در مورد پایداری این کاهش وزن در بلندمدت، شواهد کافی وجود ندارد. همچنین، نگرانی‌های مربوط به عوارض جانبی مانند افزایش فشار خون و تپش قلب باعث شده است که استفاده از اقدرین به عنوان یک گزینه درمانی برای کاهش وزن در نظر گرفته نشود (Yoo et al., 2021).

گیاه اقدرا برای بیش از ۲ هزار سال در شرق آسیا به عنوان درمانی برای بیماری‌های مختلف، از جمله برونشیت، آسم، سرماخوردگی و بیماری‌های مفصلی استفاده شده است. این گیاه دارای اثرات ضد التهابی و همچنین ترکیبات مفید مانند تانین است که می‌تواند از نارسایی کلیوی جلوگیری کند. امروزه، اقدرا به طور گسترده در مکمل‌های لاغری به کار می‌رود. مصرف روزانه ۵۰۰ کالری کمتر همراه با اقدرین موجود در این گیاه می‌تواند به کاهش نیم کیلوگرم وزن در هفته کمک کند و به سوزاندن چربی‌های ناحیه شکم یاری رساند. اقدرین همچنین با تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی، اشتها را کاهش می‌دهد و به کنترل زمان‌های صرف غذا کمک می‌کند. این ترکیب به افزایش متابولیسم، فعالیت قلب و مغز منجر شده و به عنوان یک چربی‌سوز طبیعی عمل می‌کند. ترکیب اقدرا با مواد دیگری مانند کافئین و جینسنگ می‌تواند اثرات لاغری را تقویت کند. مطالعات نشان داده‌اند که این ترکیبات با هم می‌توانند کاهش اشتها و افزایش متابولیسم را به همراه داشته باشند و اثرات جانبی را کاهش دهند (Wen & Liao, 2021; Yoo et al., 2021).

ماهونگ، که به نام علمی *Ephedra sinica* شناخته می‌شود، یکی از گیاهان دارویی شناخته‌شده برای درمان چاقی است. اقدرین موجود در این گیاه با تقویت فعالیت‌های سمپاتیک، باعث افزایش قدرت و سرعت ضربان قلب می‌شود. این ترکیب همچنین متابولیسم را بالا می‌برد و اشتها را کاهش می‌دهد، که در نهایت به کاهش چربی بدن کمک می‌کند. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که مصرف اقدرین، چه به صورت تکی و چه ترکیبی، می‌تواند به کاهش وزن و افزایش انرژی منجر شود. نتایج

پژوهش‌ها نشان می‌دهند که افرادی که کپسول‌های حاوی افدرین مصرف کرده‌اند، کاهش وزن بیشتری نسبت به گروهی که دارونما دریافت کرده‌اند، داشته‌اند. همچنین، گروه‌های تحت درمان با افدرین وزن بیشتری نسبت به گروه‌های کنترل از دست داده‌اند. با این وجود، دزهای بالای افدرین ممکن است عوارض جانبی نظیر افزایش فشار خون، افزایش ضربان قلب، تپش قلب، بی‌خوابی، سردرد و حالت تهوع ایجاد کند (Neumann et al., 2023; Snell, 2023). در خصوص فشار خون، هیچ تفاوت معناداری در فشار خون سیستولیک و دیاستولیک بین گروه‌های درمان مشاهده نشد. همچنین، نتایج نشان می‌دهد که محصولات حاوی افدرین تأثیر مثبتی بر سطوح لیپیدها دارند، به طوری که میانگین کلسترول HDL در گروه افدرین بالاتر و میانگین کلسترول LDL و تری‌گلیسیرید در این گروه پایین‌تر از گروه دارونما بود (Neumann et al., 2023).

بررسی منابع نشان داد که تأثیرات محصولات حاوی افدرین بر کاهش وزن، فشار خون، ضربان قلب و پروفایل‌های لیپیدی در بیماران چاق یا دارای اضافه‌وزن را بررسی کرد. نتایج نشان داد که این محصولات با دز روزانه ۶۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرم به مدت ۴ تا ۲۴ هفته به طور متوسط ۲ کیلوگرم وزن را کاهش داده، ضربان قلب را ۵/۸ ضربه در دقیقه افزایش و پروفایل‌های لیپیدی را بهبود می‌بخشند. با وجودی که اثرات منفی بر فشار خون مشاهده نشد، محصولات حاوی افدرین توانایی کاهش چربی‌های مضر و افزایش چربی خوب (HDL-C) را دارند. این مطالعه همچنین به محدودیت‌هایی مانند ناهمگونی دزها و هم‌افزایی با کافئین اشاره کرد (Dnyanadev et al., 2022; Neumann et al., 2023).

۲-۳. نحوه استفاده از افدرین

اگر تصمیم به استفاده از گیاه افدرین دارید، توصیه می‌شود که از یکی از منابع کافئین‌دار مانند قهوه همزمان با آن بهره ببرید. همچنین، مصرف آب کافی بسیار مهم است تا مواد مضر که ممکن است در گیاه وجود داشته باشند، سریع‌تر از بدن دفع شوند. جالب است بدانید که ۸۸ درصد از این مواد پس از ۴ ساعت و ۹۷ درصد پس از ۴۸ ساعت از طریق ادرار از بدن خارج می‌شوند. علاوه بر این، بهتر است از افدرین در ساعات شب استفاده نکنید، زیرا این گیاه می‌تواند خواب را دشوار کند و ممکن است باعث مشکلات خواب یا بی‌خوابی شود (Neumann et al., 2023; Snell, 2023).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

افدرین، به عنوان یک آکالوئید طبیعی موجود در گیاه افدرین، به دلیل اثرات سمپاتومیمتیک خود، توجه بسیاری را به عنوان یک گزینه برای کاهش وزن جلب کرده است. این ترکیب با افزایش متابولیسم و کاهش اشتها، می‌تواند به کاهش چربی بدن کمک کند. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که مصرف افدرین، به ویژه در ترکیب با کافئین، می‌تواند منجر به کاهش وزن معنادار در افراد چاق شود. با این حال، استفاده از افدرین باید با احتیاط انجام شود، زیرا دزهای بالا ممکن است عوارض جانبی جدی نظیر افزایش فشار خون، تپش قلب و بی‌خوابی را به همراه داشته باشد. همچنین، با وجود اثرات مثبت افدرین بر پروفایل‌های لیپیدی و عدم تأثیر منفی بر فشار خون، نیاز به نظارت پزشکی در حین مصرف این داروها احساس می‌شود.



منابع

- Chang, A., Zhao, X., Zhang, L., Zhao, S., Pan, Z., Song, C., & Fu, Y. (2024). TCM practitioners' attitudes and perceptions regarding the use of *Ephedra sinica* Stapf: An observational study. *Journal of Traditional Chinese Medical Sciences*, 11(4):435-442.
- Dnyanadev, T. S., Shete, N., Dnyaneshwari, N., Mayuri, P., & Priya, P. (2022). A Review On: Ephedrine. *Pharm. Reson.*, 5: 6-8.
- Dousari, A. S., Satarzadeh, N., Amirheidari, B., & Forootanfar, H. (2022). Medicinal and therapeutic properties of ephedra. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 32(6): 883-899.
- Duan, K.-F., Zang, X.-Y., Shang, M.-Y., Zhang, W., Xie, B.-B., Wang, L., . . . Cai, S.-Q. (2021). Non-ephedrine constituents from the herbaceous stems of *Ephedra sinica*. *Fitoterapia*, 153, 104998.
- Kubo, Y., Kubo, T., Toki, T., Yokota, I., & Morimoto, Y. (2023). Effects of ephedrine and phenylephrine on cerebral oxygenation: observational prospective study using near-infrared time-resolved spectroscopy. *Journal of Clinical Monitoring and Computing*, 37(5): 1171-1177.
- Lu, M., Zhang, Y., Wang, S., Wang, X., Zhang, S., & De, J. (2023). Ephedrine and pseudoephedrine in *Ephedra saxatilis* on the vertical altitude gradient changed in southern Tibet Plateau, China. *Plos one*, 18(8), e0290696.
- Neumann, J., Azatsian, K., Höhm, C., Hofmann, B., & Gergs, U. (2023). Cardiac effects of ephedrine, norephedrine, mescaline, and 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in mouse and human atrial preparations. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 396(2): 275-287.
- Snell, N. (2023). *Ephedra sinica*: The source of ephedrine, pseudoephedrine and amphetamines. In *Modern Medicines from Plants* (pp. 137-143): CRC Press.
- Stohs, S. J., Shara, M., & Ray, S. D. (2020). p-Synephrine, ephedrine, p-octopamine and m-synephrine: Comparative mechanistic, physiological and pharmacological properties. *Phytotherapy Research*, 34(8):1838-1846.
- Wen, S., & Liao, T. (2021). Ephedrine causes liver toxicity in SD rats via oxidative stress and inflammatory responses. *Human & Experimental Toxicology*, 40(1): 16-24.
- Yoo, H.-J., Yoon, H.-Y., Yee, J., & Gwak, H.-S. (2021). Effects of ephedrine-containing products on weight loss and lipid profiles: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Pharmaceuticals*, 14(11): 1198.



کومارین در دانه تونکا: پل میان طب سنتی و علم مدرن

پرویز ملک زاده^۱، ساره بیات^{۱*}، رضا شیخ اکبری مهر^۱

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه قم، قم. (Sarehbayat2000 @gmail.com)

چکیده

این مقاله به بررسی کومارین، یک ترکیب آلی معطر با خواص دارویی متنوع، در دانه تونکا، استخراج شده از درخت *Dipteryx odorata* Willd می‌پردازد و همچنین به ساختار شیمیایی دانه تونکا نیز اشاره‌ای خواهد داشت. کومارین به طور طبیعی در گیاهان مختلفی از جمله دانه تونکا، دارچین، برگ بو، بابونه و شاه‌پسند یافت می‌شود و از دیرباز به دلیل عطر و طعم منحصر به فردش در طب سنتی برای درمان بیماری‌ها کاربرد داشته است. تحقیقات جدید، علاوه بر کاربرد سنتی، پتانسیل‌های پزشکی کومارین را در درمان‌های مدرن نشان داده‌اند. این ترکیب، علاوه بر استفاده در صنعت عطرسازی و طعم‌دهندگی، دارای خواص بیولوژیکی مفیدی مانند فعالیت‌های ضدالتهابی، ضدویروسی، ضدباکتریایی، ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی است. با این حال، مصرف بیش از حد کومارین می‌تواند عوارضی نظیر آسیب کبدی به همراه داشته باشد. با این حال، به دلیل پتانسیل سمیت کومارین در دوزهای بالا، این مقاله بر ضرورت انجام مطالعات بالینی بیشتر برای بررسی دقیق‌تر خواص درمانی دانه تونکا در درمان‌های پزشکی تأکید می‌کند.

واژگان کلیدی: تونکا، درمان، عطر، کومارین



۱. مقدمه

دانه تونکا، که از درخت تونکا با نام علمی *Dipteryx odorata* Willd به دست می آید، به دلیل داشتن مقدار زیاد کومارین، در صنایع داروسازی گیاهی و عطرسازی بسیار شناخته شده است. این دانه قهوه‌ای رنگ و معطر به خاطر رایحه‌ی خاص و جذابش، در صنعت عطرسازی به عنوان یک ماده کلیدی مورد استفاده قرار می گیرد (Fetzer et al., 2022; Jang et al., 2003). به ویژه در ترکیب با دیگر عطرها، تونکا توانایی ایجاد عمق و پیچیدگی بیشتری را به رایحه‌ها می بخشد و به همین دلیل در فرمولاسیون‌های عطرهای لوکس و خاص به کار می رود. با اینکه تحقیقات علمی در مورد خواص دارویی دانه تونکا هنوز به اندازه کافی گسترده نیست، شواهد تاریخی و برخی مطالعات اولیه نشان‌دهنده‌ی فواید بالقوه‌ی این دانه برای سلامتی هستند (Jang et al., 2003; Moraes, Silva, and Silva, 2022). دانه تونکا در بسیاری از فرهنگ‌ها، به ویژه در آمریکای جنوبی و کارائیب، به عنوان یک داروی طبیعی برای تسکین سرفه‌ها و مشکلات تنفسی به کار رفته است. از آنجا که کومارین ترکیب فعال موجود در این دانه است، این ماده به دلیل خواص ضد التهابی و ضد اسپاسم خود، به عنوان یک گزینه‌ی درمانی جذاب در طب سنتی مطرح می شود (Fetzer et al., 2022).

کومارین همچنین به عنوان یک عامل آرام‌بخش و تسکین‌دهنده نیز شناخته می شود و می تواند به بهبود کیفیت خواب و کاهش اضطراب کمک کند. این ماده در طبیعی در بسیاری از گیاهان همچون دانه تونکا، دارچین، برگ بو، بابونه و شاه پسند یافت می شود. اما دانه تونکا منبع اصلی کومارین به شمار می رود و به دلیل عطر و طعم وانیلی ماندش، در عطرسازی و صنایع غذایی کاربرد فراوان دارد (Kasumbwe, 2016; Mishra, Pandey, and Manvati, 2020). این ترکیب دارای خواص آنتی اکسیدانی قوی است که می تواند به حفاظت از سلول‌های بدن در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد کمک کند (Heghes et al., 2022; Moraes et al., 2022; Sharifi-Rad et al., 2021; Venugopala, Rashmi, and Odhav, 2013). با توجه به این ویژگی‌ها، دانه تونکا نه تنها به عنوان یک ماده معطر، بلکه به عنوان یک مکمل طبیعی با پتانسیل‌های درمانی قابل توجه نیز در نظر گرفته می شود. این مقاله به بررسی خواص و کاربردهای کومارین در دانه تونکا و تأثیرات آن بر سلامت می پردازد و سعی دارد به بررسی علمی و تاریخی این دانه ارزشمند بپردازد.

۲. مواد و روش ها

این پژوهش به صورت یک مطالعه مروری انجام شده است که به بررسی مقالات معتبر به زبان انگلیسی و منابع الکترونیکی مختلف پرداخته است. برای این منظور، از پایگاه‌های داده‌ای نظیر PubMed، Scopus، Web of Science و موتور جستجوی Google Scholar استفاده شده و با به کارگیری کلیدواژه‌های دانه تونکا، خواص دارویی و کاربرد اقتصادی، اطلاعات جمع آوری گردیده است.

۳. نتایج

۳-۱. سیستماتیک و رده بندی درخت دیپتیریکس اودوراتا

درخت دیپتیریکس اودوراتا، مولد دانه تونکا، عضوی از خانواده بزرگ بقولات (Fabaceae) است (شکل ۱). این خانواده شامل طیف وسیعی از گیاهان از جمله درختان، درختچه ها و گیاهان علفی می شود. دیپتیریکس اودوراتا به تیره پروانه واران تعلق دارد که به دلیل گل های خاص خود شناخته می شوند. از نظر رده بندی علمی، این درخت در سلسله گیاهان، بخش گیاهان گل دار، رده دولپه ای ها، راسته باقلاسانان، خانواده بقولات، زیرخانواده پروانه واران، جنس دیپتیریکس و گونه دیپتیریکس اودوراتا جای می گیرد (Sarker and Nahar, 2017).



Dipteryx Odorata

شکل ۱- درخت درخت دیپتیریکس اودوراتا و میوه و دانه تونکا

۳-۲. ترکیبات شیمیایی دانه تونکا: راز عطر شیرین و پیچیده دانه تونکا

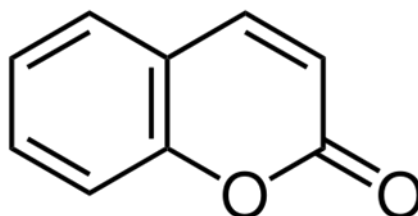
گیاه تونکا، این گنجینه کوچک طبیعت، دارای ترکیبات شیمیایی متنوعی است که به آن عطر و طعم بی نظیری بخشیده است (شکل ۲). مهم ترین و شناخته شده ترین این ترکیبات، کومارین است. این ماده، همانند روحی است که به دانه تونکا جان می بخشد. کومارین به دانه تونکا بوی شیرین و وانیلی آن را داده و به عنوان تثبیت کننده در صنعت عطر سازی مورد استفاده قرار می گیرد. علاوه بر کومارین، ترکیبات فرار دیگری مانند بنزالدئید، لینالول و بنزیل بنزوات نیز در دانه تونکا یافت می شود که به پیچیدگی بوی آن می افزایند. این ترکیبات در مجموع عطری گرم، شیرین و کمی تلخ را ایجاد می کنند که در صنعت عطر سازی بسیار محبوب است. ترکیبات شیمیایی دانه تونکا نه تنها در صنعت عطر سازی، بلکه در صنایع غذایی و داروسازی نیز کاربرد دارند. با این حال، مصرف بیش از حد کومارین می تواند مضر باشد (Sousa et al., 2022).



شکل ۲- دانه تونکا

۳-۳. ساختار کومارین

کومارین، این ترکیب آلی کوچک اما تأثیرگذار، دارای ساختاری منحصر به فرد است که به آن ویژگی‌های خاص و کاربردهای متنوعی بخشیده است. کومارین به گروه بزرگی از ترکیبات به نام ترکیبات فنلی تعلق دارند. ترکیبات فنلی گروهی از ترکیبات آلی هستند که دارای یک یا چند حلقه بنزنی با حداقل یک گروه هیدروکسیل ($-OH$) متصل به آن هستند (Figuerola-Valverde et al., 2024; Jameel, Umar, Kumar, and Hoda, 2016; Sarker and Nahar, 2017). ساختار مولکولی کومارین شامل دو حلقه اصلی است: یک حلقه بنزنی شش ضلعی و یک حلقه هتروسیکل آلفا-پیرئون که حاوی یک اتم اکسیژن است. اتصال این دو حلقه به یکدیگر، ساختاری مسطح و صلب ایجاد می‌کند که به کومارین اجازه می‌دهد تا به راحتی با سایر مولکول‌ها برهم کنش کرده و خواص بیولوژیکی گوناگونی از خود نشان دهد (شکل ۳). این ساختار منحصر به فرد است که به کومارین بوی شیرین و مشخص آن را داده و همچنین به آن خواصی مانند ضدالتهابی، ضدباکتریایی و ضدقارچی بخشیده است (Moraes et al., 2022; Yadav and Satapathy, 2021).



شکل ۳- ساختار شیمیایی کومارین

در واقع، می‌توان گفت که ساختار مولکولی کومارین، کلید درک خواص متنوع و کاربردهای گسترده این ترکیب است.



۳-۴. کاربردهای متنوع دانه تونکا

دانه تونکا به دلیل ترکیبات شیمیایی منحصر به فرد و بوی گرم و شیرین خود، کاربردهای گسترده‌ای در صنایع مختلف دارد. یکی از مهم‌ترین کاربردهای این دانه در صنعت عطرسازی است. رایحه دلپذیر و ماندگار تونکا، آن را به یکی از اجزای اصلی در ساخت عطرهای شرقی، چوبی و گلی تبدیل کرده است (Carneiro, Matos, Uriarte, and Santana, 2021; Detsi, Kontogiorgis, and Hadjipavlou-Litina, 2017; Elmusa and Elmusa). علاوه بر عطرسازی، دانه تونکا در صنایع غذایی نیز کاربرد دارد و عصاره آن برای طعم‌دار کردن شکلات، شیرینی، نوشیدنی‌ها و برخی غذاها مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین، در طب سنتی از دانه تونکا برای درمان برخی بیماری‌ها استفاده می‌شود و خواص دارویی آن مورد توجه قرار گرفته است (Kasumbwe, 2016; Yadav and Satapathy, 2021).

۳-۵. کاربردهای سنتی دانه تونکا

دانه تونکا در طول تاریخ به عنوان یک درمانگر طبیعی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. از این دانه برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله زخم‌ها، تقویت قلب و مشکلات گوارشی استفاده می‌شده است (Figueroa-Valverde et al., 2024; Küpeli Akkol, Genç, Karpuz, Sobarzo-Sánchez, and Capasso, 2020; Musa, Cooperwood, and Khan, 2008). اعتقاد بر این بوده که ترکیبات موجود در دانه تونکا خواص ضد التهابی، ضد میکروبی، ضد افسردگی، تقویت سیستم ایمنی و تسکین درد دارد. همچنین، به دلیل خواص نرم‌کنندگی و ضد التهابی، دانه تونکا برای درمان سرفه نیز مورد استفاده قرار می‌گرفته است (Fetzer et al., 2022; Kasumbwe, 2016). با این حال، وجود ماده‌ای به نام کومارین در دانه تونکا، مصرف بی‌رویه‌ی آن را با خطر مواجه کرده است. کومارین در مقادیر زیاد می‌تواند به کبد آسیب برساند. به همین دلیل، مصرف مستقیم و بی‌رویه‌ی دانه تونکا توصیه نمی‌شود و در برخی کشورها مانند آمریکا، مصرف خوراکی آن ممنوع شده است (Baltazar et al., 2020; Heghes et al., 2022; Stefanachi, Leonetti, Pisani, Catto, and Carotti, 2018). سال‌های اخیر، مطالعات نشان داده‌اند که ترکیبات موجود در دانه تونکا پتانسیل بالایی برای تولید داروهای جدید دارند. با این حال، به دلیل وجود کومارین، محققان به دنبال روش‌هایی برای جداسازی و خالص‌سازی این ترکیبات هستند تا بتوان از خواص درمانی آن‌ها بدون ایجاد عوارض جانبی استفاده کرد (Moraes et al., 2022; Sousa et al., 2022).

۴. بحث و نتیجه گیری

دانه تونکا، این گنجینه‌ی طبیعی، سالیان سال است که در طب سنتی به عنوان یک درمانگر طبیعی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. این دانه با طیف گسترده‌ای از خواص دارویی بالقوه از جمله ضد التهاب، ضد میکروبی و تسکین درد شناخته می‌شود. با این حال، وجود ماده‌ای به نام کومارین در دانه تونکا، استفاده از آن را با احتیاط همراه کرده است. کومارین، یک ترکیب آلی است که در دوزهای بالا می‌تواند برای کبد مضر باشد.

با توجه به پتانسیل بالای درمانی دانه تونکا، نیاز به انجام مطالعات بالینی گسترده‌تر برای بررسی دقیق خواص درمانی آن و تعیین دوزهای ایمن ضروری است. تاکنون مطالعات کافی در این زمینه انجام نشده است. بنابراین، استفاده از محصولات حاوی



دانه تونکا باید با احتیاط و تحت نظر پزشک انجام شود. بهتر است از محصولات تجاری که توسط شرکت‌های معتبر تولید می‌شوند و دارای استانداردهای کیفی لازم هستند، استفاده کنید. همچنین، دوز مصرفی را دقیقاً طبق دستورالعمل رعایت کرده و از مصرف خودسرانه خودداری کنید.

منابع

- Baltazar, M. T., Cable, S., Carmichael, P. L., Cubberley, R., Cull, T., Delagrange, M., . . . Kukic, P. (2020). A next-generation risk assessment case study for coumarin in cosmetic products. *Toxicological Sciences*, 176(1): 236-252.
- Carneiro, A., Matos, M. J., Uriarte, E., and Santana, L. (2021). Trending topics on coumarin and its derivatives in 2020. *Molecules*, 26(2): 501.
- Detsi, A., Kontogiorgis, C., and Hadjipavlou-Litina, D. (2017). Coumarin derivatives: an updated patent review (2015-2016). *Expert opinion on therapeutic patents*, 27(11): 1201-1226.
- Elmusa, F., and Elmusa, M. Mini-Review on Coumarins: Sources, Biosynthesis, Bioactivity, Extraction and Toxicology. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 11(3): 933-944.
- Fetzer, D. E., Kanda, L. R. S., Xavier, L. A., da Cruz, P. N., Errico, M., and Corazza, M. L. (2022). Lipids and coumarin extraction from cumaru seeds (*Dipteryx odorata*) using sequential supercritical CO₂+ solvent and pressurized ethanol. *The Journal of Supercritical Fluids*, 188, 105688.
- Figuerola-Valverde, L., Rosas-Nexticapa, M., Alvarez-Ramirez, M., Melgarejo-Gutiérrez, M., Mateu-Armand, V., and Garcimarrero-Espino, A. (2024). Biological Activity of a Coumarin Derivative on Heart Failure Using an Ischemia/Reperfusion Injury Model. *Drug Research*, 74(02): 47-52.
- Heghes, S. C., Vostinaru, O., Mogosan, C., Miere, D., Iuga, C. A., and Filip, L. (2022). Safety profile of nutraceuticals rich in coumarins: An update. *FRONTIERS in Pharmacology*, 13, 803338.
- Jameel, E., Umar, T., Kumar, J., and Hoda, N. (2016). Coumarin: a privileged scaffold for the design and development of antineurodegenerative agents. *Chemical biology and drug design*, 87(1): 21-38.
- Jang, D. S., Park, E. J., Hawthorne, M. E., Vigo, J. S., Graham, J. G., Cabieses, F., . . . Mehta, R. G. (2003). Potential cancer chemopreventive constituents of the seeds of dipteryx odorata (tonka bean). *Journal of natural products*, 66(5): 583-587.
- Kasumbwe, K. (2016). *Biological activities of synthetic coumarin derivatives*.
- Küpeli Akkol, E., Genç, Y., Karpuz, B., Sobarzo-Sánchez, E., and Capasso, R. (2020). Coumarins and coumarin-related compounds in pharmacotherapy of cancer. *Cancers*, 12(7): 1959.
- Mishra, S., Pandey, A., and Manvati, S. (2020). Coumarin: An emerging antiviral agent. *Heliyon*, 6(1).
- Moraes, M. L. L., Silva, S. A., and Silva, H. D. T. (2022). Experimental mixture design as a tool to evaluate coumarin (1, 2-benzopyrone) extraction from *Dipteryx odorata* seeds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 210, 114586.
- Musa, M. A., Cooperwood, J. S., and Khan, M. O. F. (2008). A review of coumarin derivatives in pharmacotherapy of breast cancer. *Current medicinal chemistry*, 15(26): 2664-2679.
- Sarker, S. D., and Nahar, L. (2017). Progress in the chemistry of naturally occurring coumarins. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products* 106: 241-304.
- Sharifi-Rad, J., Cruz-Martins, N., López-Jornet, P., Lopez, E. P.-F., Harun, N., Yeskaliyeva, B., . . . Sharopov, F. (2021). Natural coumarins: exploring the pharmacological complexity and underlying molecular mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021(1): 6492346.
- Sousa, B. C. M. d., Castro, S. P. d., Lourido, K. A., Kasper, A. A. M., Paulino, G. d. S., Delarmelina, C., . . . Lustosa, D. C. (2022). Identification of coumarins and antimicrobial potential of ethanolic extracts of *Dipteryx odorata* and *Dipteryx punctata*. *Molecules*, 27(18): 5837.
- Stefanachi, A., Leonetti, F., Pisani, L., Catto, M., and Carotti, A. (2018). Coumarin: A natural, privileged and versatile scaffold for bioactive compounds. *Molecules*, 23(2): 250.



- Venugopala, K. N., Rashmi, V., and Odhav, B. (2013). Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *BioMed research international*, 2013(1): 963248.
- Yadav, R. K., and Satapathy, G. S. (2021). An Overview of Natural and synthetic coumarins as promising leads/drugs. *Modern Research in Chemical Studies*, 52.



پروفایل فیتوشیمیایی و ویژگی های دارویی گیاه آویشن (*Thymus spp.*)

فاطمه علیرضایی شهرکی^۱، حسین طایفی نصرآبادی^{*}

^{*}گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، شهر تبریز (fatemeh.alirezaee403@ms.tabrizu.ac.ir)

چکیده

آویشن، از خانواده *Lamiaceae* و جنس *Thymus*، به عنوان یکی از مهم ترین گیاهان دارویی شناخته میشود و دارای خواص ضد میکروبی، ضد التهابی و آنتی اکسیدانی است. این گیاه منبع غنی از ترکیبات شیمیایی مانند تیمول و کارواکرول است که مسئول فعالیت های بیولوژیکی آن هستند. در این مقاله مروری از ۲۹ مقاله علمی معتبر استفاده شده است که به تحلیل خواص میکروبی و مقاومت باکتریایی این گیاه در برابر آنتی بیوتیک ها میپردازند. آویشن به عنوان یکی از مهم ترین گیاهان دارویی شناخته میشود. برای جمع آوری اطلاعات، از موتورهای جستجوی گوگل و گوگل اسکالر بهره برداری شده است. این مقاله به اهمیت آویشن در طب سنتی و مدرن اشاره دارد و نشان میدهد که چگونه این گیاه میتواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در صنایع غذایی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین، خواص تغذیه ای آویشن شامل پروتئین، کربوهیدرات ها و مواد معدنی ضروری مانند پتاسیم و کلسیم نیز مورد بررسی قرار گرفته است. در نهایت، این مقاله بر افزایش تقاضا برای مواد غذایی سالم و طبیعی تأکید دارد و نقش آویشن را به عنوان یک منبع درمانی و غذایی حائز اهمیت میداند. اطلاعات ارائه شده در این مقاله میتواند به درک بهتر خواص دارویی و کاربردهای آویشن کمک کند.

واژگان کلیدی: آویشن، ترکیبات شیمیایی، خواص ضد میکروبی، گیاهان دارویی، مقاومت باکتریایی .



۱. مقدمه

امروزه، محققان به دلیل عملکرد میکروبی و مقاومت باکتریایی آنها در برابر آنتی بیوتیک ها، گیاهان دارویی را مورد توجه قرار میدهند که در غیر این صورت اگر به درستی مدیریت نشود، منجر به مشکلات جدی سلامتی خواهد شد (Paudel, Rai et al. 2024). گیاهان دارویی منبع مهمی از داروهای جدید محسوب میشوند و بسیاری از درمان های معاصر را میتوان در نهایت از منابع گیاهی انجام داد. مطالعات و تحقیقات قبلی در مورد گیاهان دارویی به درک سمیت گیاهی و همچنین افزایش آگاهی در مورد حفاظت انسان و حیوانات در برابر مواد سمی طبیعی کمک میکنند (Hosseinzadeh, Jafarikukhdan et al. 2015). در میان منابع طبیعی دارویی، آویشن یکی از بزرگترین گونه های تیره آویشن است که متعلق به خانواده *Lamiaceae* و جنس *Thymus* است که عموماً دارای گیاهان شکوفه دار قابل توجهی با حدود ۲۲۰ جنس و ۴۰۰۰ گونه در سراسر جهان است و میتوان از آن برای آشپزی، اهداف آرایشی و بهداشتی و دارویی استفاده کرد (Mamadalieva, Akramov et al.).

فعالیت های ضد روماتیسمی، ضد عفونی کننده، ضد اسپاسم، ضد میکروبی، ضد التهابی، ضد نفخ، ادرار آور و خلط آور گیاه آویشن مورد بررسی قرار گرفته است (Abu-Darwish and Abu-Dieyeh 2009). از این رو، گیاهان آویشن میتوانند برای درمان بیماری ها/اختلالات تنفسی، نورودژنراتیو و سایر بیماری ها مفید باشند. علاوه بر این، مطالعات متعددی فعالیت های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی گونه های آویشن را ارزیابی کرده اند و حداقل تا حدی EOs آنها مسئول این ویژگی ها هستند. این میتواند به کاربرد آنها در طب عامیانه در برابر عفونت های ضد میکروبی و اختلالات مرتبط با استرس اکسیداتیو مربوط باشد (Bakkali, Averbeck et al. 2008).

در واقع، ترکیبات طبیعی از گیاهان و ادویه جات، از جمله برخی از گیاهان آویشن، از زمان های قدیم به طور سنتی برای طعم دهنده استفاده میشده است. اخیراً بیشتر مواد تشکیل دهنده گیاهان و ادویه ها برای نگهداری محصولات غذایی استفاده میشود. نگهداری مواد غذایی با ترکیبات طبیعی به دلیل تقاضای مصرف کنندگان برای محصولات ایمن و با کیفیت، اهمیت فزاینده ای پیدا کرد (Calo, Crandall et al. 2015). علاوه بر این، محققان و صنایع غذایی روی نگهدارنده های طبیعی برای کاهش استفاده از ترکیبات مصنوعی برای ترجیح مصرف کننده کار کرده اند.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. منشا آویشن

آویشن نامی است که اغلب برای گونه های مختلف گونه ای به نام "تیموس" که بومی آسیا و اروپا است استفاده میشود. به طور طبیعی در منطقه مدیترانه غربی وجود دارد، که بیشتر به سمت جنوب شرقی ایتالیا گسترش می یابد، اما میتواند در مناطق مختلف جهان نیز رشد کند (Malik, Yadav et al. 2016).

نام آویشن ابتدا توسط یونانی ها به این گیاه داده شد، به معنی بخور دادن یا ضد عفونی کردن با بخارات گیاهی خاص، زیرا آنها از آویشن به عنوان یک ماده مهم در صنعت عطرسازی، به دلیل عطر قوی آن استفاده میکردند. بسیاری دیگر نام خود



را از دو کلمه یونانی *Thyo* (به معنی عطر) یا *Thumus* (به معنای شجاعت) گرفته اند و به همین دلیل، گیاه آویشن در دوران ماقبل تاریخ منبع بزرگی برای نشاط و شجاعت شد (Dauqan and Abdullah 2017).

۲-۲. ویژگی های گیاه

آویشن یک درختچه گلدار چندساله وحشی و چوبی است که دارای برگ های بسیار معطر، سبز خاکستری و کوچک و گل های بنفش یا صورتی در دسته ای است که از ماه می تا سپتامبر (اردیبهشت تا مهر) با رایحه ای متمایز شکوفا میشوند. عطر قوی گیاه آویشن به دلیل تیمول احساس میشود و به طور گسترده ای به عنوان یک گیاه دارویی مورد استفاده در محصولات غذایی رشد میکند. زمین را میپوشاند و گهگاه با حالت عمودی و همچنین افقی تا ۴۰ سانتی متر رشد میکند (Hosseinzadeh, 2015). برگها معمولاً ۲/۵ تا ۵ میلی متر طول دارند، دمبرگ بسیار کوتاهی دارند و به شکل مستطیل تا بیضی هستند. علاوه بر این، از قسمت های زمینی این گیاه برای تولید روغن فرار از طریق فرآیند تقطیر بخار استفاده میشود و آویشن خشک شده برای مصارف آشپزی در بازار موجود است (Prasanth Reddy, Ravi Vital et al. 2014).

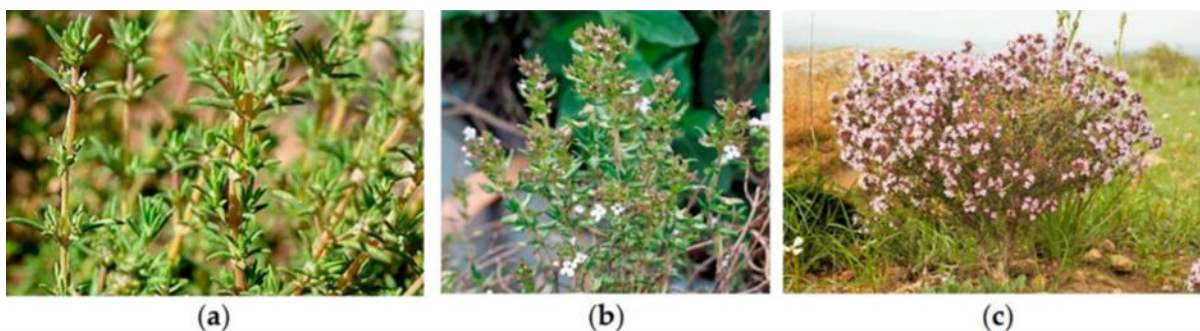
آویشن در آب و هوای خشک، معتدل، آفتابی و گرم، هر جا که این گیاهان به نظر دور از آفتاب نباشند، بسیار خوب رشد میکند. گونه های مختلف آویشن در خاک خشن و درشت رشد میکنند و بهترین عملکرد را دارند که ممکن است ثابت شده باشد که برای تعداد کمی از گیاهان گلدار دیگر مناسب نیست. آویشن معمولاً در فصل بهار کاشته میشود و برای تکثیر یا پرورش تا حداکثر حد ممکن به نور خورشید نیاز دارد (Prasanth Reddy, Ravi Vital et al. 2014). برگهای آویشن باید در دمای که بیش از ۴۰ درجه سانتیگراد نباشد خشک شود تا از دست دادن طعم از طریق تبخیر روغن فرار کاهش یابد و همچنین رنگ سبز برگها حفظ شود.

از قسمت های خشک شده، به ویژه برگ های خشک (سبز مایل به خاکستری) آویشن میتوان برای تولید اولئورسین (طعم دهنده طبیعی) و اسانس استفاده کرد. اسانس آویشن زمانی که از طریق تقطیر با آب یا بخار قسمت های هوایی نسبتاً کم آبی گیاه به دست می آید، حدود ۰.۵٪ تا ۱.۵٪ بازده دارد و اسانس حاصل ممکن است به رنگ نارنجی، قرمز مایل به قهوه ای یا قهوه ای مایل به خاکستری باشد. آویشن دارای رایحه ای تند، گرم و کمی گلی با طعم کپک زده و یونجه مانند است (Borugă, 2014). (Jianu et al. 2014)

۲-۳. گونه ها

تیره آویشن یکی از بزرگ ترین گروه ها یا اعضای خانواده نعناع است که حدود ۲۱۵ گونه و چند هیبرید (گیاه هیبرید گیاهی است که از بذر حاصل از گرده افشانی متقابل دو گیاه والد مجزا از واریته های مختلف رشد میکند. این فرآیند گرده افشانی کنترل شده، گونه جدید و سومی را ایجاد میکند) نیز دارد. سه گونه اصلی برای مصرف معمولی رشد کردند، مانند چند رنگ، باریک برگ و پهن برگ (Tabasi, Zokaei et al. 2015). آویشن نقره ای (چند رنگ) از سایر اعضای خانواده نعناع مقاوم تر است و قوی ترین طعم را دارد. گونه باریک برگ دارای برگ های خاکستری-سبز است و در مقایسه با گونه های پهن

برگ معطر تر است و به عنوان آویشن آلمانی شناخته میشود. آویشن لیمویی طعم لیمویی دارد و برگ های پهن تری دارد که در حاشیه آن پیچ خورده نیست. بیشترین گونه های آویشن که برای استخراج دارویی، آشپزی و اسانس استفاده میشود عبارتند از *Thymus hyemalis*, *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis*, *Thymus citriodorus* و *Varico*. واریکویک گونه قوی با برگ های آبی مایل به خاکستری است که ممکن است با دانه ها تکثیر شده باشد و حدود ۵۰ درصد تیمول تولید میکند که بیش از ۳ درصد اسانس را تشکیل میدهد (Tabassi, Zokaei et al. 2016) (شکل ۱).



شکل ۱ (a) آویشن زیگیس، (b) آویشن ولگاریس، و (c) آویشن هیمالیس (Waheed, Hussain et al. 2024)

۲-۴. اهمیت تغذیه ای

اخیراً، تقاضای مصرف کنندگان برای مواد غذایی مفید افزایش یافته است که ممکن است فواید سلامتی دیگری به جز تغذیه اساسی را به بدن برساند. مزایای سلامتی شگفت انگیز آویشن ولگاریس را میتوان به ویژگی تغذیه ای بالای آن نسبت داد (Nanasombat, Thonglong et al. 2015). مواد مغذی آن در جدول ۱ شامل پروتئین ها، کربوهیدرات ها، مواد معدنی، ویتامین ها، مواد معطر، اسانس، کاروتنوئیدها، آنتی اکسیدان های فنولیک، فلاونوئیدها میباشد که دارای خواص دارویی و ارتقاء دهنده سلامتی هستند که برای سلامتی مطلوب حیاتی هستند (Tornuk, Karaman et al. 2013).

پروتئین ها، اسیدهای آمینه، کربوهیدرات ها و ترکیبات معدنی آویشن اطلاعات ارزشمندی را در مورد کیفیت دارویی و تغذیه ای آن ارائه میدهد. تعیین محتوای خاکستر مهم است زیرا به عنوان معیار تعداد کل مواد معدنی موجود در یک غذا در نظر گرفته میشود، در حالی که اندازه گیری مقدار کل مواد معدنی موجود در یک ماده غذایی است که بیشتر باعث ایجاد اثر فارماکولوژیک میشود. پروتئین ها پارامتر مهمی برای ارزیابی تغذیه ای گیاهان هستند و به طور مجازی در فرآورده های مختلف درون سلول شرکت میکنند. غلظت اسیدهای آمینه به عنوان بلوک های سازنده پروتئین شامل ترئونین، پرولین، آرژنین، آلانین، گلیسین، سیستئین، والین، اسید گلوتامیک و متیونین در برگ و ساقه آویشن است. برگها حاوی مقدار زیادی اسید آمینه متیونین و غلظت کم برای پرولین مشاهده شد، در حالی که ترئونین در غلظت بالا در ساقه و غلظت پایین برای گلیسین مشاهده شد. آنزیم هایی که بسیاری از واکنش های بیولوژیکی را کاتالیز میکنند نیز پروتئین هستند و برای متابولیسم حیاتی هستند (Waheed, Hussain et al. 2024).



مواد معدنی، از جمله مواد معدنی ماکرو و میکرو، در برگ های آویشن، چه تازه و چه خشک، شناسایی شده اند که شامل پتاسیم (K)، کلسیم (Ca)، آهن (Fe)، منگنز (Mn)، کوپر (Cu)، و منیزیم (Mg) که اجزای اصلی سلول ها و مایعات خارج سلولی یک موجود زنده هستند (Tomescu, Rus et al. 2015). منیزیم (Mg) و کلسیم (Ca) در گیاهان دارویی از جنس *Thymus* به مقدار بیشتری وجود دارد. همچنین میانگین آهن (Fe) در آویشن بسیار بیشتر از سایر مواد گیاهی است. پتاسیم (K) به دلیل اینکه عنصر اصلی مایعات و سلول های بدن است، فشار خون و ضربان قلب را عادی میکند. منگنز به عنوان یک کوفاکتور برای فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در نظر گرفته میشود. آهن (Fe) به عنوان یک جزء مهم در تشکیل گلبول های قرمز خون نقش دارد و نقش مهمی در درمان کم خونی فقر آهن (IDA) ایفا میکند (Arceusz, Radecka et al. 2010). آویشن دارای ترکیب قوی ویتامین ها، به ویژه ویتامین C (اسید اسکوربیک) و ویتامین A (رتینول) است. ویتامین C به بدن کمک میکند تا مقاومت در برابر بیماری های عفونی را بهبود بخشد و همچنین رادیکال های آزاد پیش التهابی و مضر را از بین ببرد (Maggini, Maldonado et al. 2017). ویتامین A به عنوان ویتامین آنتی اکسیدانی و محلول در چربی شناخته میشود که برای بینایی ضروری است و برای حفظ پوست و غشای مخاطی سالم لازم است. استفاده از آویشن غنی از ترکیبات فلاونوئیدی، به عنوان مثال، بتاکاروتن و ویتامین A به محافظت در برابر حفره دهان و سرطان ریه کمک میکند (Sharangi and Guha 2013). آویشن منبع خوبی از پیریدوکسین (B6) در میان ویتامین های محلول در آب است که با یک وعده ۱۰۰ گرمی ۲۷٪ (۰.۳۵ میلی گرم) از میزان توصیه شده روزانه این ویتامین را تامین میکند. ویتامین B6 همچنین باعث حفظ سطوح گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) میشود که انتقال دهنده عصبی مهار کننده اصلی در مغز است و نقش کاهش دهنده استرس را ایفا میکند. چندین ویتامین دیگر نیز در گیاه آویشن از جمله ویتامین E، اسید فولیک و ویتامین K یافت میشود (Dauqan and Abdullah 2017).

فولیک اسیدها و ترکیبات آنتی اکسیدانی فلاونوئیدی نیز از ترکیبات مهمی هستند که نقش بسزایی در ترکیبات تغذیه ای دارند و در نتیجه فواید سلامتی را برای انسان به همراه دارند. اسیدهای فولیک و لوتئولین، کورستین، آپیزین، اسید فولیک، زآگزانتین، نارینژین و تیمونین به عنوان ترکیبات فلاونوئیدی تأیید شده اند. آزمایشات تحقیقاتی در مورد عصاره متانولی برگ آویشن در مورد ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتر آویشن نسبت به آنتی اکسیدان های طبیعی و مصنوعی مانند α -توکوفرول و BHA گزارش شده است (Sharangi and Guha 2013).

اسانس آویشن به دلیل رایحه متمایز و مشخص به عنوان یک ماده خام در لوازم آرایشی و عطرسازی به شمار میرود. ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس عبارتند از: β -میرسن، α -پنین، سابینن، ۱،۸-سینئول، α -ترپینئول، کاریوفیلن، کارواکرول، تیمول، آپیزین، اوژنول، p-cymene و رزمارینیک اسید که اثرات ضد التهابی و ضد عفونی کننده، آنتی اکسیدان و ضد میکروب را به آنها میدهد. تیمول جزء اصلی فنلی اسانس است که در درجه اول مسئول فعالیت آنتی اکسیدانی آن است و به عنوان مهمترین ترکیب آویشن شناخته میشود که مسئول فعالیت های ضد قارچی و ضد عفونی کننده است. عوامل محیطی، تکنیک های کشت و اصلاح ژنتیکی به طور قابل توجهی بر تولید تیمول در *Thymus spp.* تأثیر میگذارد (Yavari, Nazeri et al. 2010).



جدول ۱ مشخصات تغذیه ای آویشن ولکاریس تازه (Dauqan and Abdullah 2017)

اجزای تشکیل دهنده	ارزش (در هر ۱۰۰ گرم)	%*RDA
اجزای تشکیل دهنده اصلی		
کربوهیدرات ها	۲۴.۵ گرم	۱۸٪
پروتئین ها	۵.۴۹ گرم	۱۰٪
فیبر رژیمی	۱۳.۹۹ گرم	۳۷٪
چربی کل	۱.۶۷ گرم	۸.۴٪
ویتامین ها		
ویتامین C	۱۶۱ میلی گرم	۲۶۶٪
ویتامین A	۴۷۵۰ IU	۱۵۸٪
تیامین (B ₁)	۰.۴۴ میلی گرم	۳۸٪
ریبوفلاوین (B ₂)	۰.۴۷۰ میلی گرم	۳۶٪
پانتوتیک اسید (B ₅)	۰.۴۰۸ میلی گرم	۸٪
نیاسین (B ₃)	۱.۸۲۵ میلی گرم	۱۱٪
پیریدوکسین (B ₆)	۰.۳۴۶ میلی گرم	۲۷٪
فولیک اسید (B ₉)	۴۴.۹۴ میکرو گرم	۱۱٪
مواد معدنی		
آهن	۱۷.۴۶ میلی گرم	۲۱۸٪
زینک	۱.۸۲ میلی گرم	۱۶.۴۹٪
پتاسیم	۶۱۰ میلی گرم	۱۳.۲٪
کلسیم	۴۰۴ میلی گرم	۴۰٪
سدیم	۸.۹۶ میلی گرم	۰.۵٪
منیزیم	۱۶۱ میلی گرم	۴۰٪

* Recommended Daily Allowance: به معنای مقدار میانگین از مواد مغذی که بتواند نیازهای غذایی اکثر افراد سالم (۹۷-۹۸ درصد) را در

هر مرحله از زندگی و با هر جنسیت تامین کند، است.

۲-۵. ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن

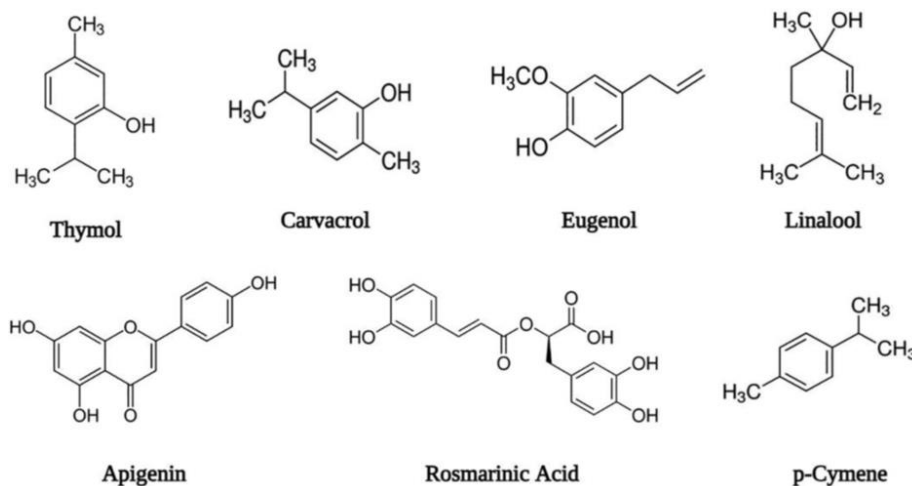
بر اساس متون منتشر شده، بیشتر EOs از گیاهان آویشن از بخش های گلدار استخراج میشود. طبقات شیمیایی اصلی ترکیبات موجود در EOs از گونه های آویشن عبارتند از ترپن ها، ترپن الکل ها، مشتقات فنی، کتون ها، آلدئیدها، اترها و استرها. اسانس آویشن به عنوان مخلوطی از ترکیبات طبیعی شناخته میشود که در مقادیر یا غلظت های نسبتاً متفاوتی وجود دارند. شش نوع شیمیایی آویشن با ترکیبات مختلف اسانس وجود دارد. اجزای اصلی در فرآورده های گیاهی خشک عبارتند از: کارواکرول، تیمول، لینالول، بتا میرسن، ترپین-۴-اول، پی سیمن و ۷ ترپین که تا ۲.۵ درصد از اسانس را تشکیل میدهند و



برخی ترکیبات دیگر به نظر می‌رسد که به صورت گلیکوزید وجود دارند. برخی از مهم ترین ترکیبات شیمیایی آویشن (تیمول، کارواکرول، اوژنول، لینالول، آپیزنین، رزمارینیک اسید، و p-cymene) وجود دارد که دارای ترکیب خاص و همچنین عملکرد بیولوژیکی خود هستند (Waheed, Hussain et al. 2024).

محتوای و کمیت آویشن EOs همچنین بر اساس گونه و شیمی تیپ متفاوت است و همچنین می‌تواند به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی قرار گیرد: زمان برداشت، موقعیت جغرافیایی، شرایط اقلیمی و سایر عوامل زراعی. مونوترپن تیمول (۲-ایزوپروپیل-۵-متیل فنل) یک ترکیب فنلی کریستالی سفید رنگ است و به عنوان ترکیب اصلی اسانس آویشن به شمار می‌رود. دارای بوی شیرین معطر است که همچنین نشان دهنده خواص آنتی اکسیدانی قوی، ضد عفونی کننده، ضد قارچی و ضد باکتریایی است. در اسانس آویشن و بسیاری دیگر از ادویه ها و گیاهان خوشبو، کارواکرول (۵-ایزوپروپیل-۲-متیل فنل) یک ترکیب مونوترپن مهم در میان گروه فنولیک ها است. اثر بیولوژیکی کارواکرول دارای اثرات متعددی است که به عنوان اثر مهار استیل کولین استراز (AChE)، ضد میکروبی، ضد التهابی و ضد ترومبوتیک گزارش شده است (Waheed, Hussain et al. 2024) (شکل ۲).

اوژنول [۲-متوکسی-۴-(۲-پروپنیل) فنل] که در چندین گیاه دارویی وجود دارد، از چند دهه گذشته در دندانپزشکی استفاده می‌شود. به دلیل خاصیت ضد درد، به عنوان یک عامل هیپوترمی و ضد تشنج عمل می‌کند. علاوه بر این، اوژنول خواص دارویی متفاوت دیگری از جمله ضد آنافیلاکتیک، محافظت کننده عصبی و ضد التهابی را نشان می‌دهد (Javed, Erum et al. 2013). لینالول یک ترکیب الکلی مونوترپنوئیدی است و جزء اصلی روغن فرار در آویشن و همچنین موجود در تعدادی از گونه های مختلف گیاهی معطر است. تحقیقات قبلی به این نتیجه رسیدند که ترکیب لینالول دارای فعالیت های بیولوژیکی متفاوتی است، مانند فعالیت های آنتی اکسیدانی، بی حس کننده، ضد ویروسی، ضد درد، ضد درد و همچنین فعالیت های ضد التهابی است. چندین فعالیت بیولوژیکی که توسط آپیزنین تایید و نشان داده شده اند عبارتند از: ضد سرطان، ضد ویروسی، ضد جهش زا، آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد پیشرفت. به دلیل سمیت ذاتی کم و اثرات برجسته آپیزنین بر سرطان و سلول های سالم، در سال های اخیر به عنوان یک عامل امیدوارکننده و مفید برای سلامتی در مقایسه با سایر فلاونوئیدها که از نظر ساختار مشابه با آپیزنین هستند، اهمیت ویژه ای پیدا کرده است (Waheed, Hussain et al. 2024).



شکل ۲: بازنمایی ساختاری ترکیبات اسانس (تیمول، اوژنول، لینالول، آپیژنین، رزمارینیک اسید و p-cymene) (Dauqan and Abdullah 2017)

اسید رزمارینیک یکی دیگر از ترکیبات شیمیایی مهم (۴،۳-دی هیدروکسی فنیل-لاکتیک اسید) موجود در اسانس آویشن، با خواص درمانی متعدد، به عنوان مثال، ضد جهش زا، آنتی اکسیدان، ضد حساسیت، ضد التهابی و ضد ویروسی است. این یک ترکیب معطر در گیاه آویشن است که به عنوان آلکیل بنزن طبقه بندی می شود و همچنین به گروه مونوترپنئیدی مربوط می شود. تظاهرات ساختاری آن شامل پاراجایگزینی گروه های ایزوپروپیل و متیل در یک حلقه بنزن است. فعالیت های بیولوژیکی مختلفی توسط p-cymene نشان داده می شود که شامل فعالیت های ضد درد، ضد میکروبی، ضد التهابی، آنتی اکسیدانی، ضد سرطانی و ضد اضطراب است. مطالعات درون بدنی فعلی انجام شده بر روی مدل های حیوانی آزمایشی، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و کاهش استرس اکسیداتیو توسط p-cymene را تعیین کرد (de Oliveira, de Carvalho et al. 2015).

۱-۵-۲. استخراج، کمی سازی، و خصوصیات تیمول

اسانس آویشن (تیمول) را میتوان با استفاده از تکنیک های متعددی مانند تقطیر با بخار آب، تقطیر با آب و استخراج سیال فوق بحرانی استخراج کرد. همچنین میتوان آن را توسط اتیل استات و سیکلو هگزان در کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا (HPTLC) استخراج کرد. میتوان آن را با تکنیک های تحلیلی که کروماتوگرافی گازی-طیف سنجی جرمی، الکتروکروماتوگرافی مویرگی (CEC) و کروماتوگرافی مایع-طیف سنجی جرمی پشت سر هم (LC-MS/MS) تعیین کرد. ترکیب شیمیایی اسانس را میتوان با HPLC-UV و GC-MS مشخص کرد که کارواکرول، p-cymene، تیمول، لینالول و γ-ترپنین را به عنوان اجزای اصلی شناسایی کردند (Mottaleb, Meziani et al. 2019).



۲-۵-۲. فراهمی زیستی و متابولیسم اسانس آویشن (تیمول)

تیمول به سرعت جذب شده و پس از مصرف خوراکی در انسان متابولیزه میشود. تیمول سولفات و تیمول گلوکوروئید متابولیت های اصلی هستند که در ادرار و همچنین پلاسما شناسایی میشوند. سایر متابولیت های تیمول مشتقات p-cymene و تیمویدروکینون سولفات هستند. از آنجایی که فرم تیمول آزاد در پلاسما قابل اندازه گیری نیست، به همین دلیل است که متابولیسم گسترده ای را پیشنهاد میکند (Mason, Mullen et al. 2017).

تیمول از دستگاه گوارش (GI) جذب میشود و در بافت های مختلف مانند کبد، کلیه، دیواره روده و ماهیچه توزیع میشود. علاوه بر این، تیمول به ترکیبات اسید سولفوریک و اسید گلوکوروئیک متابولیزه میشود که سپس در ادرار دفع میشود. در حالی که تیمول به مشتقات p-cymene متابولیزه میشود و در ادرار در موش ها دفع میشود. همچنین در تخم مرغ ها و همچنین بلدرچین های ژاپنی که با عصاره آویشن تغذیه میشدند، شناسایی میشود و بیشتر به محصولات حیوانی خوش طعم منتقل میشود. سطح تیمول و متابولیت های آن بر اساس مسیر، مدت زمان و دوز مصرف متفاوت است. مطالعات ADME (جذب، توزیع، متابولیسم و دفع) توضیح داده شده در بالا نشان میدهد که تیمول میتواند به راحتی جذب، متابولیزه و از بدن دفع شود. مسیرهای متابولیک شامل کونژوگه با سولفات و اسید گلوکوروئیک است (Waheed, Hussain et al. 2024).

۲-۶. کاربردهای آویشن

۲-۶-۱. آویشن به عنوان یک نگهدارنده طبیعی مواد غذایی

نگهدارنده ها ترکیباتی هستند که از منابع مختلف طبیعی و مصنوعی منشأ میگیرند. افزودن مواد نگهدارنده در محصولات غذایی و دارویی مختلف، فساد ناشی از تغییرات نامطلوب در سطح مولکولی و توسعه میکروبی را هدف قرار میدهد. این ماده به عنوان یک ماده تشکیل دهنده با توانایی انسداد و مهار فرآیندهای اسیدی شدن و تخمیر عمل میکند. اسانس آویشن همچنین میتواند به عنوان جایگزینی منظم برای چندین ترکیب طبیعی و جایگزینی برای نگهدارنده های مصنوعی یا شیمیایی پیشنهاد شود. به دلیل کسر اسانس، تعدادی از گیاهان، عصاره های گیاهی و ادویه ها فعالیت های نگهدارنده را در مورد کسر اسانس خود نشان میدهند (Waheed, Hussain et al. 2024).

فعالیت نگهدارنده و ضد میکروبی آویشن به آن رتبه ای را در میان مؤثرترین اسانس ها داد، زیرا توسط گزارش های متعدد قبلی در سراسر جهان پشتیبانی شده است. اثربخشی آویشن در مورد اثر ضد میکروبی عمدتاً به ترکیبات فنلی که کارواکرول، تیمول و p-cymene موجود در روغن فرار هستند نسبت داده شده است. ثابت شده است که اسانس آن به عنوان یک ماده بسیار فعال در قارچ کش ها عمل میکند و میتواند با خیال راحت به عنوان یک ماده شیمیایی طبیعی که جایگزین قارچ کش های مصنوعی برای درمان برخی از بیماری های قارچی گیاهی میشود، استفاده شود (Waheed, Hussain et al. 2024). در مقابل رشد میکروارگانیسم ها، محققان فعالیت ضد میکروبی ترکیبات فرار گیاهان در منطقه مدیترانه را گزارش کردند و آویشن جزو ترکیباتی بود که دارای اثر بازدارندگی بود. فعال ترین اثر مهار در برابر لاکتوباسیلوس پلانتروم، بروی باکتریوم لیننز و بروکوتریکس ترموسفاکتا نشان داده شده است و به ترکیبات قوی و فعال ضد باکتریایی مانند تیمول، فنل ها و کارواکرول



نسبت داده میشود. برخی از شواهد علمی قبلی گزارش کردند که اسانس آویشن در غلظت های پایین در محلول پروپیلن گلیکول و آب به عنوان عامل کرم کننده و امولسیون کننده، هنگامی که برای فیله های تیلایا نیل در دمای تبرید استفاده میشود، فعالیت آنتی اکسیدانی مؤثری دارد (Waheed, Hussain et al. 2024).

برخی از دانشمندان در زمان های اخیر اثر نگهدارنده و ضد باکتریایی آویشن را برای از بین بردن گونه های مختلف میکروبی موجود در مواد غذایی مانند استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، سودوموناس آنروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا انتریکا، انتروکوکوس فکالیس، لیستریا مونوسیژنوز، انتروکوکوس، انتروکوکوس اورئوس، و کلسترییدیوم پرفرنجنس ثابت کرده اند. فعالیت ضد میکروبی عصاره آویشن به عنوان بهبود ایمنی و حفظ مواد غذایی در نظر گرفته شده است.

۲-۲. کاربردهای دارویی

ماده شیمیایی اصلی اسانس آویشن "تیمول" است که به طور فعال اثر خود را در برابر سویه های باکتریایی استافیلوکوک و سالمونلا نشان میدهد. به دلیل این فعالیت، آویشن به یک گیاه معطر مفید با ویژگی های ضد عفونی کننده در عفونت های قارچی مزمن برای سیستم ایمنی همراه با یکی دیگر از درمان های فعلی برای عفونت های دستگاه تنفسی، به عنوان مثال، سیاه سرفه و برونشیت تبدیل میشود. همچنین میتوان از آن به عنوان ضد عفونی کننده، ضد عفونی کننده، دهان شویه و ضد عفونی کننده استفاده کرد. عفونت های جزئی قفسه سینه و گلو را میتوان با طعم مطبوع برگ های تازه آویشن با جویدن درمان کرد که ممکن است گلودرد را تسکین دهد. به طور کلی، آویشن با سایر گیاهان دارویی متعدد برای درمان تب یونجه، کرم و آسم در کودکان توصیه میشود. آویشن همچنین ممکن است توانایی بهبود عملکرد کبد را داشته باشد و به عنوان محرک اشتها عمل کند، زیرا تیمول از عملکرد میکروویلی در معده محافظت میکند و جذب مواد مغذی را افزایش میدهد که به نوبه خود باعث افزایش اشتها و دریافت غذا و همچنین مفید برای درمان التهاب و لارنژیت میشود. استفاده موضعی آویشن از این نظر مهم است که میتوان از آن برای مشکلات مربوط به پوست استفاده کرد، به عنوان مثال، آکنه، پوست چرب، نیش حشرات، درماتیت (اگزما)، گزیدگی و همچنین تسکین درد شدید ناشی از آسیب عصب در هر نقطه از پوست. بدنی که ممکن است ناشی از افزایش سن، دیابت، ام اس (بیماری ناتوان کننده مغز و نخاع)، عفونت، درد و دردهای روماتیسمی باشد (Waheed, Hussain et al. 2024) (جدول ۲)

جدول ۲ موارد مصرف آویشن و لکاریس در طب سنتی (Waheed, Hussain et al. 2024)

خواص پزشکی	قسمت گیاه/آماده سازی گیاه	نوع مطالعه	مکان
مصارف سنتی			
دستگاه تنفسی			



سرفه، آسم	پودر شربت	درون بدن	اردبیل، ایران
ذات الریه و آتلکتازی*	اسانس	درون بدن	ساری، ایران
SARS-CoV-۲	اسانس	درون بدن	زنجان، ایران
COVID-۱۹	پودر برگ خشک	درون بدن	کامرون
ذات الریه حاد	اندام هوایی	درون بدن	پنج، مجارستان
برونشیت حاد	عصاره های خشک شده	درون/بیرون بدن	آلمان
سیستم عصبی			
فعالیت ضد درد/اختلال حرکتی	اندام هوایی/جوشنده و شربت آویشن	درون بدن	صربستان
بیماری آلزایمر	اسانس	درون بدن	رومانی
انسفالومیلیت/مولتیپل اسکلروزیس (MS)	اندام هوایی	درون بدن	ایران
سیستم قلبی عروقی			
هیپرلیپیدمی	پودر برگ خشک شده	درون بدن	هند
رگزایی عروقی کرونر	تعریف نشده	درون بدن	-
هیپرلیپیدمی	پودر برگ خشک شده	درون بدن	ایران
اضطراب	عصاره های خشک	درون بدن	ایران
دستگاه گوارش			
اختلالات گوارشی	پودر برگ خشک شده	درون بدن	تونس
زخم و کولیت اولسراتیو	اسانس	درون بدن	مصر
بیماری های روده	اسانس	درون بدن	پرو
سایر			
خاصیت ادرارآوری	اندام هوایی	درون/بیرون بدن	رومانی
آمفیزم	اسانس	درون بدن	ساری، ایران
*COPD	عصاره های خشک	بیرون بدن	ایتالیا

* آتلکتازی به فروپاشی یک ریه یا بخشی از یک ریه گفته میشود. * بیماری انسدادی مزمن ریه (COPD)

۲-۸. فعالیت های دارویی

۲-۸-۱. خواص آنتی اکسیدانی

همانطور که قبلاً گفته شد، گیاهان معطر تازه و خشک و همچنین محصولات فرآوری شده آنها از زمان های قدیم به عنوان طعم دهنده استفاده میشده است. با این حال، در طول چند دهه اخیر آنها همچنین به موضوعی برای جستجو در آنتی اکسیدان های طبیعی تبدیل شده اند. واکنش های اکسیداسیون رادیکال های آزاد تولید میکنند که واکنش های زنجیره ای را فعال میکند که باعث آسیب یا مرگ سلول میشود. آنتی اکسیدان ها این واکنش های زنجیره ای را با حذف واسطه های رادیکال



آزاد متوقف میکنند و واکنش های مختلف اکسیداسیون را مهار میکنند. یکی از چالش های مهم در صنایع غذایی امروزه دستیابی به آنتی اکسیدان های طبیعی و عوامل ضد میکروبی برای نگهداری مواد غذایی است زیرا مصرف کنندگان به طور فزاینده ای خواهان محصولات بدون افزودنی یا طبیعی هستند (Waheed, Hussain et al. 2024).

گزارش شده است که تیمول ROS را از بین میبرد و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی را کنترل میکند که استرس اکسیداتیو را کاهش میدهد. خاصیت آنتی اکسیدانی قوی تیمول به آن اجازه میدهد تا با آنیون های سوپراکسید ROS مانند (O_2^-) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) مقابله کند. تیمول همچنین فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی مهمی را افزایش میدهد که برای سم زدایی ROS ضروری است، مانند کاتالاز (CAT)، SOD، و گلوکاتایون پراکسیداز. علاوه بر این، مشخص شده است که تیمول مسیرهای سیگنالینگ ردوکس را با تنظیم فعالیت کینازها و فاکتورهای رونویسی که به وضعیت ردوکس سلول ها پاسخ میدهند، تغییر میدهد. در نتیجه تیمول نحوه واکنش سلول ها به استرس اکسیداتیو را تنظیم میکند و مکانیسم های دفاعی را فعال میکند که اثر مضر ROS را خنثی میکند. تیمول تصور یک ماده شیمیایی طبیعی امیدوارکننده را برای کاهش اختلالات ناشی از استرس اکسیداتیو و همچنین بهبود سلامت عمومی از طریق این مکانیسم ها ایجاد میکند (Waheed, Hussain et al. 2024).

با توجه به اثرات آن بر سلول ها، عصاره اتانولی آویشن برای تیمار سلول های HepG2 از DNA در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از H_2O_2 محافظت کرد و فعالیت GPx را تشویق کرد. نتایج پس از تجزیه و تحلیل عصاره اتانولی نشان داد که اسید سالویانولیک (۳.۱ میلی گرم در گرم)، لوتولین هگزوزید (۲.۰ میلی گرم در گرم)، گلیکوزیدهای آپیزین (۴ میلی گرم در گرم عصاره خشک) و اسید رزمارینیک (۱۴.۷ میلی گرم در گرم) عمده ترین آنها بودند. مکانیسم های عمل در مورد پتانسیل آنتی اکسیدانی قوی نامشخص است اما شامل تنظیم مسیرهای سیگنالینگ و مهار رادیکال های آزاد است که تولید آنزیم ها و مولکول های آنتی اکسیدانی درون زا را کنترل میکند. تحقیقات بیشتری برای توصیف اثر رژیم غذایی مزمن و حاد آویشن آشپزی بر بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در انسان و حیوانات مورد نیاز است (Waheed, Hussain et al. 2024).

۲-۸-۲. فعالیت های ضد التهابی

شواهد پیش بالینی نشان میدهد که کارواکرول (مواد تشکیل دهنده آویشن) اثر ضد التهابی را تشویق میکند و عصاره آویشن دارای فعالیت های ضد التهابی است. به عنوان مثال، اسانس آویشن فعالیت $PPAR\alpha$ فعال شده، پروموتور COX-2، و $PPARF\gamma$ اضافه شده در غلظت ۰.۰۰۲٪ - ۰.۰۰۸٪ به کشت سلول های اندوتلیال را سرکوب کرد. اسانس آویشن زمانی که به ماکروفاژهای THP-1 تحریک شده با لیپوپروتئین با چگالی کم اکسید شده اضافه شد، حاوی ۴ درصد کارواکرول، ۶ درصد p-cymene و ۷۱ درصد تیمول است. به طور قابل توجهی بیان ژن و تولید واسطه های التهابی مانند فاکتور نکروز تومور (TNF- α)، IL-6، IL-1 β را کاهش داد. از سوی دیگر بیان ژن و تولید IL-10 را افزایش داد (Waheed, Hussain et al. 2024). عصاره اتانولی آویشن هنگامی که به کشت های ماکروفاژ اضافه شد (۰.۱٪ - ۰.۴٪) بدون تغییر در زنده ماندن سلول، تولید اکسید نیتریک را سرکوب کرد و همچنین بیان mRNA سنتاز نیتریک اکسید القایی را کاهش داد. مطالعات در مورد اثرات p-cymene به اندازه مطالعات تیمول و کارواکرول در نظر گرفته نمیشود. مطالعات علمی باید ایمنی مصرف مزمن دوزهای آشپزی



آویشن را بر روی نشانگرهای زیستی التهاب در حیوانات به همان اندازه قوی، سالم و همچنین بیمار مبتلا به التهاب گزارش کنند تا توانایی آویشن برای تغییر تعادل سایتوکین های ضد التهابی و پیش التهابی همراه با سایر مسیرهای سیگنالینگ در بافت ها را ارزیابی کنند (Waheed, Hussain et al. 2024).

۳-۸-۲. اثر تعدیل کننده ایمنی

تیمول، یک مونوترپنوئید که از آویشن به دست می آید، ویژگی های تعدیل کننده ایمنی قابل توجهی را تأیید میکند، که تأثیر زیادی بر واکنش های ایمنی تطبیقی و ذاتی دارد. مطالعات تحقیقاتی ثابت کرده اند که تیمول فاگوسیتوز را تحریک میکند، که عمدتاً برای ایمنی ذاتی ضروری است و سیالیت غشاء را افزایش میدهد، که به طور متوالی باعث افزایش عملکرد ماکروفاژ میشود. مشخص شده است که تیمول با بهبود فوران تنفسی، تولید آنیون سوپراکسید را از طریق کاهش انتشار سیتوکین های التهابی که $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ در سلول های تحریک شده با LPS هستند، افزایش میدهد. این نشان میدهد که تیمول به عنوان یک داروی ضد التهاب عمل میکند زیرا تولید سیتوکین و مسیرهای سیگنالینگ التهابی و همچنین بهبود عملکرد سلول های ایمنی را تنظیم میکند. علاوه بر این، عملکرد تیمول در کاهش واکنش های التهابی با سرکوب مسیرهای سیگنالینگ MAPK و NF-kB بیشتر تأکید میشود. اثرات درمانی تیمول مربوط به اختلالات ناشی از سیستم ایمنی و بیماری های خودایمنی است، زیرا میتوان از اثرات تحریک کننده ایمنی آن برای بازگرداندن تعادل ایمنی در موقعیت هایی استفاده کرد که با پاسخ های ایمنی نامنظم مشخص میشوند. به طور کلی، تیمول عامل امیدوارکننده ای را به عنوان یک درمان طبیعی برای اختلالات ایمنی نشان میدهد و تحقیقات بیشتری برای تعیین اثربخشی در تنظیمات بالینی مورد نیاز است (Waheed, Hussain et al. 2024).

۴-۸-۲. فعالیت ضد میکروبی

اسانس های استخراج شده از برگ های آویشن از نظر ترکیب شیمیایی و فعالیت های بیولوژیکی آنها مورد ارزیابی قرار گرفتند. این اسانس های منفجره یا فرار از نظر عملکرد بازدارنده در تضاد نه گونه از باکتری های گرم منفی و شش گونه از باکتری های گرم مثبت مورد بررسی قرار گرفتند. برای ارزیابی اثر بازدارندگی از طریق تماس مستقیم از روش شمارش بشقاب استفاده شد، همچنین اسانس برگ های آویشن به عنوان بهترین درمان جراحی در نظر گرفته میشود که رشد میکروارگانیسم ها را متوقف میکند. مکانیسم اثر شامل اختلال در غشای سلولی میکروبی است که باعث افزایش نفوذ پذیری و سپس لیز سلولی میشود. تیمول به دلیل ماهیت چربی دوست خود میتواند در دولایه لیپیدی غشاهای باکتریایی شرکت کند که به نوبه خود یکپارچگی غشاء را تغییر میدهد و باعث آسیب ساختاری میشود. این تجزیه بر سد فیزیکی سلول ها همراه با اثرات مضر بر فرآیندهای سلولی که شامل تولید انرژی و حمل و نقل تغذیه میشود، با ممانعت از فعالیت آنزیم های مرتبط با یکپارچگی غشاء و تنفس تأثیر میگذارد. مطالعات مختلف نشان داده اند که تیمول میتواند فعالیت های آنزیم متصل به غشاء، مانند $H^+ATPase$ را که برای حفظ گرادیان الکتروشیمیایی برای سنتز ATP ضروری هستند، سرکوب کند. این کارایی ضد میکروبی تیمول را در برابر میکروارگانیسم هایی مانند استرپتوکوکوس اینیا و E. coli افزایش میدهد (Waheed, Hussain et al. 2024).



تیمول علاوه بر غشای سلولی بر بیان ژن میکروبی و فرآیندهای متابولیک تأثیر میگذارد. مطالعات گزارش کرده اند که قرار گرفتن در معرض تیمول میتواند بیان ژن های مرتبط با واکنش های مرتبط با استرس را اصلاح کند. تغییر در بیان ژن میتواند عفونت ها را کمتر قادر به زنده ماندن از عوامل استرس زای اکولوژیکی کند، که باعث افزایش کارایی تیمول میشود. تیمول عناصر مختلف فیزیولوژی میکروبی را هدف قرار میدهد، به جای وابستگی به فرآیندهای آنتی بیوتیک سنتی، که آن را به یک تکنیک عملی برای درمان مقاومت ضد میکروبی تبدیل میکند (Waheed, Hussain et al. 2024).

۵-۸-۲. اثر ضد سرطانی

چندین ترکیب از جمله فلاوانون های شناخته شده با استفاده از تکنیک های طیفی مختلف شناسایی شدند. نتایج فعالیت ضد سرطانی عصاره برگ آویشن در سلول های تومور کولورکتال، مهار فرآیند تکثیر را با پیروی از رویکرد وابسته به زمان و غلظت نشان داد که علاوه بر این به فعالیت ضد سرطانی کمک میکند. ممکن است ثابت شده باشد که ترکیبات زیست فعال مختلف در عصاره آویشن اثر محافظتی در برابر سرطان روده بزرگ انسان را نشان میدهند (Ayesh, Abed et al. 2014). فعال شدن آپوپتوز در سلول های سرطانی یکی از مکانیسم های اصلی اثر تیمول است. این امر توسط ROS امکان پذیر است که باعث توقف چرخه سلولی در فاز G0/G1 و اختلال در عملکرد میتوکندری میشود. مشخص شده است که تیمول خاصیت پروآپوپتوتیک میدهد و مسیرهای سیگنالینگ مهم را تغییر میدهد، که با پیشرفت سرطان مرتبط است زیرا ندول های متاستاتیک را در مدل های سرطان ریه از طریق انسداد مسیر Wnt/ β -catenin، که برای متاستاز و رشد سلولی مهم است، کاهش میدهد. علاوه بر این، همچنین قابل توجه است که تیمول با مبدل سیگنال و فعال کننده مسیر رونویسی ۳ (STAT3) تداخل میکند. با مسدود کردن فسفوریلاسیون STAT3، تیمول از سیگنال دهی پایین دستی جلوگیری میکند که از تکثیر و بقای سلول پشتیبانی میکند (Herrera-Bravo, Belén et al. 2024). این منجر به کاهش ژن های تنظیم شده STAT3 میشود که شامل فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و سیکلین D1 است که برای رگ زایی و رشد تومور ضروری هستند. در برابر توسعه سرطان، تیمول دارای خواص ضد التهابی و آنتی اکسیدانی است که با کاهش سطح سیتوکین های پیش التهابی، اثر محافظتی ایجاد میکند. اثرات متنوع تیمول بر مسیرهای مولکولی مختلف، پتانسیل آن را به عنوان یک عامل مفید در درمان سرطان برجسته میکند.

اثر سیتوتوکسیک عصاره آویشن بر سرطان سلول سر و گردن بررسی شد. بر اساس رویکرد فارماکوژنومیک، ادراکات جدیدی در مورد حالت مولکولی فعالیت ضد سرطانی آویشن ارائه شده است. اثر محافظتی عصاره خشک آویشن و ترکیب فعال اصلی آن تیمول در برابر آسیب اکسیداتیو مورد ارزیابی قرار گرفت. تیمول از تولید یا انتشار ROS در سلول های تحت تابش اشعه ماوراء بنفش جلوگیری کرد (Waheed, Hussain et al. 2024).



۲-۹. مزایای بالقوه سلامتی

۲-۹-۱. تأثیر بر عفونت های مجاری تنفسی (آسم و سرفه)

آسم یک بیماری التهابی است که با استرس اکسیداتیو قوی همراه است که نتیجه کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی است. این یک وضعیت پیچیده است که توسط سد برگشت پذیر جریان هوا و حساسیت بیش از حد راه هوایی مرتبط با التهاب توصیف میشود و سطح بالایی از آنتی بادی های ایمونوگلوبولین E توسط سیستم ایمنی در مورد آلرژی تولید میشود و سیستم ایمنی با تولید آنتی بادی ها به یک آلرژن بیش از حد واکنش نشان میدهد. آویشن در طب سنتی دارای خواص ضد اسپاسم و برونکولیتیک است و در اروپای مرکزی و جنوبی برای کاهش التهاب مخاطی مجاری تنفسی، برونشیت و سیاه سرفه استفاده میشود.

تیمول و کارواکرول اثر قابل توجهی بر روی ریه ها دارند که باعث تحریک ترشح غشای مخاطی و افزایش حرکت مژگانی در اپیتلیوم برونش میشود (Al-Khalaf 2013). در ترکیب با سایر عصاره های گیاهی، اکثر مطالعات انسانی تخمین زده اند که آویشن در یک کارآزمایی کنترل شده مانند قرص های برونشپیرت که حاوی عصاره های اتانولی آویشن و ریشه *Primulae* هستند با سایر داروهای گیاهی مانند *N-acetylcysteine* و *Ambroxol* برای مطالعه اثربخشی در کودکان مقایسه شد. بزرگسالان در درمان سرفه تخمین زده شد که در مقایسه با سایر داروهای مرجع، برونشپیرت مزیت درمانی بهتری ارائه میدهد. داده های *in vitro* و *in vivo* نشان میدهد که کارواکرول موجود در آویشن با عملکرد برونش در ارتباط است. اثر تیمول را میتوان با روش های تجویزی مانند: استنشاق (کاربرد بینی) تیمول، که اثر سرکوب کننده سرفه را تضمین میکند. خواص ضد باکتریایی و ضد التهابی تیمول در مورد بیماری های مربوط به دستگاه تنفسی، به ویژه در مورد بیماری انسداد مزمن ریه (COPD) و آسم مورد مطالعه قرار گرفته است.

۲-۹-۲. بیماری های دستگاه گوارش (GI)

آب غنی از کارواکرول و آویشن در طب سنتی برای تسکین بیماری های دستگاه گوارش استفاده شده است. داده های بالینی نشانه اولیه ای از فواید دستگاه گوارش آویشن با غلظت های مختلف تیمول و کارواکرول را ارائه میدهد. مطالعات تحقیقاتی بیشتری برای بررسی تأثیر مفید آویشن بر دستگاه گوارش مورد نیاز است. چنین محاسباتی باید شامل ارزیابی اثر مصرف مزمن رژیم غذایی آویشن در سطوحی باشد که در مواد غذایی مختلف مورد استفاده در سلامت دستگاه گوارش مشاهده میشود. آویشن به صورت پودر در هنگام افزودن به محیط کشت باعث مهار رشد *S. typhimurium* شد و اثر آویشن پودر شده بر عملکرد جوجه های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت، زیرا مشخص شد که بر افزایش وزن و بهبود سلامت کلی جوجه های گوشتی تأثیر میگذارد. به همین دلایل، گیاه آویشن به دلیل اثر ضد میکروبی و اثر محرک آن بر دستگاه گوارش انسان و حیوان اهمیت بیشتری پیدا میکند (Al-Kassie 2009).



۳-۹-۲. درمان اختلالات عصبی

کارواکرویل فعالیت تعدیل کننده عصبی متعددی را نشان می‌دهد، به همین دلیل به طور گسترده به عنوان یک افزودنی غذایی استفاده می‌شود و احتمال زیادی برای کاهش اختلالات عصبی دارد. با آزمایش های آزمایشگاهی مشخص شد که α -تربینول، تیمول، کارواکرویل و اسانس آویشن فعالیت های AChE را مهار می‌کنند. این با این واقعیت ثابت شده است که مهار کننده های AChE برای درمان بیماری های عصبی ساخته شده اند. به طور مشابه، کارواکرویل یک اثر مهار کننده AChE را اعمال کرد که ۱۰ برابر بیشتر از تیمول است. مطالعه مدل های حیوانی با استفاده از ترکیبات آویشن حاوی کارواکرویل در رژیم غذایی مفید خواهد بود تا مشاهده شود که آیا در این سطوح، مسائل عصبی را کنترل می‌کنند و از آسیب مغزی جلوگیری می‌کنند. ارزیابی آویشن در ترکیب با سایر مواد گیاهی موجود در بازار برای بهبود نوسانات خلقی در انسان می‌تواند مفید باشد. شواهد بالینی در زمینه مشکلات مربوط به سیستم عصبی، مزایای محافظت عصبی تیمول را گزارش کردند که توجه را عمدتاً به چشم انداز توانایی آن در کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب در اختلالات عصبی معطوف کرده بود. تیمول ممکن است توانایی شناختی را بهبود بخشد و علائم و بروز اضطراب را با توجه به کارآزمایی های بالینی کاهش دهد. اگرچه، روش شناسی و حجم نمونه ای که در این یافته های تحقیق استفاده می‌شود، اغلب متغیر است، که سؤالات مربوط به تکرارپذیری و تعمیم پذیری را ارتقا می‌دهد.

۴-۹-۲. پیشگیری از کم خونی فقر آهن (IDA)

آویشن یک ماده غذایی قابل تحسین است که دارای ویتامین های مختلف (ویتامین A، ویتامین C، ریوفلاوین و تیامین) و همچنین مواد معدنی مانند روی، کلسیم، منیزیم، مس، پتاسیم و از همه مهمتر است. آهنی که نیاز روزانه بدن انسان را برآورده می‌کند (Dauqan and Abdullah 2017). آهن یک عنصر طبیعی است که نقش حیاتی خود را در بسیاری از اعمال بیوشیمیایی، از جمله واکنش های آنزیمی، انتقال الکترون، و انتقال اکسیژن ایفا می‌کند. این عنصر به عنوان فراوان ترین عنصر فلزی در مغز پیشنهاد می‌شود و همچنین در مکانیسم های مرتبط با نورون های اصلی، حاوی میلین سازی آکسون و سنتز انتقال دهنده عصبی نقش دارد. به عنوان عنصر حیاتی برای افزایش هموگلوبین (Hb)، تولید انرژی و گلبول های قرمز عمل می‌کند. کمبود آهن ممکن است باعث خستگی، خستگی، افزایش حساسیت به عفونت و کم خونی شود (Waheed, Hussain et al. 2024). برخی از مطالعات قبلی اثر محافظتی عصاره آویشن را بر بیومارکرهای سرم خون و همچنین بر روی هماتولوژی که به استراتژی پیشگیری از IDA تبدیل می‌شود، نشان دادند. در تحقیقات ضد و نقیض، برخی آزمایش ها این نکته را نشان دادند که اسانس آویشن (پلی فنل ها) به دلیل ترکیبات فعال زیستی مانند ساپونین ها، تانن ها و آلکالوئیدها و اسیدیته GI که آهن را به هم متصل می‌کند و باعث کاهش غلظت آهن خون می‌شود، اثر بازدارنده ای بر جذب آهن و کاهش غلظت آهن خون دارد. اثر هم افزایی مقادیر کافی ویتامین C و ویتامین A موجود در آویشن باعث می‌شود آهن آن متصل نشود، از تشکیل کمپلکس های آهن با سایر مواد مغذی جلوگیری می‌کند و بعداً پتانسیل محافظتی آن را در برابر IDA و سایر اختلالات خونی می‌دهد. نقش مهم اسید اسکوربیک برای جذب آهن غیر هم تغذیه ای یا رژیمی مورد تایید قرار گرفته است. مکانیسم اثر ویتامین C (اسید



اسکوربیک) را میتوان با دو دلیل توصیف کرد که عبارتند از: (۱) احیای آهن فریک به آهن آهنی، که این تصور را به وجود می آورد که پیش نیاز جذب آهن به سلول های مخاطی است و (۲) جلوگیری از تشکیل کمپلکس های آهن نامحلول و غیر قابل جذب (Waheed, Hussain et al. 2024).

۱-۹-۲. جذب آهن در رژیم غذایی

ژنوم پروگزیمال و اثنی عشر دو بخش اول روده کوچک هستند که در آن جذب آهن در نتیجه مکانیسم هایی که در قسمت بالایی دستگاه گوارش رخ میدهد انجام میشود. یک غذای معمولی اروپایی روزانه حدود ۱۴ تا ۱۵ میلی گرم آهن به بدن میرساند و از این میزان، تنها ۹ تا ۱۰ درصد آهن در روده جذب میشود. از سوی دیگر، مرز انتروسیت ها به محلی تبدیل میشود که مسیرهای جذب آهن خاص گزارش شده است و همچنین پروتئین های مختلف وارداتی آهن نیز به دو شکل یونی وجود دارد، به عنوان مثال Fe^{3+} (فرریک) و Fe^{2+} (فروس) هر دوی این ها به عنوان مولکول های آهن غیر هم شناخته میشوند. همچنین یک پروتئین ذخیره ای (فریتین) وجود دارد که آهن غیر هم با آن مرتبط است. در معده، آهن غیر هم در pH اسیدی به شکل کاهش یافته خود، یعنی Fe^{2+} پایدار میشود. اکنون توجه به این نکته قابل توجه است که جذب آهن غیر هم توسط تعدادی از ترکیبات، به ویژه پلی فنول های گیاهی مانند تانن ها، ساپونین ها و فیتات های مشتق شده انجام میشود. در این شرایط، آهن غیر هم که از غلات و سبزیجات به دست می آید میتواند با اثر هم افزایی اسیدهای آلی مانند سیتریک، اسکوربیک، اسید مالیک و غیره جذب شود (Waheed, Hussain et al. 2024).

۲-۹-۲. ذخیره سازی آهن داخل سلولی

آهنی که به میتوکندری یا سیتوپلاسم منتقل میشود، Fe^{3+} است و اجباری است که Fe^{3+} به شکل آهن Fe^{2+} کاهش یابد. به همین ترتیب، DMT1 نیز به عنوان پروتئین مهمی پیشنهاد میشود که در انتقال آهن از واکوئل به سیتوپلاسم نقش دارد. در مولکول فریتین (ذخیره آهن)، آهن با آنیون های هیدروکسید و فسفات همراه است و به شکل Fe^{3+} ذخیره میشود. هر مولکول فریتین میتواند تا حدود ۴۵۰۰ اتم آهن را جدا کند. همچنین هنگامی که آهن در هسته معدنی فریتین جدا شده و درونی میشود، خواص آنزیمی مختلفی دارد و همچنین میتواند آهن Fe^{3+} را به فرم Fe^{2+} تبدیل کند. برخی از اشکال فریتین در سرم انسان وجود دارد و همچنین میتواند در شرایط بهداشتی جدی از جمله اضافه بار آهن و التهاب افزایش یابد (Waheed, Hussain et al. 2024). هنگامی که تولید فریتین سلولی در عدم وجود آهن آزاد سیتوزولی رخ میدهد، ترشح فریتین رخ میدهد. یک نکته جالب توسط تعدادی از محققین مشاهده شد که نشان دادند در ماکروفاژها، فریتین منبع مهمی از آهن برای فعالیت های متابولیکی سلول ها نیست. برای سال ها فریتین سرم برای ارزیابی بیماری های مرتبط با آهن توصیه میشد و اخیراً سطح یا مقدار آن به عنوان نشانه ای از آهن ذخیره شده در بدن بررسی شده است. تغییرات ژنتیکی متعددی در ژن های فریتین گزارش شده است که به ویژه با اختلال سیستم عصبی مرتبط است (Waheed, Hussain et al. 2024).

۳. نتایج

نتایج مقاله بررسی خواص گیاه آویشن به عنوان یک منبع مهم دارویی و غذایی را نشان می‌دهند. آویشن، متعلق به خانواده *Lamiaceae* و جنس *Thymus*، دارای ترکیبات شیمیایی متنوعی است که شامل تیمول و کارواکرول می‌باشد. این ترکیبات مسئول فعالیت‌های ضد میکروبی، ضد التهابی و آنتی اکسیدانی آویشن هستند و به درمان بیماری‌ها و اختلالات تنفسی کمک می‌کنند.

مقاله همچنین به اهمیت آویشن در صنایع غذایی به عنوان یک نگهدارنده طبیعی اشاره دارد. با توجه به افزایش تقاضای مصرف کنندگان برای محصولات ایمن و با کیفیت، استفاده از گیاهان دارویی مانند آویشن در حال افزایش است. ویژگی‌های تغذیه‌ای آویشن شامل پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی است که برای سلامتی ضروری‌اند. تحقیقات نشان می‌دهند که اسانس آویشن دارای خواص ضد عفونی‌کننده و ضد قارچی است و می‌تواند. همچنین، ترکیباتی مانند اوژنول و لینالول در آویشن خواص ضد التهابی و بی‌حسی دارند. در نهایت، مقاله تأکید می‌کند که آویشن به دلیل تنوع ژنتیکی و تأثیر عوامل محیطی بر تولید ترکیبات فعال، پتانسیل بالایی برای استفاده در طب مدرن و سنتی دارد.

۴. بحث و نتیجه گیری

این مقاله مروری به بررسی خواص ضد میکروبی، ضد التهابی و آنتی اکسیدانی گیاه آویشن پرداخت و نشان داد که این گیاه به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات شیمیایی با خواص دارویی شناخته می‌شود. نتایج تحقیق نشان می‌دهد که ترکیبات موجود در آویشن، از جمله تیمول و کارواکرول، دارای اثرات قوی ضد باکتریایی و ضد عفونی‌کننده هستند. علاوه بر این، آویشن به عنوان یک منبع غذایی سالم و طبیعی شناخته شده است که می‌تواند به بهبود سلامت عمومی کمک کند. این گیاه همچنین در طب سنتی برای درمان مشکلات تنفسی و عفونت‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته است. با توجه به افزایش تقاضا برای مواد غذایی طبیعی و سالم، آویشن می‌تواند نقش مهمی در تأمین نیازهای تغذیه‌ای ایفا کند. در نتیجه، گیاه آویشن نه تنها به عنوان یک ادویه خوشمزه در آشپزی بلکه به عنوان یک منبع دارویی با خواص متنوع شناخته می‌شود. استفاده از آویشن در صنایع غذایی و دارویی می‌تواند به کاهش مصرف مواد شیمیایی و مصنوعی کمک کند و همچنین به حفظ سلامت انسان‌ها کمک نماید. بنابراین، تحقیقات بیشتر در زمینه خواص دارویی این گیاه ضروری است تا بتوان از پتانسیل‌های آن بهره‌برداری بیشتری کرد.

منابع

- Abu-Darwish, M. S. and Z. H. Abu-Dieyeh (2009). "Essential oil content and heavy metals composition of *Thymus vulgaris* cultivated in various climatic regions of Jordan." *Int. J. Agric. Biol* **11**(1): 59-63.
- Al-Kassie, G. A. (2009). "Influence of two plant extracts derived from thyme and cinnamon on broiler performance".
- Al-Khalaf, M. I. (2013). "Thyme and thymol effects on induced bronchial asthma in mice." *Life Sci. J* **10**(2): 693-699.

- Arceusz, A., I. Radecka and M. Wesolowski (2010). "Identification of diversity in elements content in medicinal plants belonging to different plant families." *Food chemistry* 120(1): 52-58.
- Ayesh, B. M., A. A. Abed and D. a. M. Faris (2014). "In vitro inhibition of human leukemia THP-1 cells by *Origanum syriacum* L. and *Thymus vulgaris* L. extracts." *BMC research notes* 7: 1-6.
- Bakkali, F., S. Averbeck, D. Averbeck and M. Idaomar (2008). "Biological effects of essential oils—a review." *Food and chemical toxicology* 46(2): 446-475.
- Borugă, O., C. Jianu, C. Mișcă, I. Goleț, A. Gruia and F. Horhat (2014). "Thymus vulgaris essential oil: chemical composition and antimicrobial activity." *Journal of medicine and life* 7(Spec Iss 3): 56.
- Calo, J. R., P. G. Crandall, C. A. O'Bryan and S. C. Ricke (2015). "Essential oils as antimicrobials in food systems—A review." *Food control* 54: 111-119.
- Dauqan, E. M. and A. Abdullah (2017). "Medicinal and functional values of thyme (*Thymus vulgaris* L.) herb." *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 5(2): 17-22.
- de Oliveira, T. M., R. B. F. de Carvalho, J. H. F. da Costa, G. A. L. de Oliveira, A. A. de Souza, S. G. de Lima and R. M. de Freitas (2015). "Evaluation of p-cymene, a natural antioxidant." *Pharmaceutical biology* 53(3): 423-428.
- Herrera-Bravo, J., L. H. Belén, M. E. Reyes, V. Silva, S. Fuentealba, C. Paz, P. Loren, L. A. Salazar, J. Sharifi-Rad and D. Calina (2024). "Thymol as adjuvant in oncology: molecular mechanisms, therapeutic potentials, and prospects for integration in cancer management." *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*: 1-26.
- Hosseinzadeh, S., A. Jafarikukhdan, A. Hosseini and R. Armand (2015). "The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of *Thymus vulgaris*." *International Journal of Clinical Medicine* 6(9): 635-642.
- Hosseinzadeh, S., A. J. Kukhdan, A. Hosseini and R. Armand (2015). "The application of *Thymus vulgaris* in traditional and modern medicine: a review." *Global J Pharmacol* 9: 260-266.
- Javed, H., S. Erum, S. Tabassum and F. Ameen (2013). "An overview on medicinal importance of *Thymus vulgaris*." *Journal of Asian Scientific Research* 3(10): 974.
- Maggini, S., P. Maldonado, P. Cardim, C. Fernandez Newball and E. Sota Latino (2017). "Vitamins C, D and zinc: synergistic roles in immune function and infections." *Vitam Miner* 6(167): 237.6-1318/1000167
- Malik, N. R., K. Yadav and A. Verma (2016). "Optimization of process parameters in extraction of Thyme oil using response surface methodology (RSM)." *International Journal of Science, Engineering and Technology* 4(1): 248-256.
- Mamadaliyeva, N., D. Akramov, E. Ovidi, A. Tiezzi, L. Nahar, S. Azimova and S. Sarker "Aromatic medicinal plants of the Lamiaceae family from Uzbekistan: ethnopharmacology, essential oils composition, and biological activities. *Medicines*. 2017; 4 (1): 8. ISSN 2305-6320 ".doi. org/10.3390/medicines4010008.
- Mason, S. E., K. A. Mullen, K. L. Anderson, S. P. Washburn, J. L. Yeatts and R. E. Baynes (2017). "Pharmacokinetic analysis of thymol, carvacrol and diallyl disulfide after intramammary and topical applications in healthy organic dairy cattle." *Food Additives & Contaminants: Part A* 34(5): 740-749.
- Mottaleb, M. A., M. J. Mezziani and M. R. Islam (2019). "Solid-phase Microextraction and Its Application to Natural Products and Biological Samples." *Encyclopedia of Analytical Chemistry*: 1-28.
- Nanasombat, S., J. Thonglong and J. Jitlakha (2015). "Formulation and characterization of novel functional beverages with antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities." *Functional Foods in Health and Disease* 5(1): 1-16.
- Paudel, N., M. Rai, S. Adhikari, A. Thapa, S. Bharati, B. Maharjan, R. L. S. Shrestha, K. Rav and A. V. Singh (2024). "Green extraction, phytochemical profiling, and biological evaluation of *dysphania ambrosioides*: an in silico and in vitro medicinal investigation." *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 30(2): 97-114.
- Prasanth Reddy, V., K. Ravi Vital, P. Varsha and S. Satyam (2014). "Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties." *Med Aromat Plants* 3(164): 2167-0412.
- Sharangi, A. and S. Guha (2013). "Wonders of leafy spices: Medicinal properties ensuring Human Health." *Science International* 1(9): 312-317.
- Tabasi, E., M. Zokaei, A. Jafari and J. Vaezi (2015). "Numerical taxonomy of the *Thymus* (Lamiaceae) in Northeast of Iran." *Taxonomy and Biosystematics* 7(22): 81-92.
- Tabassi, E., M. Zokaei, A. Jafari and J. Vaezi (2016). "Nutlet micromorphology study of some species of *Thymus* L.(Lamiaceae) in NE Iran." *Advanced Studies in Biology* 8(3): 111-117.
- Tomescu, A., C. Rus, G. Pop, E. Alexa, I. Radulov, I.-M. Imbrea and M. Negrea (2015). "Researches regarding proximate and selected elements composition of some medicinal plants belonging to the lamiaceae family".



- Tornuk, F., S. Karaman, I. Ozturk, O. S. Toker, B. Tastemur, O. Sagdic, M. Dogan and A. Kayacier (2013). "Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile." Industrial Crops and Products 46: 124-131.
- Waheed, M., M. B. Hussain, F. Saeed, M. Afzaal, A. Ahmed, R. Irfan, N. Akram, F. Ahmed and G. G. Hailu (2024). "Phytochemical Profiling and Therapeutic Potential of Thyme (Thymus spp.): A Medicinal Herb." Food Science & Nutrition.
- Yavari, A., V. Nazeri, F. Sefidkon and M. E. Hassani (2010). "Influence of some environmental factors on the essential oil variability of Thymus migricus." Natural product communications 5(6): 1934578X1000500629.



بررسی اثر اکتینو باکتریهای جداسازی شده از ریزوسفر بر رشد گیاه گل گاوزبان

انسیه صالح قمی^{۱*}، بیتا باهنر^۲، سید علیرضا اعتصامی^۳، غلام حیدر حسنی^۳

^۱ گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کوثر بجنورد، بجنورد، ایران (esaleh@kub.ac.ir)

^۲ گروه زیست شناسی گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران

^۳ شرکت رشد آزما، کرج، ایران

چکیده

گل گاوزبان (*Echium amoenum*) به عنوان یک داروی گیاهی در درمان سرفه و بیماریهای تنفسی موثر است. یکی از روشهای افزایش سرعت رشد و جوانه زنی در گیاهان و در نتیجه صرفه جویی در زمان و هزینه، استفاده از متابولیتهای میکروبی به عنوان کود میکروبی است. در مطالعه حاضر اکتینوباکتریهای دریاچه حوض سلطان به دلیل تنوع متابولیتهایی که تولید میکنند غربالگری شده و تاثیر آنها بر رشد گیاه گل گاوزبان مورد مطالعه قرار گرفتند. محیطهای شور به عنوان منابع عمدتاً ناشناخته‌ای برای اکتینو باکتری‌ها محسوب می‌شوند که پتانسیل تولید متابولیت‌های ثانویه با فعالیت بیولوژیکی متنوع و جدید را دارند. در این مطالعه، مجموعاً ۲۷ سویه اکتینو باکتری از ریزوسفر (۸۲٪) گیاهان اطراف دریاچه حوض سلطان ایران جمع‌آوری شد. به منظور بررسی اثر اکتینوباکتریها بر رشد گیاه گل گاوزبان، دانه‌های این گیاهان به اسپور اکتینوباکتریها آغشته شدند و در گلدان حاوی پرلیت و کوکوپیت کاشته شدند. از میان اکتینو باکتری‌های مورد مطالعه، گیاه گل گاوزبان بیشترین تعداد برگ و طول ساقه را در حضور سویه act26 در طی ۲۰ روز از خود نشان داد. ژن 16s rRNA سویه act26 تکثیر شد و پس از تعیین توالی در پایگاه داده EZ taxon، بلاست شده و مورد شناسایی مولکولی قرار گرفت. توالی ژن 16s rDNA این سویه بیشترین شباهت را (۹۹.۲٪) به باکتری *Nocardiopsis deserti* نشان داد. نهایتاً توالی این ژن در پایگاه داده NCBI تحت شماره دسترسی OM540366 ثبت شد.

واژگان کلیدی: باکتریهای افزایش دهنده رشد گیاه، محیط شور، نوکاردیوپسیس



۱. مقدمه

گل گاوزبان (*Echium amoenum*) یکی از گیاهان دارویی مهم در طب سنتی ایران است. این گیاه وحشی است و از برگ و گل آن معمولاً برای تهیه عرقیات یا شربت های گیاهی استفاده می شود. این گیاه به دلیل غنی بودن از اسیدهای چرب امگا-۳، ویتامین ها و آنتی اکسیدان ها، درمان اختلالات مختلف از جمله التهاب و بیماری های قلبی است. همچنین گل گاوزبان به عنوان یک منبع مهم از روغن های گیاهی و مواد مغذی، می تواند به بهبود کیفیت رژیم غذایی کمک کند (Burchardt et al., 2018).

لزوم پیدا کردن راه هایی برای افزایش رشد گیاهان دارویی به منظور دستیابی به تولید سریع تر این گیاهان باعث می شود که از نظر زمان و هزینه های نگهداری، صرفه جویی قابل توجهی حاصل گردد. با توجه به اینکه بسیاری از گیاهان دارویی به مدت زمان طولانی برای رشد و شکوفایی نیاز دارند، روش های نوین و کارآمد می توانند نقش مهمی در تسریع این فرآیند ایفا کنند. این موضوع نه تنها به تسریع در عرضه گیاهان دارویی کمک می کند، بلکه ممکن است به بهبود کیفیت و کمیت قسمت های مؤثر گیاه که حاوی متابولیت های فعال بیولوژیک هستند، منجر شود. به طور خاص، برخی از بخش های گیاهان نظیر برگ ها، گل ها و ساقه ها دارای ترکیباتی هستند که به عنوان مواد اولیه دارویی مورد استفاده قرار می گیرند و افزایش عملکرد این قسمت ها می تواند تأثیر بسزایی بر دسترسی به این منابع ارزشمند داشته باشد (Gworek et al., 2021).

از جمله این روش ها، استفاده از کودهای میکروبی به عنوان یک رویکرد نوین و مؤثر است. این کودها معمولاً شامل میکروارگانیسم هایی هستند که به بهبود شرایط رشد گیاهان کمک می کنند و می توانند فرایندهایی مانند جذب مواد مغذی، افزایش قابلیت تحمل به تنش های محیطی و تحریک رشد ریشه را تسریع نمایند. تحقیقات نشان داده اند که استفاده از این نوع کودها می تواند به طور قابل توجهی عملکرد و کیفیت گیاهان دارویی را افزایش دهد و به عنوان یک راهکار پایدار در کشاورزی طبیعی و ارگانیک مطرح گردد (Kalsoom et al., 2021). همچنین، با توجه به اهمیت روزافزون گیاهان دارویی و نیاز به تولید پایدار آنها، بررسی و مطالعه بر روی میکروبیوتای خاک و استفاده بهینه از آن به عنوان یک منبع پتانسیل برای کودهای میکروبی می تواند زمینه ساز بهبود روش های کشت و افزایش عملکرد کشاورزی در این زمینه باشد. به طور کلی، این روش ها نه تنها به افزایش رشد و کیفیت گیاهان دارویی کمک می کنند، بلکه می توانند به حفظ محیط زیست و منابع طبیعی نیز یاری رسانند (Kalsoom et al., 2021).

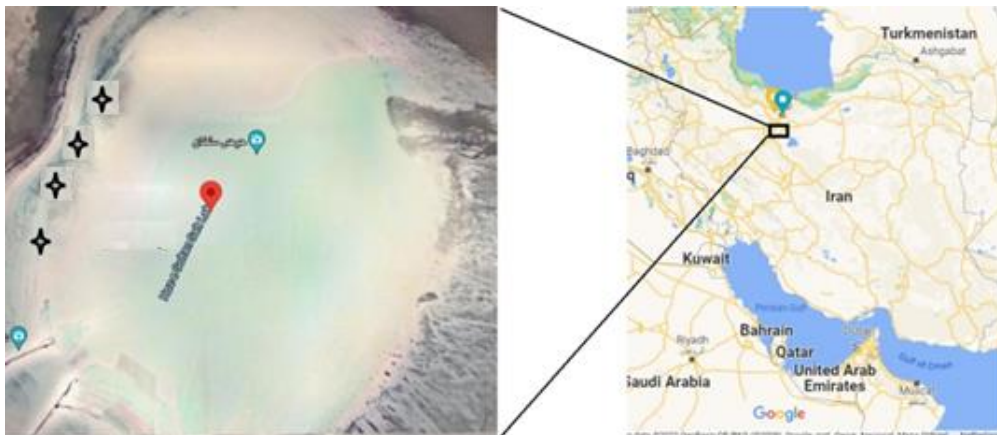
محیط های آبی شور در تمام نقاط جهان گسترده هستند و منبع ارزشمندی برای جداسازی باکتری ها به منظور پتانسیل های بیوتکنولوژیکی به شمار می آیند (Oren, 2002). اکتینو باکتری ها به عنوان یکی از گروه های مهم میکروارگانیسم های ساکن در محیط های شور به طور ویژه ای مورد توجه قرار گرفته اند. این میکروارگانیسم ها می توانند در شرایط نمک بالا بقای خود را حفظ کنند و تولید متابولیت های ثانویه همچون آنتی بیوتیک ها و آنزیم ها را از خود نشان دهند (Matsumoto et al., 2018). همچنین این باکتری ها می توانند با بهبود تجزیه مواد مغذی و افزایش دسترسی گیاه به آن ها، رشد و توسعه گیاهان را ارتقا دهند. دریاچه حوض سلطان، یک دریاچه فصلی شور به مساحت حدود ۲۴ کیلومتر مربع است که در مرز دشت کویر در استان قم واقع شده است. عمق این دریاچه بین ۰.۴۵ تا ۱ متر متغیر است و عمق لایه نمک آن بین ۲۰ تا ۴۶ متر است pH آب و

رسوبات این دریاچه بین ۶.۵ تا ۸.۲ متفاوت است. در این گزارش، سویه های اکتینو باکتری از دریاچه حوض سلطان جداسازی شده و بهبود رشد گیاه توسط این باکتریها مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. منطقه مورد مطالعه

دریاچه حوض سلطان اکوسیستمی بکر است که در ارتفاع ۷۹۰ متری از سطح دریا و در عرض جغرافیایی $34^{\circ} 30' N$ و طول جغرافیایی $51^{\circ} 52' E$ واقع شده است (شکل ۱). چهار نمونه از خاک های ریزوسفری اطراف این دریاچه در مکان های مختلف جمع آوری و در دمای ۴ درجه سانتی گراد در آزمایشگاه نگهداری شد. دامنه pH نمونه ها بین ۶.۸ تا ۸.۱ بود.



شکل ۱. دریاچه حوض سلطان و مکان نمونه برداری از ریزوسفر گیاهان اطراف دریاچه

2-2. روش تحقیق

برای جداسازی اکتینو باکتری ها، از تیمار ۱۰۰ درجه سانتی گراد بر روی خاک های ریزوسفری به مدت یک ساعت و محیط کشت آگار نشاسته کازئین (اجزا: نشاسته ۱۰ گرم، کازئین ۳ گرم، نمک طعام ۵۰ گرم، آگار ۱۵ گرم) استفاده شد. pH محیط کشت روی ۸.۰ تنظیم گردید. کشت ها در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد به مدت ۱ تا ۸ هفته گرماگذاری شدند. کلنی های اکتینو باکتری که بر روی پلیت رشد کردند، برای خالص سازی بیشتر جمع آوری و در گلیسرول ۳۰٪ در دمای ۲۰ - درجه سانتی گراد نگهداری شدند (Kieser et al. 2000).

به منظور بررسی تاثیر سویه های اکتینو باکتری بر رشد گیاه، ابتدا دانه های گیاه *Echium* با محلول ۲.۵٪ NaClO به همراه Tween 80 به مدت ۱۰ دقیقه شسته و سپس به مدت ۱۰ دقیقه به طور مداوم در آب مقطر استریل شسته شدند. دانه ها با غوطه ور شدن در سوسپانسیون اسپورهای باکتری در غلظت 1×10^6 CFU/ml تلقیح شدند. مخلوطی از ۳۰۰ گرم پرلیت و کوکوپیت به نسبت ۱:۳ در هر گلدان پر شده و شش دانه *Echium* تلقیح شده در عمق ۱ سانتیمتر در هر گلدان قرار داده شد. گلدان ها به



مدت ۸ هفته در یک گلخانه گرماگذاری شدند. گیاهانی که تلقیح نشده بودند به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند (Balseiro-Romero et al. 2016).

شناسایی مولکولی اکتینوباکتری انتخاب شده با استفاده از روش تکثیر ژن *16s rDNA* انجام شد و استخراج DNA ژنومی طبق روش اصلاح شده Marmur مشخص گردید (Marmur, 1961). محلول حاوی بیومس باکتریایی با بافر TE سوسپانسیون داده شد و با آنزیم لیزوزیم دیواره سلولی لیز گردید. پس از آن، با استفاده از محلول ۱۰ درصد SDS غشاء سلولی تخریب شده و پروتئین‌ها با محلول کلرید سدیم ۵ مولار و کلروفرم رسوب داده شدند. برای رسوب گذاری DNA، از ایزوپروپانول سرد بهره‌برداری شد. DNA ژنومی در بافر TE به صورت محلول نگهداری شد.

برای تکثیر ژن *16s rDNA* از پرایمرهای (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3' و 5'-27F (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') استفاده شد که در آن M به معنای A یا C است (Kim et al., 2012). واکنش PCR با دمای اولیه ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰۰ ثانیه آغاز شد و در ۳۰ چرخه شامل دماهای ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۶۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی گراد برای ۶۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۶۰ ثانیه ادامه پیدا کرد. واکنش با ۴۲۰ نانومتر در دمای سنتز ۷۲ درجه سانتی گراد به پایان رسید. محصولات واکنش PCR با استفاده از ژل الکتروفورز مورد ارزیابی قرار گرفتند و برای تعیین توالی، نمونه‌ها به شرکت ماکروژن در کره جنوبی ارسال شدند.

برای تحلیل توالی ژن *16s rDNA* سویه act26، از نرم‌افزار Bioedit استفاده گردید. توالی *16s rDNA* این سویه با توالی‌های موجود در پایگاه اطلاعاتی EzTaxon-e server مقایسه شد و شباهت‌ها بررسی گردید (Kim et al., 2012). همچنین، نرم‌افزار ClustalX برای هم‌ردیف‌سازی توالی‌های مشابه با act26 که از EzTaxon استخراج شده بودند به کار رفت و برای ترسیم درخت فیلوژنی از نرم‌افزار MEGA6 با استفاده از الگوریتم Maximum Likelihood استفاده شد.

۳. نتایج

نمونه‌های جمع‌آوری شده از دریاچه حوض سلطان تحت تأثیر دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد تیمار شدند قرار گرفتند و بر روی محیط کشت نشاسته کازئین کشت داده شدند. در مجموع، ۲۷ سویه اکتینوباکتری از نمونه‌های محیطی جمع‌آوری شده جداسازی و خالص‌سازی شدند. براساس ویژگی‌هایی نظیر رنگ میسلیم‌های هوایی و مورفولوژی اسپور، مشخص شد که این سویه‌ها اکتینوباکتری هستند. رنگ میسلیم‌های هوایی در این سویه‌ها شامل سفید (نه سویه)، زرد تا کرم رنگ (شش سویه)، قهوه‌ای (چهار سویه)، نارنجی (چهار سویه)، خاکستری (دو سویه)، آبی (یک سویه) و سبز (یک سویه) بود.

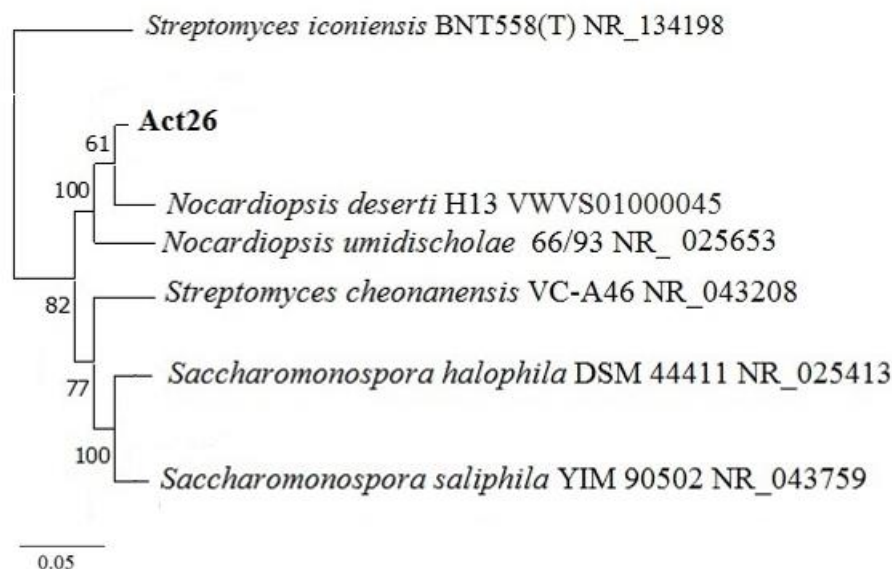
پس از بررسی باکتریهای ریزوسفری بر رشد گیاه گل گاو زبان، مشخص شد که دانه‌های گیاه گل گاو زبان در حضور سه جدایه act2، act5 و act13 در عرض سه روز جوانه زدند. در حالی که دانه‌های این گیاه بدون اسپورهای اکتینوباکتری در طی پنج روز جوانه میزدند. همچنین، رشد گیاه گل گاو زبان در حضور سویه act26 در طول ۸ هفته بیشترین بود و بالاترین تعداد برگ‌ها و طول ساقه‌ها را داشت (جدول ۱).



جدول ۱. تاثیر مثبت سویه های اکتینوباکتری بر رشد گیاه گل گاو زبان.

Act2	Act5	Act13	Act26	شاهد	سویه ها
13±2	11±2	12±2	16±3	11±2	تعداد برگها
24±2	21±3	22±2	28.5±2	19.5±3	طول ساقه
3	3	3	4	5	زمان رویش

سویه منتخب act26 به منظور شناسایی مولکولی انتخاب شد. بعد از استخراج DNA ژنومی، واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) با هدف تکثیر ژن *16s rDNA* انجام شد. پس از توالی یابی، آنالیز این ژن نشان داد که سویه act26 به میزان ۹۹/۲ درصد با گونه *Nocardiosis deserti* مشابهت دارد. درخت فیلوژنی این سویه در شکل ۲ ارائه شده است (شکل ۲).



شکل ۲. درخت فیلوژنی سویه act26 که به میزان ۹۹/۲ درصد با گونه *Nocardiosis deserti* مشابهت دارد. تعداد بوت استرپ ۱۰۰۰ بار است. و از گونه *Streptomyces iconiensis* به عنوان گروه خارجی استفاده شده است. این درخت با الگوریتم maximum likelihood ترسیم شده است. بار برابر ۰/۰۵ است.

۴. بحث و نتیجه گیری

گیاهان دارویی به دلیل خواص دارویی و کاربردهای فراوانی که دارند، اهمیت ویژه ای در کشاورزی و صنایع دارویی ایفا می کنند. با توجه به افزایش تقاضا برای این گیاهان و همچنین نیاز به بهبود کیفیت و عملکرد آنها، شناسایی و به کارگیری روش های مؤثر برای تسریع در رشد و جوانه زنی این گیاهان ضروری به نظر می رسد. یکی از گیاهان دارویی مهم، گل گاوزبان است که در بسیاری از مناطق به عنوان یک گیاه دارویی شناخته شده و استفاده می شود. این گیاه به خاطر خواص ضد التهابی،



آنتی اکسیدانی و اثرات مثبت بر سیستم تنفسی و قلبی، به عنوان یک منبع ارزشمند دارویی شناخته می شود (Burchardt et al., 2018).

استفاده از اکتینو باکتری ها به عنوان کود میکروبی یکی از موثرترین روشهای بهبود رشد گیاهان است، به گونه ای که استرپتومایست های ریزوسفری می توانند با تولید ترکیبات ضدقارچی، از ریشه گیاهان محافظت کنند. این میکروارگانیسم ها همچنین هورمون های رشد گیاهی مانند جیبرلین و ترکیبات شبیه اکسین تولید می کنند که مسئول تقسیم، انبساط و تمایز سلولی هستند (Bloemberg and Lugtenberg, 2001). در این مطالعه، تأثیر اکتینو باکتری های جداسازی شده بر رشد و جوانه زنی گیاه گل گاو زبان بررسی شد. نتایج نشان داد که سه سویه متعلق به جنس *Streptomyces* موجب تسریع در جوانه زنی دانه های این گیاه شده اند. همچنین، یکی از سویه های جنس *Nocardiopsis* باعث افزایش طول ساقه و تعداد برگ های گیاه گل گاو زبان در مدت ۲۰ روز گردید. تحقیقات دیگر نشان داده اند که جنس *Streptomyces* به دلیل تولید سایدرافور و ایندول-۳-استیک اسید (IAA)، محلول سازی فسفر و تولید آنزیم ACC دی آمیناز، بیشترین اثر را بر رشد گیاهان نسبت به سایر باکتری ها دارد (Kruasuwan and Thamchaipenet, 2016).

در تحقیقات دیگری نشان داده شده است که به کارگیری اکتینو باکتری ها می تواند به بهبود رشد و عملکرد گل گاوزبان کمک نماید. این باکتری ها با تحریک فرآیندهای متابولیکی و تولید هورمون های رشد، به افزایش عملکرد گیاه و همچنین مقاومت آن ها در برابر تنش های محیطی یاری می رسانند (Davis et al., 2021). در شرایط نامساعد، به ویژه شوری خاک، این تأثیرات می توانند بارزتر بوده و به بهبود کیفیت و عملکرد محصولات کشاورزی کمک کنند (Zhang et al., 2020). همچنین در مطالعه ای نشان داده شد که استفاده از اکتینو باکتری ها منجر به افزایش میزان کلروفیل و بهبود فرآیند فتوسنتز در این گیاه می شود (Khamna & Yokthong, 2018). همچنین، این باکتری ها می توانند از طریق تولید ترکیبات ضد میکروبی، مقاومت گیاه را در برابر بیماری ها افزایش دهند (Khan & Zaidi, 2019). در تحقیقی دیگر اثر محلول پاشی ترکیبات حاوی اکتینو باکتری ها بر روی گیاه گاوزبان بررسی شد. نتایج نشان داد که این محلول پاشی باعث افزایش معنی دار ارتفاع بوته و تعداد ساقه های جانبی نسبت به گروه کنترل شد (El-Tarabilly & Sivasithamparam, 2006).

اکتینو باکتری ها و دیگر باکتری ها در محیط های شور به عنوان منابع غنی از ترکیبات زیستی و کاربردهای بیوتکنولوژی شناخته می شوند و تأثیر مثبت آن ها بر رشد گیاهان، می تواند به بهبود تولید و کیفیت محصولات کشاورزی کمک نماید.

تشکر و قدردانی

ما از دکتر حمیدرضا جعفری به خاطر کمک ایشان در جمع آوری نمونه ها قدردانی می کنیم. همچنین نویسندگان با سپاس از دانشگاه خوارزمی به خاطر حمایت از این مطالعه، از همکاری ها و حمایت های انجام شده تشکر می نمایند.

منابع

Balseiro-Romero M, Gkorezis P, Kidd PS, Van Hamme J, Weyens N, Monterroso C, Vangronsveld J. (2017) Use of plant growth promoting bacterial strains to improve *Cytisus striatus* and *Lupinus luteus* development for potential application in phytoremediation. *Sci Total Environ* 581: ۶۷۶-۸۸.



- Bloemberg GV, Lugtenberg BJ (2001) Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr Opin Plant Biol* 4(4): 343-350.
- Burchardt, P., et al. (2018). "The potential of Echium oil as a source of omega-3 fatty acids." *Nutrients*, 10(7): 972 .
- Davis, J. R., et al. (2021). "Microbial inoculants for enhancing medicinal plant growth: A review." *Agricultural Sciences*, 12(4): 476-489.
- El-Tarabily, K.A., & Sivasithamparam, K. (2006). Enhancement of Plant Growth and Disease Resistance by Actinobacteria. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(8): 2311-2320.
- Gworek, B., Kijeńska, M., Wrzosek, J. and Graniewska, M., (2021). Pharmaceuticals in the soil and plant environment: a review. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(4):p.145.
- Kalsoom, M., Rehman, F.U., Shafique, T.A.L.H.A., Junaid, S.A.N.W.A.L., Khalid, N., Adnan, M., Zafar, I.R.F.A.N., Tariq, M.A., Raza, M.A., Zahra, A. and Ali, H., (2020). Biological importance of microbes in agriculture, food and pharmaceutical industry: A review. *Innovare Journal of Life Sciences*, 8(6): pp.1-4.
- Keiser T, Bibb MJ, Buttner MJ Charter KF, Hopwood DA (2000) Practical streptomyces genetics. The John Innes Foundation. Norwich.
- Khamna, S., & Yokthong, K. (2018). Actinobacteria as a Source of Bioactive Compounds for Plant Protection. *Biocontrol Science and Technology*, 28(5): 493-507.
- Khan, M.S., & Zaidi, A. (2019). Effect of Endophytic Actinobacteria on Growth and Yield of Medicinal Plants. *Plant Growth Regulation*, 89(3): 393-404.
- Kim, O.S., Cho, Y.J., Lee, K., Yoon, S.H., Kim, M., Na, H., Park, S.C., Jeon, Y.S., Lee, J.H., Yi, H. and Won, S., (2012). Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 62(Pt_3): pp.716-721.
- Kruasuwan W, Thamchaipenet A, (2016) Diversity of culturable plant growth-promoting bacterial endophytes associated with sugarcane roots and their effect of growth by co-inoculation of diazotrophs and actinomycetes. *J Plant Growth Regul* 35(4): 1074-1087.
- Marmur, J., (1961). A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from micro-organisms. *Journal of molecular biology*, 3(2), pp.208-IN1.
- Matsumoto, J., et al. (2018). "Halophilic actinobacteria as a source of bioactive compounds." *Journal of Bacteriology Research*, 10(1): 12-18.
- Oren A, (2006) Halophilic microorganisms and their environments (Vol. 5). Springer Science & Business Media.
- Zhang, X., et al. (2020). "Influence of beneficial microorganisms on plant stress responses." *Environmental and Experimental Botany*, 173: 103918.



استخراج ترکیبات فنلی با استفاده از حلال‌های اتکتیک عمیق

مرضیه باباش‌پور اصل^{۱*}، الناز فرج‌زاده معماری تبریزی^۲، افسانه یوسف‌پور دخانه^۳

^{۱*} گروه علوم باغبانی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران (babashpour@iau.ac.ir)

^۲ گروه زراعت، واحد ملکان، دانشگاه آزاد اسلامی، ملکان، ایران

^۳ گروه علوم باغبانی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

چکیده

ترکیبات فنلی، مولکول‌های آلی هستند که دارای یک حلقه فنل با یک یا چند گروه هیدروکسیل (OH) متصل به اتم‌های کربن می‌باشند که به تنوع ساختاری آن‌ها کمک می‌کنند. این ترکیبات به طور گسترده‌ای در طبیعت وجود دارند و به دسته‌های مختلفی از جمله فنل‌های ساده، فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک، لیگنان‌ها، استیلین‌ها و تانن‌ها تقسیم‌بندی می‌شوند که هر یک خواص شیمیایی و بیولوژیکی خاص خود را دارند. عملکرد ترکیبات فنلی به ساختار آن‌ها وابسته است و شناسایی دقیق آن‌ها برای درک خواص بالقوه‌شان ضروری است. این ترکیبات نقش مهمی در دفاع گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفا می‌کنند و به عنوان آنتی‌اکسیدان‌هایی عمل می‌کنند که آسیب‌های اکسیداتیو را کاهش می‌دهند. این مطالعه به بررسی استخراج ترکیبات فنلی با استفاده از حلال‌های سبز، به ویژه حلال‌های اتکتیک عمیق (DES) می‌پردازد که مزایای بیشتری نسبت به حلال‌های سنتی دارند. روش‌های استخراج مختلف بهینه‌سازی شده‌اند تا بازده و خلوص ترکیبات فنلی از بیوماس گیاهی را افزایش دهند. نتایج نشان می‌دهند که شرایط بهینه استخراج تأثیر قابل توجهی بر محتوای کل فنل (TPC) دارد و کارایی DES را در مقایسه با حلال‌های مرسوم تأیید می‌کند. این تحقیق اهمیت توسعه تکنیک‌های استخراج پایدار برای بهره‌برداری از مزایای سلامتی مرتبط با ترکیبات فنلی در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی را مورد تأکید قرار می‌دهد.

واژگان کلیدی: حلال سبز، حلال ارگانیک، فولین سیو کالتو، DES



۱. مقدمه

ترکیبات فنلی ترکیبات آلی اند که حاوی یک حلقه فنل با گروه هیدروکسیل (OH) متصل به یک یا چند اتم کربن هستند که به تنوع ساختاری آنها کمک می کند. آنها به طور گسترده در طبیعت در اشکال مختلف در دسترس هستند. آرایش ساختاری این گروه های هیدروکسیل در یک حلقه معطر بر خواص شیمیایی و بیولوژیکی آنها تأثیر می گذارد که معمولاً به عنوان فنل های ساده، فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک، لیگنان ها، استیلبن ها و تانن ها طبقه بندی می شوند که بر اساس ساختارها و خواص شیمیایی خاص آنها طبق شکل ۱ طبقه بندی شدند (Hano et al., 2020). از آنجایی که عملکرد ترکیبات فنلی به ساختار آنها، از جمله موقعیت گروه های هیدروکسیل، الگوهای کونژوگاسیون و جایگزینی بستگی دارد، شناسایی مناسب برای درک خواص آنها برای کاربردهای بالقوه، بسیار ضروری است. از نظر ساختاری، ترکیبات فنلی ساده از یک حلقه فنل منفرد با گروه های هیدروکسیل متصل به هر یک از شش اتم کربن آن تشکیل شده است؛ در حالی که اسیدهای فنولیک دارای یک گروه کربوکسیلیک متصل به حلقه فنل هستند. لیگنان ها از دو واحد فنلی تشکیل شده اند که توسط چهار اتم کربن به هم متصل شده اند، استیلبن ها این واحدها را با دو کربن با پیوند دوگانه به هم متصل می کنند. فلاونوئیدها با حضور حلقه های فنلی متعدد مشخص می شوند، در حالی که تانن ها دارای ساختار پیچیده ای هستند. برخی از عملکردهای اصلی فلاونوئیدها در گیاهان عبارتند از ایجاد رنگ و رنگدانه، لیگنان ها از ساختار حمایت می کنند، اسیدهای فنولیک رشد گیاه را تنظیم می کنند و با عوامل بیماری زا مبارزه می کنند، تانن ها مزه گس را به وجود می آورند و فنل های ساده باعث ایجاد عطر و طعم می شوند (Pandey and Rizvi, 2009). به علاوه، این ترکیبات دارای خواص آنتی اکسیدانی هستند که نقش مهمی در مکانیسم های دفاعی گیاه در برابر عوامل تنش زا ایفا می نمایند.

هنگامی که گیاهان به دلیل تنش های زیستی مانند حشرات، قارچ ها، حمله پرندگان و شرایط محیطی مانند شوری خاک، خشکی، درجه حرارت شدید، اشعه ماوراء بنفش و غیره تحت تنش قرار می گیرند، گونه های فعال اکسیژن (ROS) را آزاد می کنند که در صورت تولید بیش از حد، باعث آسیب اکسیداتیو سلولی می شوند (Tripathy and Oelmüller, 2012). گونه های رادیکال آزاد تولید شده توسط آنتی اکسیدان هایی که تنش اکسیداتیو را کاهش داده و گیاه را از آسیب سلولی محافظت می کنند، خنثی می شوند. ترکیبات فنلی به عنوان یک گروه مهم از مولکول های آنتی اکسیدانی، نقش مهمی در حفظ سلامت گیاه و مبارزه با تنش اکسیداتیو دارند. آنها به دلیل ساختار شیمیایی خود به عنوان آنتی اکسیدان عمل می کنند که به آنها اجازه می دهد اتم های هیدروژن یا الکترون ها را به رادیکال های آزاد اهدا کنند، در نتیجه آنها را تثبیت کرده و از آسیب بیشتر به سلول ها و بافت ها جلوگیری می کنند. این فرآیند به کاهش تنش اکسیداتیو و التهاب در بدن کمک می کند. این ترکیبات به طور گسترده در گیاهان توزیع می شوند و در بسیاری از غذاهای مبتنی بر گیاهان مانند میوه ها، سبزیجات، آجیل، چای، قهوه، شکلات تلخ و غیره شناسایی شده اند (Li et al., 2023). این ترکیبات نه تنها برای گیاهان مهم هستند، همچنین در صورت مصرف از طریق غذاها فواید سلامتی را برای انسان به ارمغان می آورند. اسیدهای فنولیک، مانند اسید کافئیک و اسید فرولیک، با مزایای سلامت قلب و عروق مرتبط هستند، در حالی که سایرین، مانند اسید کلروژنیک، برای نقش بالقوه آنها در متابولیسم گلوکز و



مدیریت وزن مورد مطالعه قرار گرفته اند که در غذاهایی مانند قهوه، سیب، گلابی و غیره یافت می شوند (Iqbal et al., 2023). به طور مشابه، انواع مختلف میوه ها و سبزیجات حاوی ترکیبات فنلی با مزایای سلامتی متنوع هستند.

برخی از روش های رایج مورد استفاده عبارتند از: استخراج معمولی جامد-مایع، استخراج سیال فوق بحرانی، استخراج به کمک مایکروویو و استخراج آنزیمی که توسط محققان برای مطالعه مقایسه ای با امید به حداکثر رساندن بازده، تنظیم ترکیب و افزایش خلوص پلی فنل های استخراج شده بهینه سازی شده اند (Quitério et al., 2022). در تمام این روش ها، محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی به طور کلی با استفاده از سنجش های رنگ سنجی مانند فولین سیو کالتو و FRAP (قدرت آنتی اکسیدانی احیا کننده آهن) یا سنجش های مبتنی بر رادیکال های خاموش کننده مانند DPPH (۲ و ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) یا ABTS [۲ و ۲-دی آذینو-بیس-(۳-اتیل بنزوتیازولین-۶-سولفونیک اسید)] تعیین می شود (Dudonné et al., 2009). دانشمندان از قسمت های مختلف گیاهان مانند برگ، ریشه، میوه های گیاهانی مانند زیتون، گریپ فروت، پسته و غیره برای استخراج فنلی استفاده می کنند. انگیزه بررسی و مقایسه نحوه توزیع ترکیبات فنلی در یک گیاه بسته به عواملی مانند گونه گیاهی، شرایط محیطی، مرحله رشد و نوع بافت است. به غیر از گیاهان، ترکیبات فنلی را می توان از روغن پایه زغال سنگ و قطران زغال سنگ مانند فنل، کرزول، هیدروکینون و غیره نیز استخراج کرد که می تواند در کاربردهای مختلف صنعتی برای تولید پلاستیک، رنگ، ضد عفونی کننده و ... استفاده شود (Jiao et al., 2015). در حالی که این نوع استخراج از زغال سنگ به دلیل ترکیب پیچیده قطران زغال سنگ به اندازه گیاهان رایج نیست. دانشمندان روش های سبز مانند حلال های اتکتیک عمیق (DES¹) را برای کمک به این فرآیند مطالعه کرده اند.

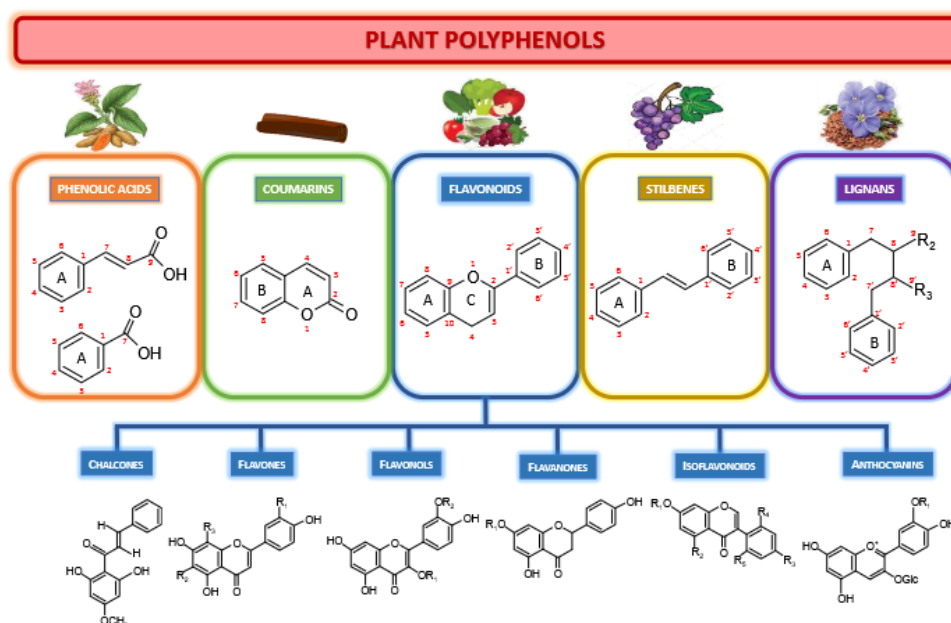
حلال های اتکتیک عمیق سیستم حلالی هستند که از مخلوط کردن دو یا چند جزء تشکیل می شود. به طور معمول یک دهنده پیوند هیدروژنی و یک گیرنده پیوند هیدروژنی، در نسبت های خاص که منجر به رفتار اتکتیک می شود. اصطلاح "اتکتیک" به پایین ترین نقطه ذوب مخلوط حلال اشاره دارد، در حالی که اصطلاح "عمیق" به معنای کاهش قابل توجه نقطه ذوب در مقایسه با اجزای اصلی است. این ویژگی حلال را قادر می سازد تا در دمای پایین تر از هر یک از اجزای خالص به تنهایی در حالت مایع باقی بماند.

حلال های اتکتیک عمیق به دلیل خواص حلال قابل تنظیم که مزایای بیشتری را در مقایسه با حلال های سنتی ارائه می دهد، در تهیه عصاره های گیاهی مورد کاوش و استفاده قرار گرفته اند. کاربرد آن در زیست توده جلبکی، مانند کلرلا و لگاریس^۲ برای بازیابی پلی فنول ها و مقایسه اثربخشی آن با حلال های فراری که در حال حاضر در صنعت استفاده می شوند، مورد استفاده قرار گرفته است. تحقیقات در این زمینه با هدف کشف و بهینه سازی استفاده از این حلال ها برای تسهیل فرآیندهای استخراج در صنایع مختلف در حال انجام است.

1. Deep Eutectic Solvents
2. *Chlorella vulgaris*

۲. مواد و روش‌ها

در این مقاله مروری، از یک رویکرد روایی برای بررسی استخراج ترکیبات فنلی با استفاده از حلال‌های اتکتیک عمیق استفاده شده است. مقالات بر اساس معیارهای خاصی از جمله تاریخ انتشار، کیفیت علمی و ارتباط با موضوع انتخاب شدند. منابع علمی مرتبط با موضوع از پایگاه‌های داده معتبر مانند PubMed، Scopus و Google Scholar جمع‌آوری شدند. کلیدواژه‌های مربوطه شامل "استخراج ترکیبات فنلی"، "حلال سبز"، "حلال ارگانیک" و "حلال اتکتیک عمیق" و... مورد استفاده قرار گرفتند.



شکل ۱. طبقه‌بندی ترکیبات فنلی در گیاهان (Hano and Tungmunthum, 2020)

۳. نتایج

روش‌ها و تکنیک‌های مختلفی برای جداسازی ترکیبات فنلی از گیاهان همان‌طور که قبلاً توضیح داده شد، وجود دارد و برخی از آنها سازگار با محیط زیست هستند؛ در حالی که برخی دیگر ممکن است شامل استفاده از حلال‌های سمی باشد. دانشمندان و محققان با هدف به دست آوردن فنول‌های خالص و حداکثر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (یا حداکثر بازده)، به طور مستمر روش‌های شناخته شده را با استفاده از انواع حلال‌ها بهینه‌سازی می‌کنند. DES یکی از این رویکردها را نشان می‌دهد. این نوع حلال‌ها به عنوان حلال‌های سبز در نظر گرفته می‌شود؛ زیرا اکثر آنها زیست‌تخریب‌پذیر هستند که باعث می‌شود آنها دوستدار محیط زیست باشند. این حلال‌ها به دلیل ارزان بودن و تهیه آسان آنها مقرون به صرفه هستند. آنها از مخلوطی از دهنده پیوند هیدروژنی (HBD^1) و گیرنده پیوند هیدروژنی (HBA^2) ساخته شده‌اند و به دلیل مواد شیمیایی متفاوتی که در نسبت‌های

1. Hydrogen Bond Donor
2. Hydrogen Bond Acceptor



مختلف استفاده می‌شوند بسته به کاربرد، می‌توانند طیف وسیعی از خواص را داشته باشند (Wang et al., 2020). گروهی از محققان بریتانیایی روی کلرلا و لگاریس یکی از جلبک‌های آب شیرین غنی از خواص آنتی اکسیدانی، با استفاده از DES آزمایشی انجام دادند، برای تعیین اینکه آیا این سیستم حلال می‌تواند به عنوان یک روش جایگزین و کارآمد برای جداسازی فنول‌ها از زیست توده جلبکی در مقایسه با روش معمولی که شامل استفاده از حلال‌های آلی فرار مشتق شده از نفت است، عمل نماید (Wan Mahmood et al., 2019). حلال‌های مرسوم مورد استفاده این گروه از محققان اتیل استات (EA) و آب (H_2O) بود. همان طور که در جدول ۱ نشان داده شده است، DES استفاده شده شامل کولین کلراید ($CHCl_3$) به عنوان HBA، گلیسرول (Gly)، اتیلن گلیکول (EG)، ۳-۱ پروپان‌دی‌اول (PDO) و ۴-۱ پروپان‌دی‌اول به عنوان HBD بودند. این تنوع حلال به این دلیل بود که دریابند که چگونه ترکیبات مختلف HBA و HBD کارآیی سیستم حلال DES را در استخراج ترکیبات فنلی زیست توده جلبکی می‌تواند تحت تأثیر قرار دهد. با مطالعه اثرات نسبت‌های حلال بر محتوای فنلی، محققان درک بهتری برای بهینه‌سازی بیشتر روش استخراج برای حداکثر بازده به دست می‌آورند. آزمایشگر همچنین تأثیر دما، زمان و نسبت حلال به زیست توده را بر استخراج فنلی از زیست توده جلبکی مورد مطالعه قرار داده است.

جدول ۱. ترکیبات مختلف حلال‌های اتکتیک عمیق

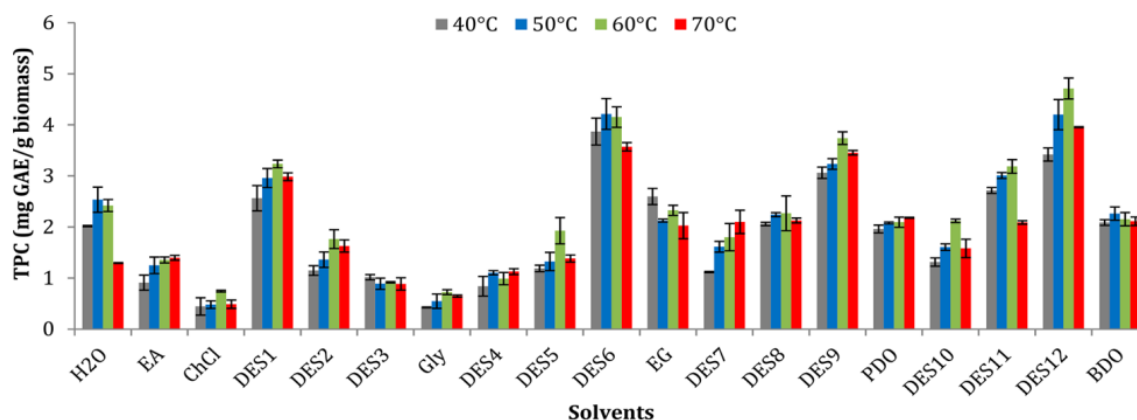
Name	Component 1 (HBA)	Component 2 (HBD)	Molar ratio
DES1	ChCl	Gly	1:2
DES2	ChCl	Gly	1:3
DES3	ChCl	Gly	1:4
DES4	ChCl	EG	1:2
DES5	ChCl	EG	1:3
DES6	ChCl	EG	1:4
DES7	ChCl	PDO	1:2
DES8	ChCl	PDO	1:3
DES9	ChCl	PDO	1:4
DES10	ChCl	BDO	1:2
DES11	ChCl	BDO	1:3
DES12	ChCl	BDO	1:4

اولین مرحله در فرآیند استخراج برای هر دو سیستم حلال معمولی و DES شامل خرد کردن زیست توده خشک با هاون است. این مرحله به تخریب دیواره سلولی و در نتیجه به نفوذ بهتر حلال و افزایش عملکرد فنلی کمک می‌کند. مخلوط زیست توده خرد شده با حلال در یک انکوباتور تکان‌دهنده در دمای مورد نظر برای مدت معین قرار می‌گیرد. محققین این مطالعه یک شرایط شروع را بر اساس بررسی متون انتخاب کردند که در آن چندین محقق دیگر شرایط استخراج را بهینه‌سازی کرده بودند. آنها زمان استخراج ۱۰۰ دقیقه، دمای استخراج ۶۰ درجه سانتی‌گراد و نسبت حلال به زیست توده ۱۰:۱ را انتخاب نمودند. سپس نویسندگان تغییرات دما، زمان و نسبت حلال به زیست توده را به روشی سیستماتیک با تغییر تنها یک پارامتر در یک زمان بررسی کردند. نتایج را می‌توان در شکل‌های ۲ و ۳ مشاهده نمود. محتوای فنل کل (TPC) با استفاده از روش فولین سیوکالتو تعیین شد. ترکیبات موجود در عصاره با استفاده از HPLC شناسایی شدند. اثر دماهای مختلف بر روی TPC در شکل ۲ مشهود است. TPC تمام عصاره‌ها با استفاده از معرف سیوکالتو با آنالیز منحنی استاندارد UV-Vis تعیین شد و بر حسب میلی گرم اسید گالیک

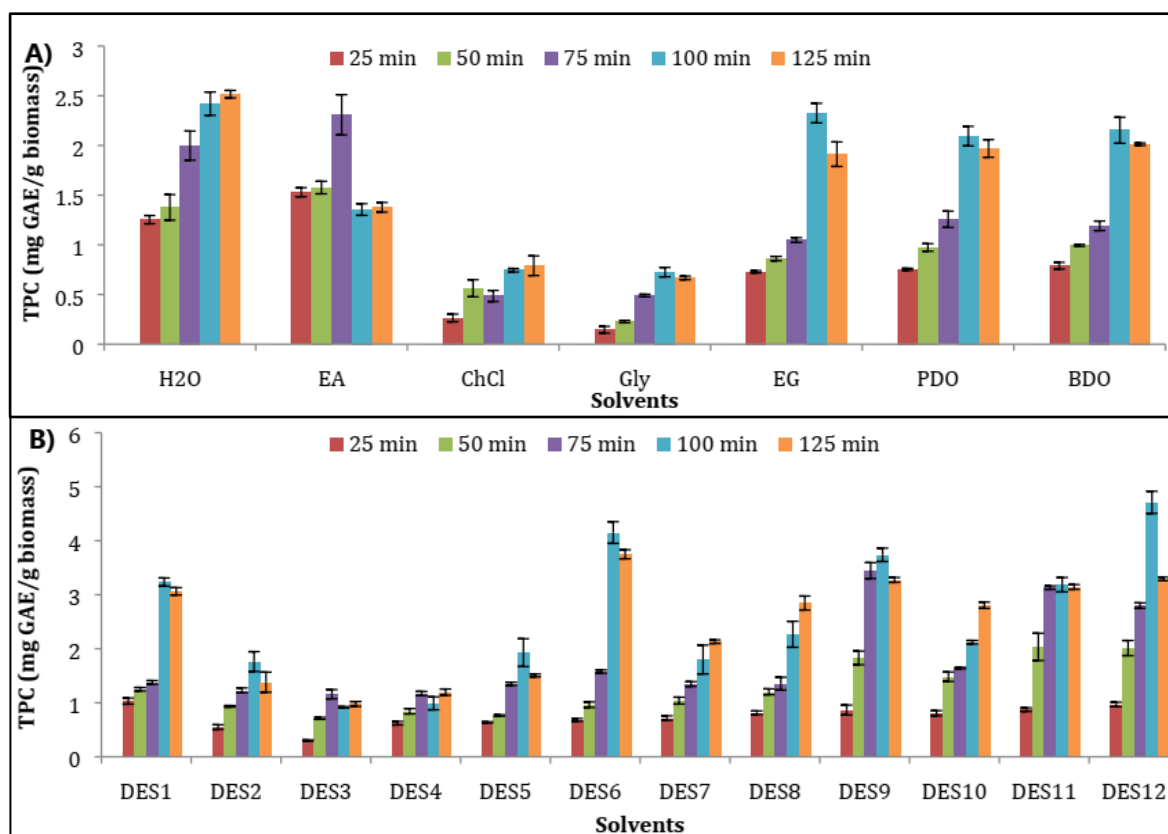


در هر گرم زیست توده بیان شد (mg GAE/g biomass). اغلب DESها (DES 1, 2, 5, 8, 9, 10, 11, 12) بیشترین TPC را دمای ۶۰ درجه سانتی گراد داشتند، در حالی که DES 6 بیشترین TPC را در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و DES 4, 7 بیشترین TPC را در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد داشت. در میان هر کدام از حلال‌های مرسوم، اتیل استات بیشترین TPC در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد، آب در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و کولین کلراید در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد مشاهده گردید. از آنجایی که اکثر حلال‌ها بالاترین مقدار TPC را در ۶۰ درجه سانتی گراد نشان دادند، این دما برای بقیه مراحل استخراج، مقدار بهینه در نظر گرفته شد. بر اساس این نتیجه، اهمیت دما بر محتوای فنلی را می‌توان تحلیل نمود. با افزایش دما، حرکت مولکول‌ها در حلال‌ها افزایش می‌یابد که امکان برهمکنش مؤثر با ترکیبات فنلی را فراهم می‌نماید و باعث افزایش حلالیت و انتشار سریع‌تر این ترکیبات در حلال می‌شود (Percevault et al., 2020). این در نهایت فرآیند استخراج را بهبود می‌بخشد و منجر به عملکرد بالاتر می‌شود. اما مقدار TPC در بالاترین دمای استفاده شده یعنی ۷۰ درجه سانتی گراد در مقایسه با سایر دماها پایین‌تر بود که نشان می‌دهد برخی از ترکیبات فنلی ممکن است با قرار گرفتن طولانی مدت در دمای بالا، پایداری کمتری داشته و حساسیت به گرما داشته باشند. خطر تخریب یا تجزیه این ترکیبات و در نتیجه کاهش غلظت و مقدار این ترکیبات وجود دارد. شکل ۳ یک نمای کلی از تلاش نویسنده برای تعیین مناسب‌ترین زمان با استخراج ترکیبات فنلی با حلال‌های مختلف در فواصل ۲۵ دقیقه، ۵۰ دقیقه، ۷۵ دقیقه، ۱۰۰ دقیقه و ۱۲۵ دقیقه ارائه می‌دهد. TPC در حلال مرسوم آب و هر یک از اجزای حلال‌های اتکتیک عمیق به تنهایی (ChCl, Gly, EG, PDO, BDO) به استثنای اتیل استات (۷۰ دقیقه) در ۱۰۰ دقیقه بیشترین مقدار را داشتند (شکل ۳A). به طور مشابهی، TPC بیشترین مقدار را در همه DESها (۱ تا ۱۲) با نسبت حلال‌های مختلف در ۱۰۰ دقیقه نشان داد. شکل ۳B نشان می‌دهد که DES 12 و سپس DES 6, 9, 11 بیشترین TPC را به خود اختصاص دادند. یک الگوی جالب TPC بر اساس نسبت DES برای گلیسرول و پلی‌ال‌ها^۱ از شکل ۳B می‌تواند تحلیل شود. TPC کمتر مربوط به DES 3 (۱:۴) با گلیسرول بیشتر (۱/۳۵ میلی گرم) در مقایسه با TPC مربوط به DES 1 (۱:۲) با گلیسرول کمتر (۱/۷۶ میلی گرم) نشان می‌دهد که گلیسرول یک مایع با ویسکوزیته بالاست که منجر به انتقال جرم بالاتر در زمان کوتاه‌تر نمی‌شود. از آنجایی که پلی‌ال‌ها ویسکوزیته کمتری دارند، به دلیل کشش سطحی کم، انتقال جرم بالاتری دارند که امکان نفوذ بیشتر حلال در ماتریس گیاه را برای استخراج سریع‌تر و بهتر مواد فنلی را فراهم می‌کند و این مورد را توجیه می‌نماید که چرا DES 12, 6, 9, 11 با نسبت حلال ۱:۴ پلی‌ال‌ها در مقایسه با سایر DESها با نسبت حلال ۱:۲، بیشترین مقدار TPC را در ۱۰۰ دقیقه دارا هستند (4.77, 4.3, 3.88, 3.31 mg). بر اساس این نتیجه، ۱۰۰ دقیقه به عنوان زمان مناسب برای استخراج ترکیبات فنلی استفاده شد. با استفاده از دمای بهینه ۶۰ درجه سانتی گراد و زمان ۱۰۰ دقیقه، سپس نسبت حلال به بیوماس بررسی شده و نسبت ۲۰:۱ برای استخراج ترکیبات فنلی با استفاده از معرف فولین سیو کالتو به عنوان نسبت بهینه به دست آمد. DES 1, 6, 9, 12 در شرایط بهینه بیشترین مقدار ترکیبات فنلی را داشتند. این نشان می‌دهد نسبت بیشتر حلال به زیست توده، حلالیت ترکیبات فنلی را افزایش

داده و دمای بهینه (در اینجا ۶۰ درجه سانتی گراد) سینتیک استخراج^۱ را بدون تخریب ترکیبات فنلی موجود در زیست توده بهبود می بخشد (Rijal, 2025).



شکل ۲. محتوای فنل کل (TPC) کلرلا و لگاریس مشاهده شده در حلال‌های معمولی و حلال‌های اتکتیک عمیق (DES) در دماهای مختلف (Wan Mahmood et al., 2019)





شکل ۳. محتوای فنلی کل (TPC) کلرلا ولگاریس با استفاده از الف) حلال های مرسوم و اجزای حلال های اتکتیک عمیق به تنهایی و ب) حلال های اتکتیک عمیق (DES) با نسبت حلال ها و زمان های مختلف (Wan Mahmood et al., 2019)

۴. بحث و نتیجه گیری

این مطالعه به طور موفقیت آمیزی اثربخشی حلال های اتکتیک عمیق (DES) را به عنوان یک جایگزین سبز برای استخراج ترکیبات فنلی از بیوماس گیاهی نشان می دهد. نتایج نشان می دهند که DES نه تنها بازده محتوای کل فنل (TPC) را افزایش می دهد، بلکه خواص آنتی اکسیدانی این ترکیبات را نیز حفظ می کند که برای فواید سلامتی آن ها حیاتی است. با بهینه سازی پارامترهای استخراج مانند دما، زمان و نسبت حلال به بیوماس، مشخص شد که دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و نسبت حلال به بیوماس ۲۰:۱ به مدت ۱۰۰ دقیقه بالاترین TPC را تولید می کند. یافته ها بر تنوع ساختاری و اهمیت عملکردی ترکیبات فنلی در گیاهان تأکید می کنند و نقش آن ها را به عنوان آنتی اکسیدان ها و فواید بالقوه سلامتی آن ها در هنگام مصرف انسان برجسته می سازند. همچنین، این مطالعه نشان می دهد که انتخاب حلال تأثیر قابل توجهی بر کارایی استخراج و کیفیت ترکیبات فنلی دارد و DES روشی پایدار و مؤثرتر نسبت به حلال های سنتی ارائه می دهد. این امر افق های جدیدی برای بررسی بیشتر در زمینه بهینه سازی فرآیندهای استخراج برای منابع مختلف گیاهی گشوده و در نتیجه دسترسی به عصاره های غنی از فنل را برای کاربردهای غذایی، دارویی و آرایشی افزایش می دهد.

منابع

- Ardestani, A., and Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, 104, 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.066>
- Benedek, B., Kopp, B., and Melzig, M.F. (2007). *Achillea millefolium* L. s.l.-Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition? *Journal of Ethnopharmacology*, 113: 312–317. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.06.007>.
- Benzie, F., and Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bouteche, A., Touil, A., Akkal, S., Bensouici, C., & Nieto, G. (2024). Phenolic constituents, photoprotective effect, and antioxidant capacities of *Achillea ligustica* All. *Molecules*, 29(17): 4112. <https://doi.org/10.3390/molecules29174112>.
- Ceriello, A. (1993). Coagulation activation in diabetes mellitus: The role of hyperglycemia and therapeutic prospects. *Diabetologia*, 36: 1119–1125. <https://doi.org/10.1007/BF00401145>.
- Doğan, D., and Meydan, İ. (2021). Antioxidant effect of *Achillea biebersteinii* in different extracts and extinguishing activity on DPPH. *Journal of Agriculture*, 4(1): 1–9.
- Gharibi, S., Tabatabaei, B.E.S., Saeidi, G., Goli, S.A.H., and Talebi, M. (2013). Total phenolic content and antioxidant activity of three Iranian endemic *Achillea* species. *Industrial Crops and Products*, 50: 154–158. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.014>
- Gursoy, N., Sarikurcu, C., Cengiz, M., and Solak, M.H. (2009). Antioxidant activities, metal contents, total phenolics, and flavonoids of seven *Morchella* species. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2381–2388. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.06.032>



- Hano, C., and Tungmunnithum, D. (2020). Plant polyphenols, more than just simple natural antioxidants: Oxidative stress, aging, and age-related diseases. *Medicines*, 5(9): 726. <https://doi.org/10.3390/medicines50900726>
- Konczak, I., Zabaras, D., Dunstan, M., and Aguas, P. (2010). Antioxidant capacity and phenolic compounds in commercially grown native Australian herbs and spices. *Food Chemistry*, 122: 260–266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.051>
- Kulusic, T., Radonic, A., Katalinic, V., and Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85: 633–640. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.024>
- Percevault, L., Limanton, E., Nicolas, P., Paquin, L., and Lagrost, C. (2020). Electrochemical determination and antioxidant capacity modulation of polyphenols in deep eutectic solvents. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 9(2): 776–784. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c07335>
- Pinelo, M., Rubilar, M., Sineiro, J., and Núñez, M.J. (2004). Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chemistry*, 85: 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.06.020>
- Rahimmalek, M., Tabatabaei, B.E.S., Etemadi, N., Goli, S.A.H., Arzani, A., and Zeinali, H. (2009). Essential oil variation among and within six *Achillea* species transferred from different ecological regions in Iran to the field conditions. *Industrial Crops and Products*, 29: 348–355. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.07.008>
- Rechinger, K. H. (1963). *Flora Iranica* (No. 158). Akademische Druke-U. Verlagsanstalt.
- Rijal, S. (2025). Comparative analysis of extraction methods: Impact on phenolic content and antioxidant activity. (Master's thesis). California State University, East Bay.
- Shahidi, F., and Wanasundara, P. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32: 67–103. <https://doi.org/10.1080/10408399209527581>
- Trumbeckaite, S., Benetis, R., Bumblauskiene, L., Burdulis, D., Janulis, V., Toleikis, A., Viškelis, P., and Jakštas, V. (2011). *Achillea millefolium* L. s.l. herb extract: Antioxidant activity and effect on the rat heart mitochondrial functions. *Food Chemistry*, 15: 1540–1548. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.071>
- Wang, J., Jing, W., Tian, H., Liu, M., Yan, H., Bi, W., and Da, D. (2020). Investigation of deep eutectic solvent-based microwave-assisted extraction and efficient recovery of natural products. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(32): 12080–12088. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c03223>
- Wan Mahmood, W.M.A., Lorwirachsuttee, A., Theodoropoulos, C., and Gonzalez-Miquel, M. (2019). Polyol-based deep eutectic solvents for extraction of natural polyphenolic antioxidants from *Chlorella vulgaris*. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(5): 5018–5026. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b05874>
- Zhu, K.X., Lian, C.X., Guo, X.N., Peng, W., and Zhou, H.M. (2011). Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry*, 126: 1122–1126. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.146>



تأثیر کاربرد زئولیت بر رشد و مقدار موسیلاژ گیاه دارویی پنیرک (*Malva sylvestris*)

نرگس آزاد^۱، بهور اصغری^۱ و سودابه مفاخری^{۱*}

^۱ گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین. ایران. (Mafakheri@ikiu.ac.ir)

^۲ گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز. ایران.

چکیده

پنیرک (*Malva sylvestris*) یکی از گیاهان دارویی علفی و چندساله است که از دیرباز در طب سنتی جایگاه ویژه‌ای داشته است. این گیاه به دلیل خواص درمانی متنوع خود، از جمله اثرات ضدالتهابی، آنتی اکسیدانی، ضدسرطانی و تقویت کننده یکپارچگی بافت پوستی، به طور گسترده مورد توجه قرار گرفته است. برای بررسی تأثیر زئولیت بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و مقدار موسیلاژ گیاه پنیرک، تیمار زئولیت در سه سطح ۰ (Z0)، ۲۵ (Z5) و ۵۰ (Z10) گرم در کیلوگرم خاک گلدان، در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی اجرا گردید. مقایسه میانگین داده‌های حاصل نشان داد که تیمار Z10 در مقایسه با تیمار شاهد؛ در صفات تعداد گل، ارتفاع بوته، طول و عرض برگ به ترتیب سبب افزایش ۶۲/۷۴، ۱۶/۱۷، ۳/۵۷ و ۸/۵۲ درصدی شده است. میزان موسیلاژ گیاه پنیرک نیز تحت تأثیر تیمارهای Z5 و Z10 به ترتیب با ۱۹/۶۱ و ۲۵/۴۹ درصد افزایش، اختلاف معنی داری با تیمار شاهد نشان داد. همچنین، درصد عصاره در تیمارهای Z5 و Z10 به ترتیب با مقادیر ۱۰/۹ و ۹/۸ درصد، در مقایسه با تیمار شاهد (۱۱/۸۷ درصد)، کاهش یافت. این افزایش در صفات کمی و کیفی می‌تواند به دلیل تأثیر مثبت زئولیت بر بهبود شرایط خاک و افزایش دسترسی گیاه به مواد مغذی باشد. کاهش عصاره تحت تیمار زئولیت در گیاه نیز، احتمالاً ناشی از تغییرات فیزیولوژیکی مرتبط با جذب مواد معدنی است. این یافته‌ها تایید کننده پتانسیل زئولیت در بهبود عملکرد گیاه پنیرک هستند و این روش می‌تواند به عنوان رویکردی نوین در بهینه‌سازی تولید این گیاه دارویی مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: پنیرک، خواص دارویی، زئولیت، عصاره، مورفولوژی.



۱. مقدمه

پنیرک با اسم علمی *Malva sylvestris* گیاهی علفی و چند ساله از خانواده Malvaceae می باشد. این گیاه پوشیده از کرک با گلهایی به رنگ بنفش با خطوط تیره، بومی شمال آفریقا، اروپا و جنوب غربی آسیا است. پنیرک، سرشار از ترکیبات فیتوشیمیایی بوده و بر تعداد قابل توجهی از بیماری ها موثر شناخته شده است (Batiha, 2023). گل و برگ های این گونه به دلیل سرشار بودن از موسیلاژ و فلاونوئیدها، اثر ضد زخم و ترمیم کنندگی بالایی پیدا کرده اند. علاوه بر آن به سبب وجود تانن ها، فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی و آسکوربیک اسید؛ خاصیت آنتی اکسیدانی داشته و برای درمان اکثر سرطان ها قابل استفاده می باشند (Mousavi et al., 2021).

زئولیت ها؛ آلومینوسیلیکات هایی^۱ سه بعدی، هیدراته و با ساختارهایی براساس اتصال وسیع چهاروجهی های TO_4 هستند که عموماً پیوند میان آلومینیوم یا سیلیس با اکسیژن است (SiO_4 ، AlO_4) که با اشتراک اتم های اکسیژن بهم متصل می شوند. آن ها ساختاری متخلخل و منافذی با ابعاد مولکولی دارند که این امر موجب می شود تا چگالی کمی داشته باشند. به واسطه کانال های متصل به هم به قطر، ۰/۳ تا ۲۰ آنگستروم درونشان، قابلیت بالایی در جذب و تبادل کاتیونی دارند (Geogiev et al., 2009). زئولیت ها در خاک تجزیه نمی شوند و با جذب و آزادسازی تدریجی آب، عناصر غذایی و سموم شیمیایی و از طرفی با بهبود شرایط خاک از جمله افزایش تهویه، افزایش هدایت هیدرولیکی و ... نقش کلیدی در رشد مطلوب گیاه جلوگیری از اتلاف آب و کودهای شیمیایی دارند (Sangeetha and Baskar, 2016). برای مثال در پژوهشی که در گیاه دارویی بادرشبی انجام شد در نتیجه کاربرد زئولیت، در شرایط آبیاری به مقدار ۹۰ درصد ظرفیت زراعی، افزایش ارتفاع بوته، سطح برگ، مقدار ماده خشک و عملکرد گیاهی و در شرایط آبیاری به میزان ۶۰ درصد ظرفیت زراعی، افزایش درصد اسانس و عملکرد دانه مشاهده شد (Broushaki et al., 2021). زئولیت همچنین توانست موجب کاهش اثر منفی تنش خشکی در گیاه شاهدانه شود و علاوه بر آن با بهبود فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، گیاه را در تحمل کم آبی یاری کند (Bahador and Tadayan, 2020). از طرفی فراهم نمودن امکان بهره وری از زمین های کشاورزی با کیفیت خاک ضعیف، مانند خاک های شور، از دیگر کاربردهای زئولیت است. از این جهت در بررسی اثر زئولیت بر گیاه همیشه بهار تحت تنش شوری، افزایش تعداد گل و شاخه جانبی در سطوح مختلف زئولیت تیمار شده نشان از نقش مثبت آن داشته است (Moghimini and Ghavami, 2015).

با توجه به کاربردهای متنوع زئولیت، هدف از اجرای این پژوهش، بررسی تأثیر آن بر رشد، عملکرد و کیفیت گیاه دارویی پنیرک به منظور بهینه سازی تولید و توسعه کشت پایدار بود.

^۱ Aluminosilicate



۲. مواد و روش ها

۲-۱. منطقه مورد مطالعه

این پژوهش در قالب طرح بلوک های کاملاً تصادفی با چهار تکرار به صورت گلدانی، در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) انجام شد.

۲-۲. روش تحقیق

قبل از کشت، جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده، از خاک نمونه برداری به عمل آمد. برخی خواص فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش در جدول ۱ آمده است. تیمار مورد بررسی آزمایش شامل زئولیت در سه سطح (۰، ۲۵ و ۵۰ گرم در کیلوگرم خاک گلدان) بود. نحوه نامگذاری تیمارهای آزمایشی در جدول ۲ آمده است. گلدان های پلاستیکی به ارتفاع ۲۰ سانتی متر و قطر دهانه ۲۲ سانتی متر تهیه و پس از نامگذاری به صورت تصادفی قرار گرفتند. بذرها ی پنی رک تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان، پس از هیدروپرایمینگ، به تعداد ۱۵ بذر در هر گلدان کاشته شد و پس از آن برای تامین رطوبت کافی آبیاری انجام شد.

جدول ۱. ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک

بافت خاک	پتاسیم قابل جذب (ppm)	فسفر قابل جذب (ppm)	نیترژن کل (%)	سیلت (%)	شن (%)	رس (%)	کربن آلی (%)	هدایت الکتریکی (EC)	اسیدیته (pH)
لومی-شنی	۲۵۸/۱۶	۳۴/۱	۰/۲۲	۲۲	۶۸	۱۰	۱/۹۵	۲/۳۲	۷/۴۲

جدول ۲. نام های اختصاری سطوح تیمار آزمایش

ردیف	تیمار	نام تیمار
۱	شاهد	Z ₀
۲	تیمار زئولیت ۲۵ گرم در کیلوگرم خاک	Z ₅
۳	تیمار زئولیت ۵۰ گرم در کیلوگرم خاک	Z ₁₀

برای بررسی اثرات تیمارهای اعمال شده، خصوصیات مورفولوژیکی شامل؛ ارتفاع بوته، طول و عرض برگ و تعداد گل و همچنین درصد عصاره و درصد موسیلاژ مورد اندازه گیری قرار گرفت. به این ترتیب که در زمان اوج گلدهی گیاه، صفات مورفولوژیکی اندازه گیری و ثبت گردید. برای استخراج عصاره، ۰/۵ گرم از اندام های هوایی گیاه هر نمونه وزن شد و به صورت خرد شده در فالكون های جداگانه ریخته شدند. ۱۰ میلی لیتر اتانول به عنوان حلال به هر فالكون اضافه و سپس نمونه ها به مدت



۲۴ ساعت در شیکر - انکوباتور قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت، عصاره‌ی اتانولی با کاغذ صافی از بقایای گیاهی جدا شد و برای اطمینان، محلول حاصل در سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۷۰۰۰ rpm قرار گرفتند. عصاره هر نمونه را به پتری دیش‌های مربوطه منتقل کرده و پس از قرار دادن درپوش‌های منفذدار، در مکانی ثابت قرار گرفتند. مجدداً روی تفاله‌های گیاه به میزان ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ریخته و فرآیند عصاره‌گیری برای دو مرتبه دیگر با همین روند، اجرا شد. در نهایت وزن پتری دیش‌های حاوی عصاره، با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد و درصد عصاره با توجه به داده‌های به دست آمده برای هر نمونه محاسبه گردید. درصد موسیلاژ از طریق اندازه‌گیری وزن موسیلاژ به دست آمده از ۰/۳ گرم گیاه خشک محاسبه شد. بر این اساس ۰/۳ از اندام هوایی گیاه وزن گردید و به همراه ۵ میلی‌لیتر آب مقطر در فالدکون، به صورت خرد شده ریخته شد و در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. پس از طی این زمان، برای جداسازی تفاله‌های گیاهی، پس از عبور عصاره به دست آمده از صافی، ۲ مرحله سانتریفیوژ با دور ۹۵۰۰ rpm و هر مرحله به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس ۲۰ میلی‌لیتر اتانول روی هر عصاره آبی ریخته شد. بعد از طی ۲ ساعت که نمونه‌ها در یخچال بودند، هر نمونه در پتری جداگانه ریخته شد و درون آون با دمای ۷۰ درجه قرار گرفتند. پس از تبخیر کامل آب و اتانول، پتری دیش‌های حاوی موسیلاژ وزن شدند و با کسر این مقدار از وزن پتری دیش خالی، میزان عصاره برای هر نمونه ثبت و درصد آن محاسبه گردید.

۳. نتایج

بر اساس به نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۳)، کاربرد ژئولیت بر تمامی صفات مورد بررسی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بوده است.

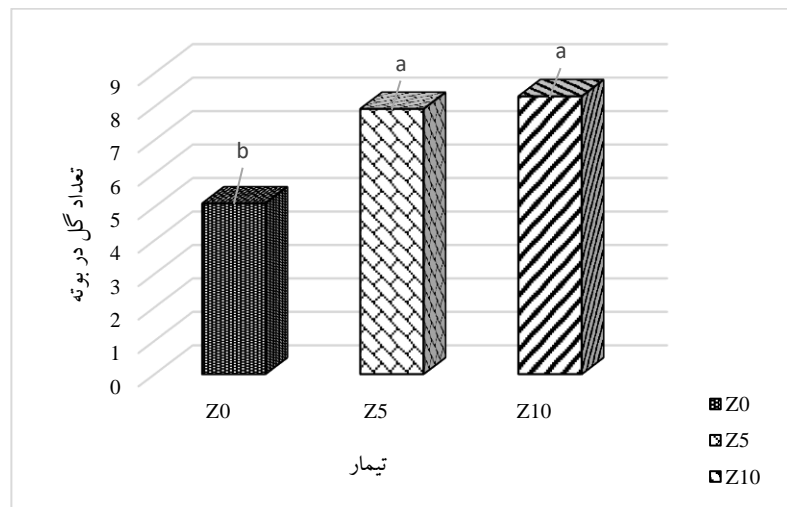
جدول ۳. تحلیل واریانس اثر تیمار سطوح مختلف ژئولیت بر صفات مورفولوژی و فیزیولوژی گیاه پنبه‌ک

مجموع مربعات						
منبع تغییرات	درجه آزادی	درصد موسیلاژ	درصد عصاره	طول برگ	عرض برگ	ارتفاع بوته
تعداد گل در بوته						
تیمار	۳	۰/۰۱۴ **	۴۷۴/۱۷۱ **	۲۶/۳۵۶ **	۸۵/۸۹۱ **	۲۹۰۲/۸۱۸ **
تکرار	۳	۷/۱۹۴ ns	۰/۰۹۴ ns	۰/۰۴۰ ns	۰/۰۵۸ ns	۳/۳۴۳ ns
خطا	۶	۱/۷۵۳	۰/۱۳۴	۰/۰۴۳	۰/۰۹۱	۱/۶۷۹
کل	۱۲					

*, ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار

۳-۱. تعداد گل در بوته

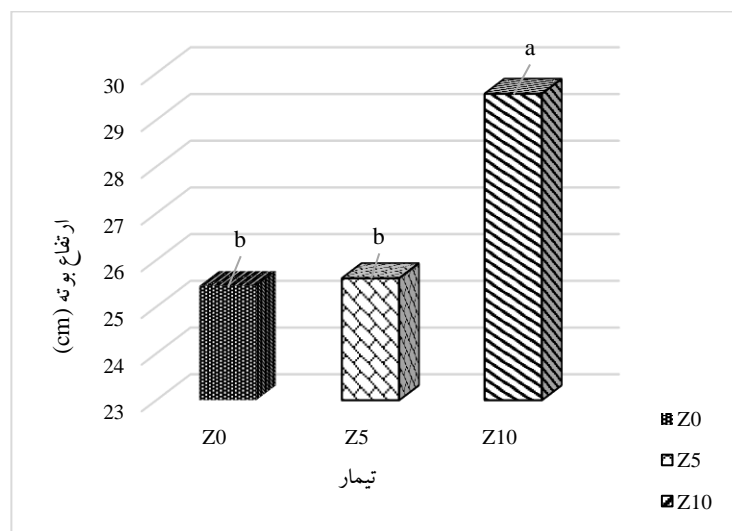
بررسی مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد (شکل ۱) که ژئولیت توانسته به طور معنی‌داری سبب افزایش تعداد گل در بوته نسبت به تیمار شاهد شود. با این حال بین سطوح مختلف ژئولیت، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.



شکل ۱. تاثیر کاربرد زئولیت بر تعداد گل در بوته

۳-۲. ارتفاع بوته

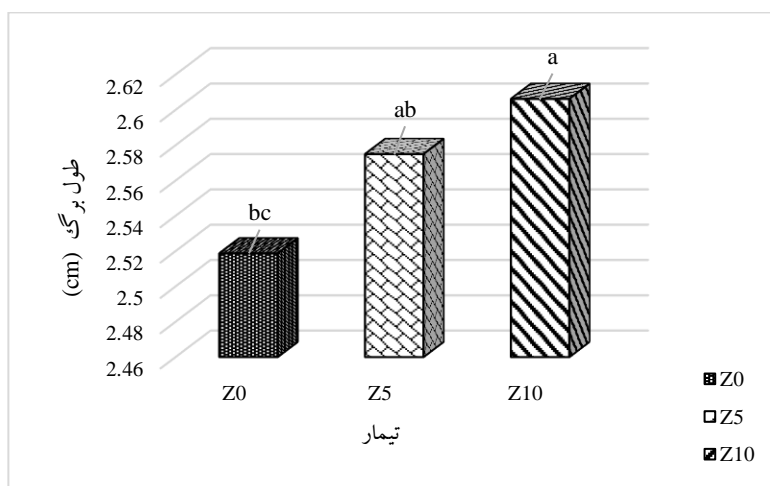
مقایسه میانگین داده‌ها نشان دهنده افزایش قابل توجه ارتفاع بوته در شرایط کاربرد سطح بالای زئولیت بود. به طوری که بیشترین ارتفاع بوته از گیاهان تحت تیمار Z₁₀ به دست آمد (شکل ۲).



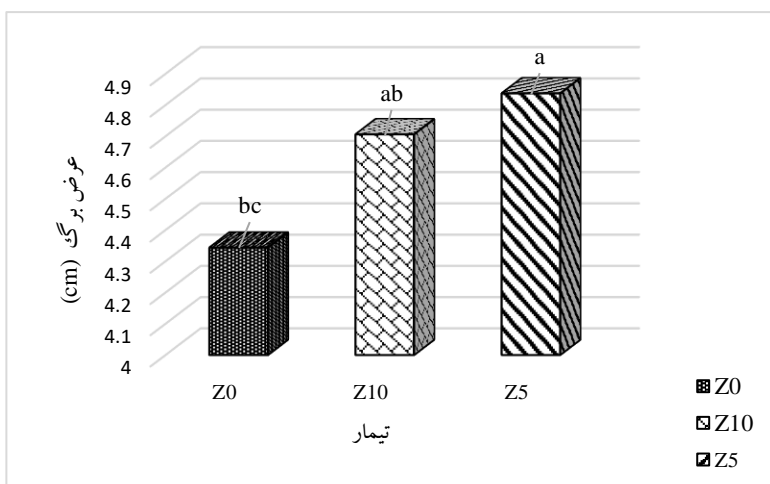
شکل ۲. تاثیر کاربرد زئولیت بر ارتفاع بوته

۳-۳. طول و عرض برگ

همانگونه که در شکل‌های ۳ و ۴ مشاهده می‌شود، در حالت کاربرد زئولیت، در مقایسه با تیمار شاهد، طول و عرض برگ به طور معنی‌داری افزایش یافته است.



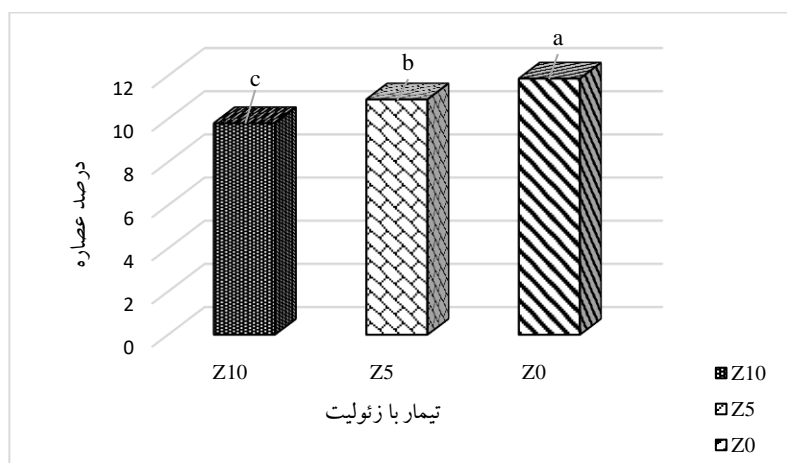
شکل ۳. تاثیر کاربرد زئولیت بر طول برگ



شکل ۴. تاثیر کاربرد زئولیت بر عرض برگ

۳-۴. درصد عصاره

همان گونه که در شکل ۵ مشاهده می شود، بیشترین درصد عصاره از تیمار شاهد (Z0) به دست آمد، در حالی که تیمار Z10 کمترین میزان عصاره را نشان داد. کاهش عصاره می تواند به دلیل افزایش رشد رویشی و تقسیم منابع به سمت رشد کمی به جای تجمع ترکیبات فعال باشد.

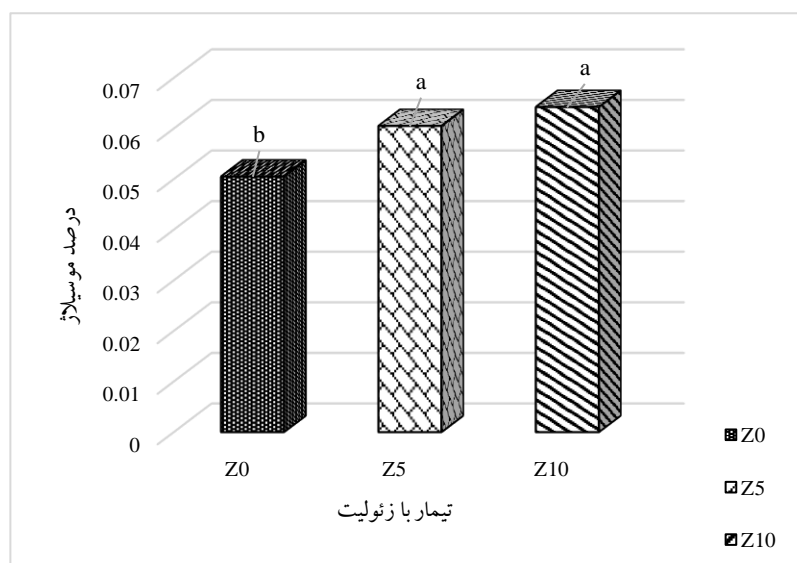


شکل ۵. اثر سطوح مختلف زئولیت بر درصد عصاره

۳-۵. درصد موسیلاژ

بررسی مقایسه میانگین داده‌ها، نشان دهنده تأثیر مثبت و معنی دار کاربرد زئولیت بر درصد موسیلاژ استخراج شده بود

(شکل ۶).



شکل ۶. اثر سطوح مختلف زئولیت بر درصد موسیلاژ

۴. بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، کاربرد زئولیت تأثیر معنی داری بر تمامی صفات مورد بررسی داشته است. تأثیر مثبت

زئولیت در مطالعات متعددی بررسی و تأیید شده است. به نظر می‌رسد زئولیت با بهبود جذب آب و عناصر غذایی، شرایط

بهینه‌ای برای فتوسنتز و رشد گیاه فراهم کرده و در نتیجه باعث افزایش رشد کلی گیاه شده است. همچنین، زئولیت با ایجاد

شرایط مطلوب، تقسیم و توسعه سلولی را به‌ویژه در ساقه و برگ افزایش داده و بر این اساس، افزایش سطح برگ در حضور



زئولیت قابل انتظار است (خاقانی و همکاران، ۱۳۹۹). علاوه بر این، شرایط بهینه رشد فراهم شده توسط زئولیت باعث افزایش چشمگیر تعداد گل‌ها در گیاه پنیرک شد. بیشترین تعداد گل در بوته با میانگین ۸/۳ در تیمار Z10 و کمترین تعداد با میانگین ۵/۱ در تیمار شاهد ثبت شد. کاهش درصد عصاره در تیمار Z10 ممکن است ناشی از تأثیر زئولیت بر جذب و توزیع مواد مغذی در گیاه باشد. زئولیت به دلیل خاصیت تبادل یونی و ظرفیت بالای نگهداری آب و عناصر غذایی، می‌تواند تعادل یونها و ترکیبات موجود در گیاه را تغییر دهد که این تغییرات ممکن است بر سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه تأثیر گذار باشد. همچنین، کاهش عصاره می‌تواند به دلیل افزایش رشد رویشی و تقسیم منابع به سمت رشد کمی به جای تجمع ترکیبات فعال باشد. بررسی دقیق‌تر نیازمند مطالعه مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مرتبط است. موسیلاژ به عنوان یکی از مهم‌ترین ترکیبات دارویی پنیرک، در اثر کاربرد زئولیت به طور معنی‌داری افزایش یافت. زئولیت با تأمین مداوم رطوبت ریشه‌ها، باز ماندن طولانی‌تر روزنه‌ها را امکان‌پذیر کرده و تثبیت بهینه دی‌اکسید کربن را در گیاه تسهیل می‌کند (Ghanbari and Ariafer, 2013).

منابع

خاقانی، س.، آذرینوند، ح.، جعفری، م.، ملاقلی، ع.، طویلی، ع. ۱۳۹۹. ارزیابی سطوح مختلف سالیسیلیک اسید و زئولیت بر تعدادی از شاخص‌های رشد گیاه دارویی آویشن دناپی (*Daenensis Thymus*) تحت شرایط تنش خشکی. مجله مرتع و آبخیز داری. ۷۳(۱): ۴۹-۶۳.

- Bahador, M., and Tadayon, M.R. (2020). Investigating of zeolite role in modifying the effect of drought stress in hemp: Antioxidant enzymes and oil content. Industrial crops and products, 144, 112042.
- Batiha, G. E. S., Tene, S. T., Teibo, J. O., Shaheen, H. M., Oluwatoba, O. S., Teibo, T. K. A., Al-kuraishy, H., Al-Garbee, A., Alexiou, A., Papadakis, M. (2023). The phytochemical profiling, pharmacological activities, and safety of *malva sylvestris*: a review. Naunyn-Schmiedeeberg's archives of pharmacology. 396(3): 421-440.
- Broushaki, M., Fakheri, B., Mahdinezhad, N., Aran, M., and Mashhadi, A.A. (2021). Evaluation of zeolite on quantitative and qualitative characteristics of carela (*Momordica charantia* L.) medicinal plant under deficit irrigation. Iranian Journal of Horticultural Science. 52(1): 35-46.
- Georgiev, D., Bogdanov, B., Angelova, K., Markovska, I. & Hristov, Y. Synthetic Zeolites–Structure, Classification, Current Trends in Zeolite Synthesis. (2009). Economics And Society Development on The Base Of Knowledge: International Scientific Conference.
- Ghanbari, M., and Ariafer, S. (2013). The Effects of Water Deficit and Zeolite Application on Growth Traits and Oil Yield of Medicinal Peppermint (*Mentha piperita* L). 32-39.
- Moghimi, S.M., and Ghavami, S.H. (2015). Effect of Zeolite and salinity on growth indices of marigold (*Calendula officinalis* L.). Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi, 36(3): 641-644.
- Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Behbudi, G., Mazraedoost, S., Omidifar, N., Gholami, A., Chiang, W.-H., Babapoor, A., Pynadathu Rumjit, N. (2021). A Review on Health Benefits of *Malva Sylvestris* L. Nutritional Compounds for Metabolites, Antioxidants, And Anti-Inflammatory, Anticancer, And Antimicrobial Applications. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 5548404.
- Sangeetha, C. and Baskar, P. (2016). Zeolite And Its Potential Uses in Agriculture: A Critical Review. Agricultural Reviews, 101-108.



اثر همزیستی قارچ میکوریزا بر برخی صفات کمی گیاه مشکک، در شرایط کم آبی

پریسا بهرامی^۱، سودابه مفاخری^{۱*}، بهور اصغری^{۱،۲}

^۱ گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران. (mafakheri@ikiu.ac.ir)

^۲ گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران.

چکیده

گیاه *Ducrosia anethifolia* Boiss. که به نام مشکک شناخته می شود، یک گیاه دارویی و معطر بومی ایران است. به دلیل خواص دارویی فراوان، این گیاه از ارزش بالایی در طب سنتی برخوردار است. به منظور بررسی توانایی تلقیح قارچ های میکوریزا در کاهش اثرات منفی تنش ناشی از کم آبی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل آبیاری در سه سطح (۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی) و تلقیح با قارچ های میکوریزای *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae* در دو سطح (تلقیح و عدم تلقیح) بود. نتایج نشان داد که بیشترین تعداد شاخه های فرعی، ارتفاع بوته و قطر طوقه در گیاهانی که تحت آبیاری در سطح ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی قرار داشتند، مشاهده شد. در مقابل، بالاترین میزان پرولین در شرایط آبیاری با ۶۰ درصد ظرفیت زراعی ثبت گردید که نشان دهنده افزایش تجمع این اسمولیت در پاسخ به تنش است. تلقیح با قارچ *Glomus mosseae* به طور معناداری عملکرد گیاه را بهبود بخشید و بالاترین مقادیر ارتفاع ساقه، تعداد شاخه های فرعی، قطر ساقه و میزان پرولین را به همراه داشت. این یافته ها نشان دهنده نقش بالقوه قارچ های میکوریزا در بهبود رشد گیاه و تحمل به تنش کم آبی هستند و رویکردی پایدار برای مدیریت کمبود آب در کشاورزی ارائه می دهند.

واژگان کلیدی: تنش خشکی، چتریان، قارچ میکوریزا، مشکک



۱. مقدمه

مشگک با اسم علمی *Ducrosia anethifolia* Boiss. گیاهی دارویی و معطر از خانواده Apiaceae است (Syed et al., 2022). این گیاه در ایران اسامی مختلفی از جمله ریشگک، مشک بو، مشکک، چشم بغیض، بغیض، میل، گیجو، گواتک، زنجبیل درویشان، خورخوندای، گوارشخ و گشنیز کوهی، دارد (Arbabi et al., 2020). مشگک یک گیاه دوساله، پایا، با رنگ سبز مات یا متمایل به آبی، با ارتفاع حدود ۱۰-۳۰ سانتی متر است که قسمت‌های پایین ساقه منشعب و بدون کرک است. قسمت دارویی گیاه، اندام‌های هوایی و بذری می‌باشد (Akbar and Arezoo, 2017). از مشگک در صنایع غذایی برای بهبود عطر غذاها و نوشیدنی‌ها، همچنین به عنوان سبزی خوراکی، استفاده می‌شود (Zamyad et al., 2016). مشگک دارای اثرات مفیدی بر روی سیستم عصبی مرکزی است و از آن می‌توان به عنوان یک داروی ضد اضطراب، ضد افسردگی و درمان کننده بی‌خوابی نام برد (Mottaghipisheh et al., 2020). از دیگر فواید مشگک می‌توان به خواص ضد دیابتی، ضد میکروبی، ضد التهابی و ضد سرطانی اشاره کرد (Shahabipour et al., 2013).

خشکی به عنوان یکی از عوامل اصلی بازدارنده در روند رشد گیاه، می‌تواند مانع تنفس گیاه، فتوسنتز و حرکت روزنه‌ها شود. بنابراین، بر رشد گیاه و متابولیسم فیزیولوژیکی تأثیر می‌گذارد. از عوامل مهم که بر عکس العمل گیاه نسبت به خشکی تأثیر دارند می‌توان به مراحل رشد، سن، گونه گیاهی و شدت و مدت خشکسالی اشاره کرد (Gray et al., 2016). خاک یک سیستم حیاتی غنی از میکروارگانیسم‌ها با انواع مختلفی از فعل و انفعالات است که میزان رشد و فعالیت گیاهان را تعیین می‌کند. میکروارگانیسم‌های موجود در خاک، مواد مغذی را برای گیاهان فراهم می‌کنند، آن‌ها را از تنش‌های زیستی و غیرزیستی محافظت می‌کنند و رشد و عملکرد آن‌ها را تقویت می‌کنند. واژه مایکوریزا (قارچ-ریشه) به ساختاری گفته می‌شود که از همزیستی بین ریشه گیاهان و میکروارگانیسم‌ها حاصل می‌شود (Moora, 2014). قارچ‌های مایکوریزا آربوسکولار^۱ جزء فراوان‌ترین ریز جانداران موجود در خاک هستند و یکی از مهم‌ترین عوامل برای پایداری خاک و گیاه محسوب می‌شوند. ارتباط همزیستی بین قارچ‌های مایکوریزا و گیاه، باعث ارتقا زیستی دو طرفه (همزمان با ارتقا گیاه، گونه قارچ نیز ارتقا می‌یابد) شده است (Barman et al., 2016). هدف از اجرای این تحقیق، بررسی تأثیر قارچ مایکوریزا بر رشد و نمو گیاه و همچنین کاهش آسیب ناشی از تنش کم آبیاری بود.

۲. مواد و روش‌ها

این تحقیق به صورت طرح آماری فاکتوریل و در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به صورت گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی آزمایش شامل آبیاری در سه سطح ۱۰۰٪، ۸۰٪ و ۶۰٪ ظرفیت زراعی، و دو سویه قارچ مایکوریزا شامل *Glomus intraradice* و *Glomus mosseae* هر کدام در دو سطح تلقیح و عدم تلقیح، بودند.

^۱ Arbuscular mycorrhizal fungi



اعمال تیمارهای آبیاری بر اساس روش وزنی انجام شد. ابتدا در کف هر کدام از گلدان‌ها به مقدار مساوی سنگ‌ریزه (جهت انجام زهکشی) ریخته شد و به صورت هم وزن از خاک پر شدند (در داخل هر گلدان ۴ کیلوگرم خاک). با افزودن آب، خاک هر گلدان به درجه اشباع رسید و به مدت ۴۸ ساعت روی سطح مشبک قرار داده شد تا هر گلدان پس از زهکشی آب اضافی به ظرفیت زراعی مزرعه برسد. در این مرحله گلدان‌ها به سرعت وزن شده و خاک آن‌ها در دمای ۱۰۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت کاملاً خشک گردید. در ادامه پس از مشخص شدن درصد وزنی رطوبت خاک در ظرفیت زراعی مزرعه، میزان رطوبت موجود در خاک برای اعمال تیمارهای رطوبتی مختلف مشخص گردید. تا مرحله ۶ برگی شدن بوته‌ها، گلدان‌ها در رژیم‌های یکسان آبیاری گردیدند و از این مرحله به بعد، بر طبق درصد FC آبیاری هر تیمار به طور دقیق انجام گرفت. قارچ مایکوریزا از شرکت زیست فناوریان توران سمنان تهیه شد و به صورت تیمار بذری استفاده گردید.

در این تحقیق ارتفاع بوته با خط کش و قطر طوقه با کولیس اندازه گیری شد. تعداد شاخه فرعی در هر بوته شمارش گردید و به منظور اندازه گیری محتوای پرولین با استفاده از ماده خشک گیاهی روش (بیتس و همکاران، ۱۹۷۳) مورد استفاده قرار گرفت.

۳. نتایج

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر کم آبیاری و همچنین تلقیح با قارچ مایکوریزا *Glomus mosseae* بر تمامی صفات اندازه گیری شده، در سطح یک درصد معنی دار گردید. اثر متقابل بین تیمار کم آبیاری و مایکوریزا *Glomus mosseae* بر صفت ارتفاع بوته در سطح ۵ درصد، تاثیر معنی دار داشت. همچنین اثر متقابل هر دو سویه قارچ مایکوریزا فقط روی ارتفاع بوته در سطح ۵ درصد تاثیر معنی دار گردید.

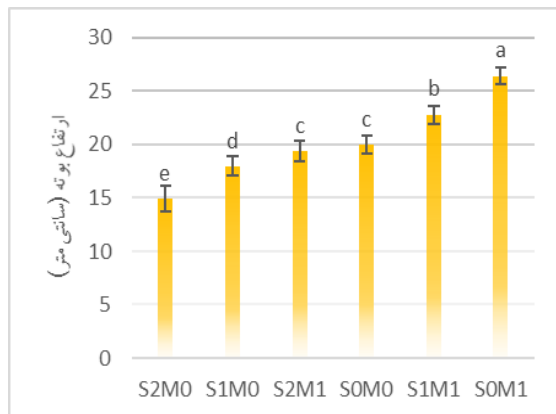
جدول ۱. آنالیز واریانس تاثیر فاکتورهای آزمایشی بر برخی صفات اندازه گیری شده در گیاه دارویی مشکک

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	ارتفاع بوته	تعداد شاخه فرعی	قطر طوقه	پرولین
کم آبیاری	۲	۱۰۹/۵۰**	۱۷۵/۵۸۳**	۱/۳۴۳**	۱۹۷/۵۲۶**	
<i>Glomus mosseae</i>	۱	۲۴۸/۲۷۳**	۱۲۱/۰۰**	۱۲/۵۰۸**	۶/۸۴۷**	
<i>Glomus intraradicese</i>	۱	۳/۱۹۲ ^{ns}	۰/۱۱۱ ^{ns}	۰/۲۲۴ ^{ns}	۰/۰۹۰ ^{ns}	
کم آبیاری × <i>Glomus Mosseae</i>	۲	۳/۱۷۶*	۲/۵۸۳ ^{ns}	۰/۶۳۱ ^{ns}	۰/۱۰۱ ^{ns}	
کم آبیاری × <i>Glomus intraradicese</i>	۲	۰/۹۹۷ ^{ns}	۲/۸۶۱ ^{ns}	۰/۲۲۷ ^{ns}	۰/۰۲۲ ^{ns}	
<i>Glomus mosseae</i> × <i>Glomus intraradicese</i>	۱	۶/۷۶۰*	۰/۴۴۴ ^{ns}	۰/۹۸۰ ^{ns}	۰/۱۳۰ ^{ns}	

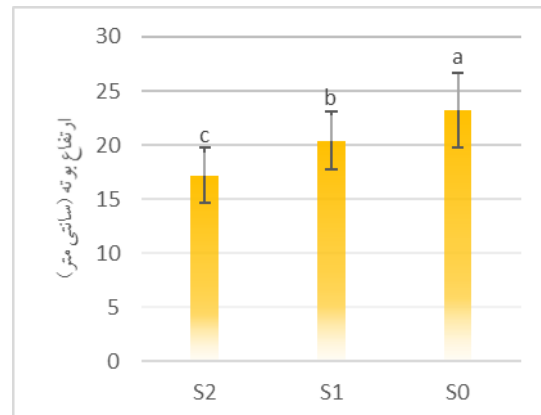


۰/۰۲۶ ^{ns}	۰/۲۷۴ ^{ns}	۰/۸۶۱ ^{ns}	۱/۴۸۰ ^{ns}	۲	کم آبیاری × تلقیح هر دوسویه مایکوریزا
۰/۱۰۶ ^{ns}	۰/۲۴۲	۱/۶۹۴	۰/۹۴۷	۲۴	خطا
				۳۵	کل
۲۲/۶	۲۴/۱	۲۴/۶	۱۸/۷		ضریب تغییرات %

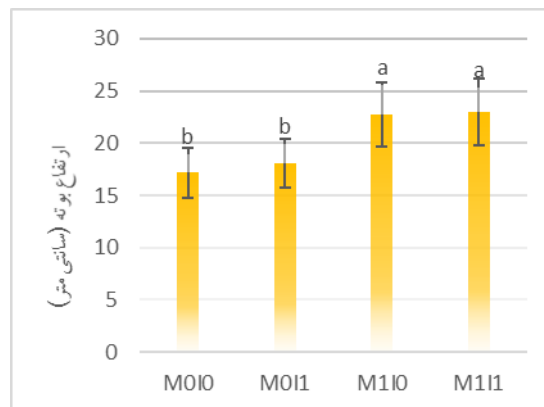
بررسی مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱ الف) نشان داد، در تیمارهای آبیاری، بیشترین ارتفاع بوته در شرایط آبیاری به میزان ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و کمترین آن در آبیاری ۶۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد. همانگونه که در شکل ۱ ب مشاهده می‌شود، تلقیح ریشه گیاه با مایکوریزا *Glomus mosseae*، تاثیر منفی کم آبیاری بر ارتفاع بوته را به طور معنی داری کاهش داده است. در شکل ۱ ج نیز دیده می‌شود که تلقیح گیاه با قارچ *Glomus mosseae* سبب افزایش معنی دار ارتفاع بوته گردید.



ب



الف

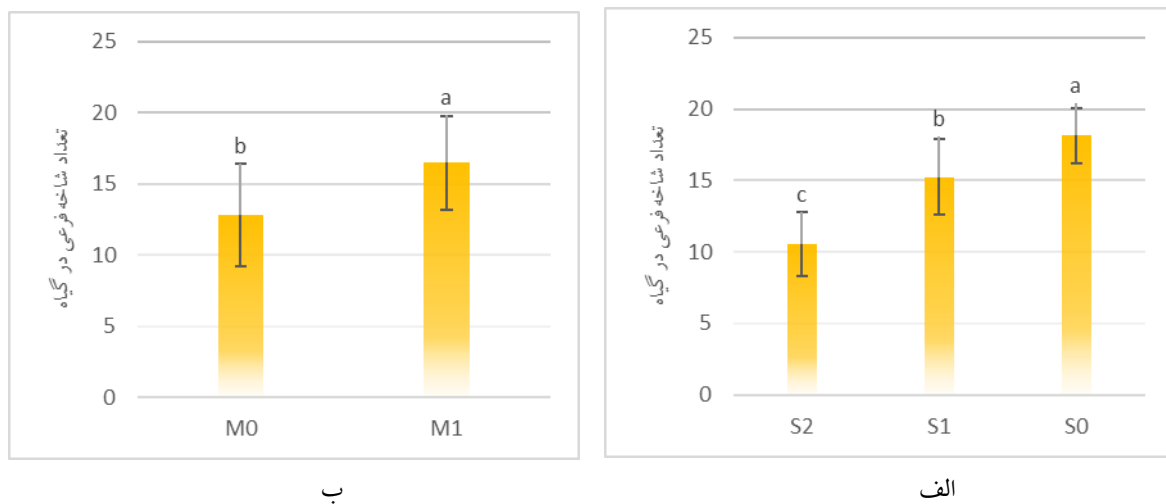


ج

شکل ۱: مقایسه میانگین تاثیر کم آبیاری (الف)، کم آبیاری و *Glomus mosseae* (ب) و تلقیح با هردو سویه مایکوریزا (ج) بر ارتفاع بوته S0، S1 و S2 به ترتیب آبیاری در سطح ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی. M0 و M1 به ترتیب عدم تلقیح و تلقیح با *Glomus mosseae*. IO، I1 و I2 به ترتیب عدم تلقیح و تلقیح با *Glomus intraradicese*

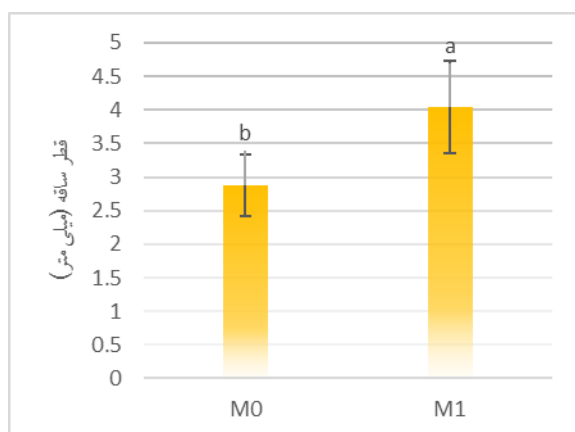


نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد که اثر کم‌آبیاری و تلقیح قارچ میکوریزا *Glomus mosseae* بر تعداد شاخه‌های فرعی در سطح یک درصد معنی‌دار شدند، ولی در اثرات متقابل آنها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۲ الف)، نشان داد که تعداد شاخه‌های فرعی با کاهش میزان آب آبیاری، به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین در گیاهان تلقیح شده با *Glomus mosseae* در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده، افزایش معنی‌داری در تعداد شاخه فرعی در گیاه، مشاهده گردید (شکل ۲ ب).

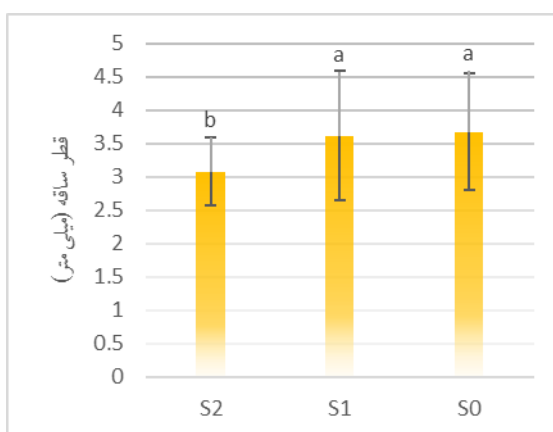


شکل ۲: مقایسه میانگین تاثیر کم‌آبیاری (الف) و تلقیح با *Glomus mosseae* (ب) بر تعداد شاخه فرعی در گیاه. S0، S1 و S2 به ترتیب آبیاری در سطح ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی. M0 و M1 به ترتیب عدم تلقیح و تلقیح با *Glomus mosseae*.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر کم‌آبیاری و تلقیح با *Glomus mosseae*، بر روی قطر ساقه در سطح یک درصد معنی‌دار شدند، ولی تلقیح با *Glomus intraradices* به تنهایی و اثرات متقابل فاکتورهای آزمایشی، تفاوت معنی‌داری در این صفت ایجاد نکردند. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۳ الف) نشان داد که بیشترین مقدار قطر ساقه به میزان ۳/۶۸ و ۳/۶۲ میلی‌متر به ترتیب در شرایط آبیاری در سطح ۱۰۰ و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی و کمترین آن (۳/۰۸ میلی‌متر) در گیاهان آبیاری شده به میزان ۶۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد. همچنین در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا *Glomus mosseae*، نسبت به گیاهان تلقیح نشده، قطر ساقه افزایش معنی‌داری نشان داد (شکل ۳ ب).



ب

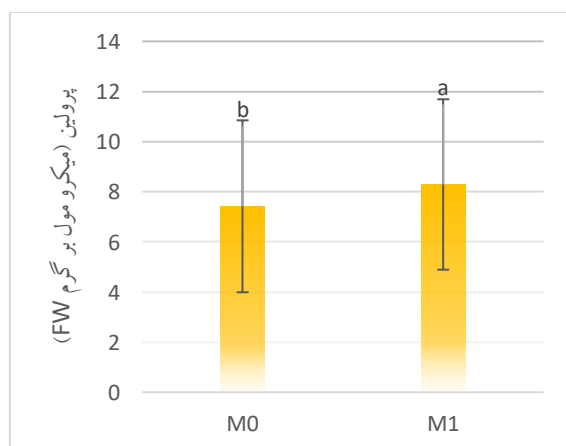


الف

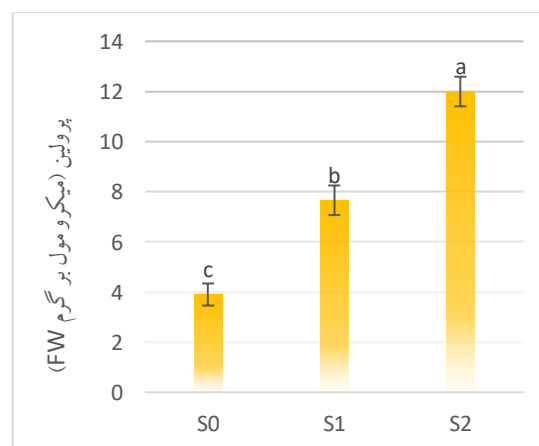
شکل ۳: مقایسه میانگین تاثیر کم آبیاری (الف) و مایکوریزا *Glomus mosseae* (ب) بر قطر ساقه

Glomus mosseae S0، S1 و S2 به ترتیب آبیاری در سطح ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی. M1 و M0 به ترتیب عدم تلقیح و تلقیح با *Glomus mosseae*.

طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر کم آبیاری و تلقیح با *Glomus mosseae* بر میزان پرولین در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید. بررسی مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۴ الف) نشان داد، بیشترین میزان پرولین مربوط به آبیاری در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی (S2) و کمترین میزان، مربوط به آبیاری در سطح ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (S0) بود. همچنین تلقیح گیاه با *Glomus mosseae* سبب افزایش معنی‌دار مقدار پرولین در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده گردید (شکل ۴ ب).



ب



الف

شکل ۴: مقایسه میانگین تاثیر کم آبیاری (الف) و تلقیح مایکوریزا *Glomus mosseae* (ب) بر مقدار پرولین

Glomus mosseae S0، S1 و S2 به ترتیب آبیاری در سطح ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی. M1 و M0 به ترتیب عدم تلقیح و تلقیح با *Glomus mosseae*.



۴. بحث و نتیجه گیری

همان‌طور که نتایج این تحقیق نشان داد، گیاه دارویی مشکک در تعامل با قارچ میکوریزای *Glomus mosseae* سازگاری بسیار خوبی از خود نشان داد. تلقیح گیاه با این قارچ منجر به بهبود قابل توجه صفات رشدی از جمله ارتفاع ساقه، تعداد شاخه‌های فرعی و قطر ساقه شد. این نتایج نشان‌دهنده توان بالقوه میکوریزا در بهبود رشد گیاهان تحت شرایط تنش، از طریق افزایش جذب مواد مغذی، بهبود سیستم ریشه و تحمل به شرایط تنش است. در تحقیقات مشابه، (قیدرلویی و همکاران، ۱۳۹۹) گزارش کردند که تلقیح گیاه دارویی شوید با قارچ میکوریزا سبب افزایش معنی‌دار رشد و نمو گیاه شد. این پژوهش به تأثیر مثبت همزیستی گیاهان دارویی با قارچ‌های میکوریزا تأکید دارد. همچنین، نتایج تحقیقات انجام‌شده در مورد گیاهان دارویی دیگر، نظیر زیره سبز (انجام و همکاران، ۱۴۰۳)، ریحان (ذوالفقاری و همکاران، ۱۳۹۳) و کاسنی (یزدان‌پناه و همکاران، ۱۴۰۱) یافته‌های این مطالعه را تأیید می‌کنند. از سوی دیگر، این تحقیق نشان داد که کم‌آبایی اثر منفی بر رشد گیاه مشکک دارد. کاهش میزان آبیاری سبب کاهش ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌های فرعی و قطر ساقه شد، اما در مقابل، میزان پرولین در گیاه افزایش یافت. افزایش پرولین به‌عنوان یکی از اسمولیت‌های سازگارکننده در پاسخ به تنش، نشان‌دهنده تلاش گیاه برای مقابله با شرایط تنش خشکی است. در تحقیق دیگری روی گیاه نعنای، مشخص شد که ارتفاع بوته و سایر صفات رشدی به طور معنی‌داری تحت تأثیر رژیم‌های آبیاری و تلقیح قارچ میکوریزا قرار گرفتند. تلقیح با قارچ میکوریزا نه تنها توانست اثرات منفی تنش خشکی را کاهش دهد، بلکه بهبود قابل‌توجهی در رنگدانه‌های فتوسنتزی و میزان زیست‌توده گیاه نیز ایجاد کرد (Ostadi et al., 2022). در مطالعه‌ای بر روی دو وارته بالنگو، مشاهده شد که افزایش فواصل آبیاری باعث کاهش رشد گیاه و مقدار اسیدهای چرب دانه شد. با این حال، تلقیح با قارچ میکوریزا اثرات مضر ناشی از تنش را کاهش داد و خسارات اکسیداتیو را بهبود بخشید (Parvar et al., 2021). این یافته‌ها نشان می‌دهند که همزیستی گیاهان دارویی با قارچ‌های میکوریزا نه تنها تحمل به تنش خشکی را افزایش می‌دهد، بلکه کیفیت و کمیت محصولات گیاهی را نیز ارتقا می‌بخشد. (عشاقی گرگی و همکاران، ۲۰۲۲) نیز در پژوهشی نشان دادند که در گیاه بادرنجویه، آبیاری با ۵۰ درصد ظرفیت زراعی منجر به افزایش محتوای پرولین و کاهش محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها شد. اما تلقیح با قارچ میکوریزا توانست با بهبود رنگدانه‌های فتوسنتزی و افزایش محتوای پرولین، تحمل گیاه به خشکی را افزایش دهد و در نتیجه رشد زیست‌توده تحت تنش خشکی بهبود یابد. تحقیقات پیشین نیز نشان داده‌اند که کاهش رشد و نمو تحت تنش خشکی در بسیاری از گیاهان دارویی رایج است (Ghilavizadeh et al., 2019). با این حال، همزیستی با قارچ‌های میکوریزا می‌تواند جذب عناصر غذایی و آب را بهبود بخشد و مقاومت در برابر تنش‌های محیطی نظیر خشکی، شوری و عوامل بیماری‌زا را افزایش دهد. قارچ‌های میکوریزا با ترشح اسیدهای آلی نظیر اسید مالیک، توانایی حل کردن فسفات‌های نامحلول خاک را دارند که این فرآیند جذب فسفر توسط گیاه را تسهیل می‌کند. در نتیجه، تلقیح با قارچ میکوریزا موجب افزایش صفات رشدی و زایشی گیاه در شرایط تنش خشکی می‌شود (Shirinbayan et al., 2013). این شواهد بر اهمیت استفاده از قارچ‌های میکوریزا در مدیریت پایدار منابع آبی و افزایش عملکرد گیاهان دارویی در شرایط نامساعد محیطی تأکید می‌کنند.



منابع

- انجام، حسینی فرهی، عبدی پور و مسلم. ۱۴۰۲. کاربرد قارچ میکوریزا و پوتریسیس بر ویژگی های رویشی، عملکرد بذر و اسانس گیاه دارویی زیره سبز (*Cuminum cyminum*) تحت تنش خشکی. فصلنامه پژوهش های علوم کشاورزی پایدار. ۳ (۳): ۲۸-۴۷.
- ذوالفقاری، ناظری، سفید کن و رجالی. ۱۳۹۳. بررسی تاثیر گونه های مختلف مایکوریزا بر ویژگی های رشدی و میزان اسانس گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) تولیدات گیاهی. ۳۷ (۴): ۴۷-۵۶.
- قیدرلویی، ش.، خادمیان، ر.، مفاخری، س. ۱۳۹۹. پاسخ گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens* L.) به همزیستی با قارچ مایکوریزا در سطوح مختلف شوری. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۶ (۲): ۳۲۹-۳۴۷.
- یزدان پناه گوهری، قنبری جهرمیو زرین نیا. ۱۴۰۱. تأثیر همزیستی با گونه های قارچ میکوریزا بر صفات کمی و کیفی توده های بذری گیاه دارویی کاسنی در شرایط گلخانه. به زراعی کشاورزی. ۲۴ (۲): ۵۲۷-۵۴۴.
- Arbabi, M., Naghdi Badi, H. A., Labbafi, M.R., Mehrafarin, A. & Saboki, E. (2020). Investigating the essential oil composition of (*Ducrosia anethifolia* DC.) Boiss. in different altitudes of Sistan and Baluchestan province, Iran. Journal of Medicinal Plants, 19(74): 343-355.
- Ahad. B., Shahri. W., Rasool. H., Reshi. Z. A., (2021). Department of Botany, University of Kashmir, Srinagar, Jammu and Kashmir, India S. Rasool Division of Veterinary Microbiology & Immunology, SKUAST-Kashmir, Jammu and Kashmir, India T. Hussain Division of Clinical Veterinary Medicine, Ethics & Jurisprudence, SKUAST-Shuhama, Srinagar, Jammu and Kashmir, India (BOOK).
- Akbar, K., Arezoo, B., (2017). Essential Oil Chemical Diversity of (*Ducrosia anethifolia* DC.) Boiss. accessions from Iran. J. Essent. Oil-Bear., Plants 20 (5): 1342-1348.
- Barman, J., Samanta, A., Saha, B. and Datta, S. (2016). Mycorrhiza. Resonance, pp: 1093-1104.
- Eshaghi Gorgi, O., Fallah, H., Niknejad, Y., and Barari Tari, D. (2022). Effect of Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and mycorrhizal fungi inoculations on essential oil in *Melissa officinalis* L. under drought stress. *Biologia*, 77: 11-20.
- Ghilavizadeh, A., Hadidi Masouleh, E., Zakerin, H. R., Valadabadi, S. A. R., Sayfzadeh, S., and Yousefi, M. (2019). Influence of salicylic acid on growth, yield and macro-elements absorption of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) under water stress. Journal of Medicinal plants and By-product, 8(1): 67-75.
- Gray, S.B.; Brady, S.M. (2016). Plant developmental responses to climate Chang. *Dev. Biol.*, 419: 64-77.
- Mottaghipisheh, J., Boveiri Dehsheikh, A., Mahmoodi Sourestani, M., Kiss, T., Hohmann, J., Csupor, D., (2020). *Ducrosia* spp., rare plants with promising phytochemical and pharmacological characteristics: an updated review. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland) 13 (8): 175.
- Mari Moora (2014). Mycorrhizal traits and plant communities: perspectives for integration. *Journal of Vegetation Science*. 25(19): 1126-1132.
- Ostadi, A., Javanmard, A., Amani Machiani, M., and Kakaei, K. (2022). Optimizing antioxidant activity and phytochemical properties of peppermint (*Mentha piperita* L.) by integrative application of biofertilizer and stress-modulating nanoparticles under drought stress conditions. *Plants*, 12(1): 151.
- Paravar, A., Farahani, S. M., and Rezazadeh, A. (2021). Lallemandia species response to drought stress and Arbuscular mycorrhizal fungi application. *Industrial Crops and Products*, 172: 114002.
- Syed, R. U., Moni, S. S., Huwaimel, B., Alobaida, A., Almarshdi, A. A., Abouzied, A. S., ... & Taha, M. M. E. (2022). Bioactive principles, anti-diabetic, and anti-ulcer activities of (*Ducrosia anethifolia* Boiss) leaves from the Hail region, Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(12): 104308.
- Shahabipour, S., Firuzi, O., Asadollahi, M., Faghihmirzaei, E., Javidnia, K., (2013). Essential oil composition and cytotoxic activity of (*Ducrosia anethifolia* and *Ducrosia flabellifolia*) from Iran. *J. Essent. Oil Res.* 25: 160-163.
- Shirinbayan, S., Khosravi, H., and Malakouti, M. J. (2019). Alleviation of drought stress in maize (*Zea mays*) by inoculation with *Azotobacter* strains isolated from semi-arid regions. *Applied Soil Ecology*, 133: 138-145.



Zamyad, M, Abasnejad, M, Esmaili- Mahani, S, Mostafavi, A (2016) Alpha-Pinene as the main component of (*Ducrosia anethifolia* Boiss) essential oil is responsible for its effect on locomotor activity in rats, Avicenna J. Neuro. Psycho. Physiol., 3:29-34.

بررسی فیتوشیمیایی گونه‌های گیاه سس (*Cuscuta*) در شمال ایران

خدیجه قنبری پور^{۱*}، الهام امینی^۱، فاطمه نصرالهی^۲، ندا عطا زاده^۲، سید اصغر حسینی^۳

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس. (khadijehghanbari554@gmail.com)

^۲ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه قم، قم.

^۳ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یاسوج، یاسوج.

^۴ گروه شیمی، دانشکده علوم و فنی مهندسی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس.

چکیده

گیاهان انگلی بخش جدایی ناپذیر از اکوسیستم هستند؛ که با چرخه زندگی میزبان اصلی خود سازگار شده‌اند. *Cuscuta* spp (سس) انگلی است آنژیوسپرم، که در منابع جدید آن را در تیره‌ی Cuscutaceae قرار داده‌اند. تعداد گونه‌های ثبت شده برای جنس *Cuscuta* از حدود ۱۰۰ تا ۱۷۵ گونه متغیر است؛ که به طور گسترده در مناطق معتدل، گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان توزیع شده‌اند؛ که ۱۸ گونه از آن در مناطق مختلف ایران وجود دارد و با نام متداول سس شناخته می‌شود. پراکندگی جغرافیایی گسترده گونه‌های سس، تعداد و تنوع میزبان‌های زیاد آن‌ها، و مشکلات مرتبط با کنترل آن‌ها، این گیاه را در بین مضرترین گیاهان انگلی در سراسر دنیا قرار داده است؛ ولی با این حال برخی از گونه‌های این گیاه دارای ارزش دارویی هستند. بررسی‌های فیتوشیمیایی وجود بخش‌های فعال بیولوژیکی مانند فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، لیگنان‌ها، ساپونین‌ها، فنولیک‌ها، تانن‌ها را در این گیاه اثبات کرده است. پژوهش حاضر، با هدف بررسی برخی صفات فیتوشیمیایی جنس سس (*Cuscuta*) در شمال ایران انجام خواهد شد. نتایج به این صورت بود که، در اندازه‌گیری مقدار فنل کل ۵ نمونه مورد بررسی، نمونه‌ی دو آب مازندران، دارای اختلاف معنی‌داری با سایر نمونه‌ها بود؛ همچنین مقدار فلاونوئید کل نمونه *Cuscuta campestris* مربوط به گلستان و نمونه همین گونه‌ی مازندران دارای اختلاف معنی‌داری بودند. در کربوهیدرات کل نمونه‌ی *Cuscuta chinensis* مربوط به دو آب مازندران با نمونه‌های دیگر اختلاف معنی‌داری داشت؛ میانگین پرولین نمونه‌ی *Cuscuta australis* مربوط به گیلان با سایر نمونه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری داشت. به طور کلی بیشترین مقدار ترکیبات شیمیایی این گیاه، مربوط به نمونه‌ی استان گیلان می‌باشد.

واژگان کلیدی: انگل، فنل، فلاونوئید، گیلان، *Cuscuta*



۱. مقدمه

وقتی یک موجود زنده، تمام غذای خود را از بدن موجود دیگر می گیرد انگل؛ و به ارگانسمی که از ذخایر غذایی گرفته می شود، میزبان گفته می شود. گیاهان انگلی بخش جدایی ناپذیری از اکوسیستم هستند؛ که با چرخه زندگی میزبان اصلی خود سازگار شده اند. از بین گونه های مختلف گیاهی، تقریباً ۳۹۰۰ گونه از گیاهان انگلی ثبت شده است (Jayasinghe, et al., 2004). *Cuscuta* spp (سس) انگلی است آنژیوسپرم، که در منابع قدیمی تر آن را متعلق به تیره *Convolvulaceae*، و در منابع جدید در تیره *Cuscutaceae* قرار داده اند. تعداد گونه های ثبت شده برای جنس *Cuscuta* از حدود ۱۰۰ تا ۱۷۵ گونه متغیر است؛ که به طور گسترده در مناطق معتدل، گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان توزیع شده اند؛ که ۱۸ گونه از آن در مناطق مختلف ایران وجود دارد که با نام های متداول و متعددی مانند سس، خفه کن و نخ طلایی شناخته می شود. پراکندگی جغرافیایی گسترده گونه های سس، تعداد و تنوع میزبان های زیاد آن ها، و مشکلات مرتبط با کنترل آن ها، این گیاه را در بین مضرترین گیاهان انگلی در سراسر دنیا قرار داده است (Dowson, et al., 1994. Holm, et al., 1997). چندین ویژگی مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی، مانند عدم وجود لپه یا ریشه در جنین آن ها، برگ های فلس دار بدون بافت آوندی و هاستوریا نشان دهنده سازگاری با زندگی انگلی است. آنها بیشتر محصولات پهن برگ، گیاهان زینتی، علف های هرز و چند گیاه تک لپه ای را آلوده می کنند (Nwokocha & Aigbokhan, 2013). گونه های این جنس به طور گسترده ای به عنوان اجزای ضروری در غذاهای کاربردی و ترکیبات دارویی سنتی استفاده می شود. بررسی های فیتوشیمیایی وجود بخش های فعال بیولوژیکی مانند فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، لیگنان ها، ساپونین ها، فنولیک ها، تانن ها و اسیدهای چرب را در این گیاه اثبات کرده است. همچنین مطالعات فارماکولوژیک و استفاده سنتی از این گیاهان اثرات ضد باکتری، آنتی اکسیدان، ضد پوکی استخوان، محافظ کبد، ضد التهاب، ضد تومور، تب بر، ضد فشار خون، ضد درد، ضد ریزش مو و عوامل ضد استروژن را تایید کرده است (Noureen, et al., 2019). در مطالعه ای توانایی درمان تکرر ادرار، نفخ معده، خشکی چشم، دردهای بدن، یبوست و افزایش رشد مو از جمله خواص دارویی این گیاه بیان شد (Pandit, et al., 2008). همچنین عصاره ی بذر این گیاه جهت درمان بیماری های کبدی در حیوانات مورد استفاده قرار گرفته است (Lee, et al., 2011).

مطالعات و آنالیز فیلوژنی و خوشه بندی، جمعیت ها را به پنج گروه تقسیم کرد؛ گروه اول و گروه دوم شامل جمعیت های هر سه گونه از هر سه استان می باشد. گروه سوم شامل جمعیت های چاف، رودسر و رشت استان گیلان از گونه *C. chinensis* می باشد. جمعیت هایی از سه گونه نیز گروه چهارم و پنجم گروه بندی را تشکیل داده اند (کر و همکاران، ۱۳۹۵). جنس سس یکی از جنس های گیاهی است که در فلورهای مختلف از جمله فلور فارسی ایران، توصیفات دقیقی نداشته و دارای پیچیدگی های تاکسونومیکی زیادی می باشد؛ همچنین با توجه به اینکه گونه های این گیاه انگلی، ضررهای زیادی برای میزبان های متنوع خود، از جمله محصولات کشاورزی دارند؛ و کشاورزی جزو بااهمیت ترین مشاغل در ایران محسوب می شود، مطالعه در مورد گونه های این جنس لازم و ضروری به نظر می رسد تا اطلاعات پایه ای جهت مطالعه و بررسی بیشتر آن ها فراهم شود. به همین دلیل، پژوهش حاضر، با هدف بررسی برخی صفات فیتوشیمیایی جنس سس (*Cuscuta*) در شمال ایران انجام خواهد شد. مطمئناً شناسایی دقیق گونه های گیاهی، با روش های جدید و مطمئن، می تواند برای مطالعات گسترده تر مفید واقع گردد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. منطقه مورد مطالعه

این مطالعه با هدف بررسی گونه‌های سس در شمال ایران انجام شد. به این منظور سه استان شمالی کشور شامل گلستان، مازندران و گیلان مورد پیمایش قرار گرفتند. مناطق مورد مطالعه دارای طول جغرافیایی 53.049° در استان مازندران تا 55.714° در استان گلستان و عرض جغرافیایی 35.905° در مازندران، 37.631° در گلستان متغیر بود. ارتفاع از دریا در این مناطق نیز از ۱۱ متر در گلستان، تا ۲۲۴۸ متر در گیلان بود.

۲-۲. روش تحقیق

در مناطق مورد نظر، نمونه‌برداری‌های جدید طی عملیات‌های مختلف صحرایی در فصل گلدهی از اواخر تیر ۱۴۰۳ تا اواسط مرداد ۱۴۰۳ انجام گردید. سپس نمونه‌های جمع‌آوری شده، جهت مطالعه و شناسایی به هرباریوم دانشگاه گنبد کاووس (GKUH) منتقل گردید (شکل ۱). شناسایی نمونه‌ها با مراجعه به منبع فلور ایرانیکا (رشینگر، ۱۹۶۵) انجام شد. در مجموع ۱۰ نمونه جمع‌آوری شد؛ که ۶ نمونه از گلستان و ۴ نمونه از استان مازندران ثبت شد. لازم به ذکر است که برای مطالعه‌ی گونه‌های استان گیلان، از نمونه‌های جمع‌آوری شده توسط خانم کر، که در هرباریوم دانشگاه گنبد کاووس موجود بودند استفاده شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده از این سه استان گونه‌های *Cuscuta australis*، *Cuscuta campestris* و *Cuscuta chinensis* شناسایی شدند (جدول ۱).



شکل ۱- تصاویر گونه‌های جمع‌آوری شده از گونه‌های سس (*Cuscuta*)

جدول ۱- مختصات و اطلاعات نمونه‌های جمع‌آوری شده از گونه‌های سس (*Cuscuta*)

ردیف	جمع‌آوری کننده	تاریخ جمع‌آوری	شماره هرباریوم	نام مکان	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (m)	نام نمونه
۱	قنبری	۱۴۰۳/۰۴/۳۱	۸۰۴۷۲۵	بش اویلی (گلستان)	55.714° N	37.389° E	363	<i>Cuscuta campestris</i>



<i>Cuscuta campestris</i>	165	37.352° E	55.503° N	کلاله (گلستان)	۸۰۴۷۲۶	۱۴۰۳/۰۴/۳۱	قنبری	۲
<i>Cuscuta campestris</i>	11	37.453° E	54.719° N	سه راهی مرز (گلستان)	۸۰۴۷۲۷	۱۴۰۳/۰۵/۰۴	قنبری	۳
<i>Cuscuta chinensis</i>	49	37.631° E	54.837° N	داشلی پرون (گلستان)	۸۰۴۷۲۸	۱۴۰۳/۰۵/۰۴	قنبری	۴

جدول ۱- مختصات و اطلاعات نمونه‌های جمع‌آوری شده از گونه‌های سس (*Cuscuta*)

ردیف	جمع‌آوری کننده	تاریخ جمع‌آوری	شماره هرباریوم	نام مکان	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (m)	نام نمونه
۵	قنبری	۱۴۰۳/۰۵/۰۴	۸۰۴۷۲۹	سارلی مختوم (گلستان)	55.215° N	37.282° E	۴۵	<i>Cuscuta chinensis</i>
۶	قنبری	۱۴۰۳/۰۴/۳۱	۸۰۴۷۳۰	صادق آباد (گلستان)	55.667° N	37.373° E	۳۲۵	<i>Cuscuta chinensis</i>
۷	قنبری	۱۴۰۳/۰۵/۱۸	۸۰۴۷۳۱	ارطه (ساری)	52.940° N	36.504° E	۱۴	<i>Cuscuta campestris</i>
۸	قنبری	۱۴۰۳/۰۵/۱۶	۸۰۴۷۳۲	ورسک (ساری)	52.983° N	35.905° E	۱۵۳۶	<i>Cuscuta campestris</i>
۹	قنبری	۱۴۰۳/۰۵/۱۸	۸۰۴۷۳۳	دوآب (ساری)	53.049° N	36.007° E	۸۶۳	<i>Cuscuta campestris</i>
۱۰	قنبری	۱۴۰۳/۰۵/۱۸	۸۰۴۷۳۴	دوآب (ساری)	53.049° N	36.007° E	۸۶۳	<i>Cuscuta chinensis</i>
۱۱	کرو همکاران	۱۳۹۴/۰۴/۲۷	۸۰۱۴۳۲	گیلان (چاف)	48.542° N	37.480° E	۴۹	<i>Cuscuta australis</i>
۱۲	کرو همکاران	۱۳۹۴/۰۳/۲۷	۸۰۱۴۳۳	گیلان (تالش)	48.542° N	37.480° E	۴۹	<i>Cuscuta australis</i>

از آنجایی که خواص درمانی عصاره‌های موجود در این گیاه طی مطالعات مختلف اثبات شده است، بررسی‌های فیتوشیمیایی نمونه‌های جمع‌آوری شده، شامل فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین، اسید آمینه پرولین، قند محلول، فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH انجام شد. ساقه‌های سس از نمونه‌های هرباریومی تهیه گردید. جهت تهیه عصاره‌ها ابتدا ۱۰۰ گرم پودر گیاه تهیه و سپس از روش خیساندن در حلال‌های مختلف و به ترتیب قطبیت از حلال‌های هگزان، دی‌کلرومتان، اتیل استات و متانول استفاده شد و عصاره‌های حاصل با استفاده از دستگاه تقطیر در خلا تغلیظ شدند. تعیین محتوای ترکیبات فنلی براساس روش سیوکالتیو انجام شد. در این مطالعه به طور کلی ۵ تست از مجموع ۱۲ نمونه جمع‌آوری شده انجام شد؛ نمونه شماره ۱ مربوط به گونه‌ی *C. campestris* بش‌اویلی، کلاله و سه راهی مرز استان گلستان، نمونه شماره ۲ مربوط به گونه‌ی *C.*



chinensis داشلی برون، سارلی مختوم و صادق آباد گلستان، نمونه شماره ۳ مربوط به گونه *C. campestris* ارطه، ورسک و دوآب مازندران، نمونه شماره ۴ مربوط به گونه *C. chinensis* دوآب مازندران و نمونه شماره ۵ مربوط به گونه *C. australis* تالش و چاف استان گیلان می باشند.

اندازه گیری محتوای فلاونوئید کل: براساس روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید انجام شد. از غلظت های مختلف کوثرستین ۱۰۰/۱۲-۵ میکروگرم/میلی لیتر در متانول جهت رسم منحنی استاندارد استفاده شد و محتوای فلاونوئید به صورت اکی والان های کوثرستین/گرم وزن عصاره خشک بیان شد.

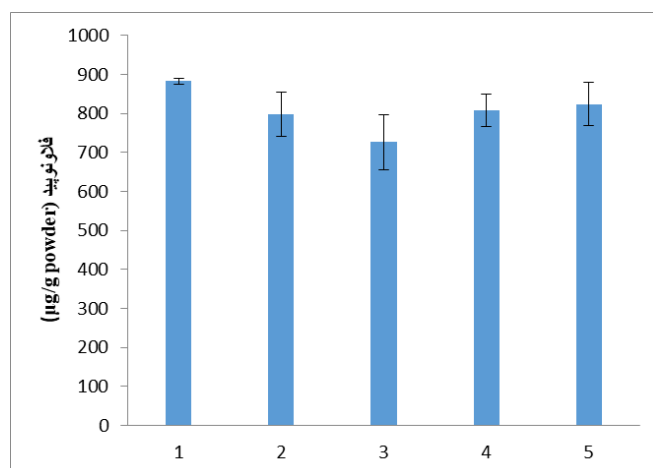
اندازه گیری کربوهیدرات کل: محتوای کربوهیدرات براساس فرمول اسید سولفوریک (Irrigoyen et al., 1992) تعیین شد. افزودن اسید سولفوریک (H_2SO_4) در این روش، محلول حاصل را گرم و رنگ را تیره می کند؛ این نشان دهنده وجود قند محلول در عصاره است. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت ppm استفاده شد.

اندازه گیری پرولین: در این روش هنگامی که یک اسید آمینه با نین هیدرین در محلول اسیدی واکنش می دهد، رنگ قرمز ایجاد می شود. رنگ قرمز به دلیل تولید دی پیرول دیکتوهیدرندیلیدین (DiKetohydrindilidene) است که از اسیدهای آمینه و نین هیدرین در محلول های اسیدی به دست می آید. محتوای اسید آمینه آزاد نمونه با استفاده از منحنی استاندارد پرولین تعیین و مقدار آن بر حسب گرم وزن نمونه بر اساس رابطه زیر محاسبه شد.

اندازه گیری فنل کل: میزان فنل کل با روش رنگ سنجی (Foline-ciocalteu) اندازه گیری شد (Slinkard & Singleton, 1977). از اسید گالیک جهت رسم منحنی استاندارد استفاده شد. مقدار کل مواد فنلی عصاره با استفاده از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه شد و نتایج بر حسب میلی گرم اسید گالیک مربوط به یک گرم عصاره بیان شد. لازم به ذکر است که در این مطالعه، هر نمونه از هر منطقه در سه تکرار انجام شد و میانگین حاصل از عصاره گیری آنها گزارش شد.

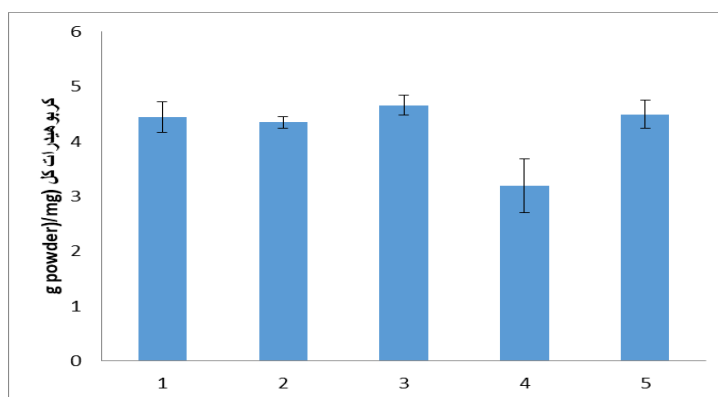
۳. نتایج

در این مطالعه صفات فیتوشیمیایی از جمله فعالیت آنتی اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت. در مقایسه با میانگین، بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی (۹۱/۶۵ درصد) مربوط به گونه *C. campestris* جمع آوری شده در گلستان بوده، کمترین مقدار آن (۷۲/۱۹) برای گونه *C. campestris* می باشد؛ این مقادیر نشان می دهد که به طور کلی نمونه های بررسی شده، از نظر مقدار آنتی اکسیدان ها اختلاف معنی داری ندارند. نتایج میانگین فلاونوئید کل، در بین ۵ نمونه ی بررسی نشان داد که نمونه ۱ مربوط به گلستان (*C. campestris*) و نمونه ۳ مازندران (*C. campestris*) دارای اختلاف معنی داری هستند؛ ولی بین سایر نمونه ها اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۲).



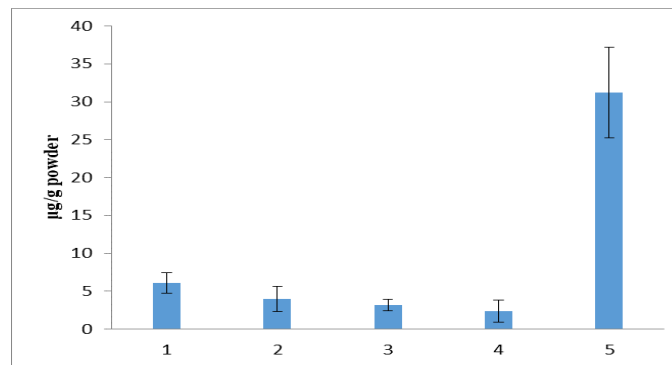
شکل ۲- مقایسه میانگین فلاونوئید در نمونه‌های ساقه از گونه‌های سس (*Cuscuta*)

نتایج تحلیل داده‌های مقدار کربوهیدرات کل (قند محلول)، در بین ۵ نمونه‌ی بررسی نشان داد که نمونه ۴ مربوط به دو آب مازندران (*C. chinensis*) با نمونه‌های دیگر اختلاف معنی‌داری دارند. ولی بین سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳).



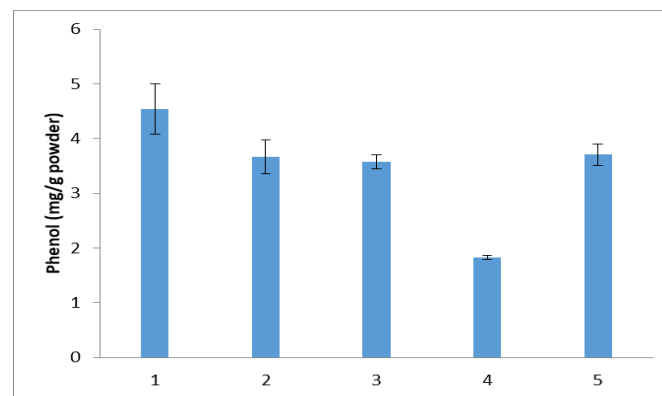
شکل ۳- مقایسه میانگین قند محلول، در نمونه‌های ساقه از گونه‌های سس (*Cuscuta*)

نتایج تحلیل داده‌های مقدار پروتئین کل، در بین ۵ نمونه‌ی بررسی نشان داد که، نمونه ۵ مربوط به گیلان (*C. australis*) با نمونه‌های دیگر اختلاف معنی‌داری داشته، ولی سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (شکل ۴).



شکل ۴- مقایسه میانگین پروکسین کل، در نمونه‌های ساقه از گونه‌های سس (*Cuscuta*)

نتایج تحلیل داده‌های مقدار فنل کل، در بین ۵ نمونه‌ی بررسی نشان داد که، نمونه ۴ مربوط به دوآب مازندران (*C. chinensis*) با نمونه‌های دیگر اختلاف معنی‌داری داشته، ولی سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (شکل ۵).



شکل ۵- مقایسه میانگین فنل کل، در نمونه‌های ساقه از گونه‌های سس (*Cuscuta*)

۴. بحث و نتیجه‌گیری

در اکوسیستم‌ها عواملی مانند دما، آب، مواد مغذی، نور و ارتفاع از عوامل تعیین کننده فراوانی و کیفیت گیاهان هستند. اگرچه مقدار متابولیت‌های ثانویه توسط ژن‌ها تعیین می‌شود، کمیت و کیفیت این مواد به شدت تحت تأثیر محیط قرار می‌گیرد (امید بیگی، ۱۳۸۴). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی (۹۱/۶۵ درصد) مربوط به گونه‌ی *C. campestris* جمع‌آوری شده در گلستان بوده، کمترین مقدار آن (۷۲/۱۹) برای گونه‌ی *C. campestris* می‌باشد؛ این مقادیر نشان می‌دهد که به طور کلی نمونه‌های بررسی شده، از نظر مقدار آنتی اکسیدان‌ها اختلاف معنی‌داری ندارند. نتایج میانگین فلاونوئید کل، در بین ۵ نمونه‌ی بررسی نشان داد که نمونه ۱ مربوط به گلستان (*C. campestris*) و نمونه ۳ مازندران (*C. campestris*) دارای اختلاف معنی‌داری هستند؛ ولی بین سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج تحلیل داده‌های مقدار کربوهیدرات کل (قند محلول)، نشان داد که نمونه ۴ مربوط به دوآب مازندران (*C. chinensis*) با نمونه‌های دیگر اختلاف معنی‌داری دارند. ولی بین سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج تحلیل داده‌های مقدار پروکسین کل،



نشان داد که، نمونه ۵ مربوط به گیلان (*C. australis*) با نمونه های دیگر اختلاف معنی داری داشته، ولی سایر نمونه ها اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند. تحلیل داده های مقدار فنل کل، نشان داد، نمونه ۴ مربوط به دو آب مازندران (*C. chinensis*) با نمونه های دیگر اختلاف معنی داری داشته، ولی سایر نمونه ها اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند.

آزمایش های زیادی برای تأیید گیاه درمانی این گیاه که توسط شفاگران سنتی و ساکنان محلی ادعا می شود، به کار گرفته شده است. *C. reflexa*, *C. chinensis*, *C. pedicellata*, *C. approximate*, *C. monogyna*, *C. campestris* و *C. mitraeformis* فعالیت آنتی اکسیدانی چشمگیری از خود نشان داده اند. *C. chinensis*, *C. australis*, *C. reflexa* و *C. epithymum* ماهیت محافظت کننده کبدی قابل توجهی دارند. برخی از گونه های *Cuscuta* از جمله *C. reflexa*، *C. chinensis*، *C. japonica*، *C. campestris* و *C. kotschyana* به طور بالقوه ضد تومور علیه رده های سلولی سرطانی مختلف گزارش شده اند. علاوه بر این، عصاره ها و ترکیبات خام از قسمت های مختلف دارای خواص ضدباکتری، ضدپوکی استخوان، ضدالتهاب، ضد فشارخون، ضد درد، ضد ریزش مو، ضد درد و ضد استروژن هستند (Mishra, et al., 2006). در مطالعه دیگری بین فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنلی کل اندام های هوایی سه گونه *Cuscuta* ایرانی ارتباط برقرار شد. *C. monogyna*، *C. approximate* و *C. campestris* با استفاده از روش میکروپلیت DPPH برآورد شدند. بیشترین غلظت ترکیبات فنلی در *C. monogyna* و *C. approximata* مشاهده شد. TPC عصاره متانولی گیاه تعیین شد (Jafari, et al., 2015). نتایج حاصل از تحلیل داده های مطالعه ی اخیر با آزمایشات سایر محققین در مورد گونه های جنس *Cuscuta* مطابقت دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از تمام افرادی که در انجام این پژوهش همکاری داشتند، از جمله اساتید و مسئولین دانشگاه گنبد کاووس به ویژه استاد گرانقدر زنده یاد آقای دکتر ستاریان نهایت تشکر و قدردانی را به جا می آورند.

منابع

- امیدبگی، ر. ۱۳۸۴. تولید و ساخت گیاهان دارویی. انتشارات به نشر. مشهد.
- قهرمان، ا. ۱۳۷۲. کروموفیت های ایران (سیستماتیک گیاهی)، جلد دوم، تهران. مرکز نشر دانشگاهی. ۳۸۲-۳۹۶ ص.
- Dawson, J. H. Musselman, L. J. Wolswinkel, P.I. Dorr, I. (1994). Biology and control of *Cuscuta*. *Revweed Sci.* 6:265-317.
- Hong, L. Shen, H. Chen, H. Li, L. Hu, X. Xu, X. Ye, W. and Wang, Z. (2011). The morphology and anatomy of the haustoria of the holoparasitic angiosperm *Cuscuta campestris*. *Pakistan Journal of Botany* 43: 1853-1859.
- Jafari, E. Bahmanzadegan, A. Ghanbarian, G. Rowshan, V. 2015. Antioxidant activity and total phenolic content from aerial parts of thre *Cuscuta* species. *Anal Chem Lett.* 5: 377-384.
- Jayasinghe, C., Wijesundara, D.S.A., Tennekoon, K.U. and Marambe, B. (2004). *Cuscuta* species in the lowlands of SriLanka, their host range and hostparasite association. *Trop. Agric. Res.* 16:223-241.
- Lee, M. S., Chen, C. J., Wan, L., Koizumi, A., Chang, W. T., Yang, M. J., ... & Lin, M. K. (۲۰۱۱). Quercetin is increased in heat-processed *Cuscuta campestris* seeds, which enhances the seed's antiinflammatory and anti-proliferative activities. *Process Biochemistry*, 46(12): 2248-2254

- Mishra, J.S., Moorthy, B.T.S., and Gogoi, A.K. (2006). Biology and Management of *Cuscuta*, NRC for Weed Science, Jabalpur (M.P.). p – 41.
- Noureen, Sh. Noreen, S. Ghomman, Sh. A. Batool, F. Bukhari, S. N. A. (2019). The genus *Cuscuta* (Convolvulaceae): An updated review on indigenous uses, phytochemistry, and pharmacology. Pharmaceutical Sciences. Volume 22, Issue 11, Pages 1225- 1252.
- Nwokocha, M. I. Aigbokhan, E. I. (2013). Host range and preference of *Cuscuta campestris* (Yunck). Among common weeds in Benin city, Nigeria. 26: 1-29.
- Pandit, S., Chauhan, N. S., & Dixit, V. K. (2008). Effect of *Cuscuta reflexa* Roxb on androgen-induced alopecia. Journal of Cosmetic Dermatology, 7(3): 199-204.



تأثیر طیف‌های مختلف نور بر خصوصیات روزنه‌ای برگ گیاه بادرشبویه (*Dracocephalum moldavica* L.)

مهدی مرادی^{۱*}، وحید شمس آبادی^۲، محمدناصر مودودی^۱

^۱گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی تربت جام، خراسان رضوی، ایران. (moradi@tjamcaas.ac.ir)

^۲گروه علوم و مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی تربت جام، خراسان رضوی، ایران.

چکیده

روزنه‌ها مهمترین کانال ارتباطی بین فضای درونی گیاه و محیط اطراف گیاه است که مهمترین نقش را در تبادلات گازی و هدایت هیدرولیکی گیاه بازی می‌کنند. در مطالعه حاضر به منظور بررسی خصوصیات روزنه‌ای گیاه بادرشبویه در واکنش به طیف‌های مختلف نوری از شش تیمار نوری شامل نور سفید، ۱۰۰٪ قرمز، ۷۰٪ قرمز + ۳۰٪ آبی، ۵۰٪ قرمز + ۵۰٪ آبی، ۳۰٪ قرمز + ۷۰٪ آبی و ۱۰۰٪ آبی ساطع شده از لامپ‌های LED با شدت نوری 250 ± 10 میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار استفاده شد. نتایج نشان داد گیاهانی که تحت نور آبی پرورش یافته‌اند دارای روزنه‌های بزرگتر با شکاف روزنه‌ای عریض‌تر بودند. با افزایش نسبت نور قرمز ابعاد و منفذ روزنه کوچکتر شد.

واژگان کلیدی: بادرشبویه، روزنه، کیفیت نور، LED



۱. مقدمه

روزنه ها تبادل گازهای برگ و از دست دادن آب از طریق تعرق را کنترل و مدیریت می کنند. این فعالیت ها برای پایداری نگه داشتن شرایط آبی گیاه، میزان فتوسنتز و دمای برگ حیاتی هستند. در میان عوامل محیطی، نور سیگنال مهمی است که بر عملکرد روزنه تأثیر می گذارد. سیستم های LED طیف های نوری چند گانه را برای تولید محصولات باغبانی فراهم می کند. میزان تأثیر کیفیت نور بر فتوسنتز نیز به طور بالقوه از طریق تأثیرات آن بر طیف جذب خاص رنگدانه های فتوسنتزی یا جذب ریز مغذی های ضروری در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی بررسی می شود (O'Carrigan *et al.*, 2014). علاوه بر فعالیت مستقیم فتوسنتز، کیفیت نور بسیاری از جنبه های فیزیولوژیکی دیگر که به طور غیر مستقیم بر فتوسنتز تأثیر می گذارد را تنظیم می کند. به عنوان مثال نور آبی در القای باز شدن روزنه ها به واسطه کریپتوکروم ها در گیاهان C3 نقش دارد (Hiyama *et al.*, 2017). طیف های آبی همچنین بر جابجایی کلروپلاست ها در سلول و بنابراین در جذب نور تأثیر می گذارند. مطالعات انجام شده بر روی گونه های مختلف گیاهی و وارته های گونه های یکسان نشان داد که ترکیب طیفی نور یکسان اثرات متفاوتی در پارامترهای فتوسنتزی و مورفولوژیکی و آناتومی در گونه های مختلف گیاهی دارد (Zotov *et al.*, 2020). بنابراین، مطالعات گسترده تری در مورد گونه ها و پاسخ های اختصاصی آنها به ترکیبات مختلف طیف نور مورد نیاز است.

۲. مواد و روش ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۳ تکرار در اتاقک رشد (فیتوترون) به صورت کشت بدون خاک اجرا شد. گیاهچه های آماده شده گیاه دارویی بادرشبویه، تحت تابش شش تیمار نوری با استفاده از لامپ های LED قرار گرفتند. با استفاده از نور قرمز با طول موج ۶۶۰ نانومتر و نور آبی با طول موج ۴۷۰ نانومتر پنج ترکیب نوری مختلف شامل نسبت ۱۰۰٪ قرمز، ۷۰٪ قرمز + ۳۰٪ آبی، ۵۰٪ قرمز + ۵۰٪ آبی، ۳۰٪ قرمز + ۷۰٪ آبی و ۱۰۰٪ آبی ایجاد گردید. در این آزمایش نور سفید LED نیز به عنوان کنترل (شاهد) در نظر گرفته شد. شدت نور با استفاده از دستگاه نور سنج در همه تیمارها یکسان و روی ۲۵۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه تنظیم شد. دیگر شرایط محیطی در اتاقک رشد به صورت دمای روزانه در ۱۶ ساعت روشنایی ۲۸±۱ درجه سانتی گراد، دمای شبانه در ۸ ساعت تاریکی ۲۰±۱ درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۶۵±۵ درصد تا پایان رشد گیاه تنظیم شد.

۲-۱. خصوصیات روزنه ای

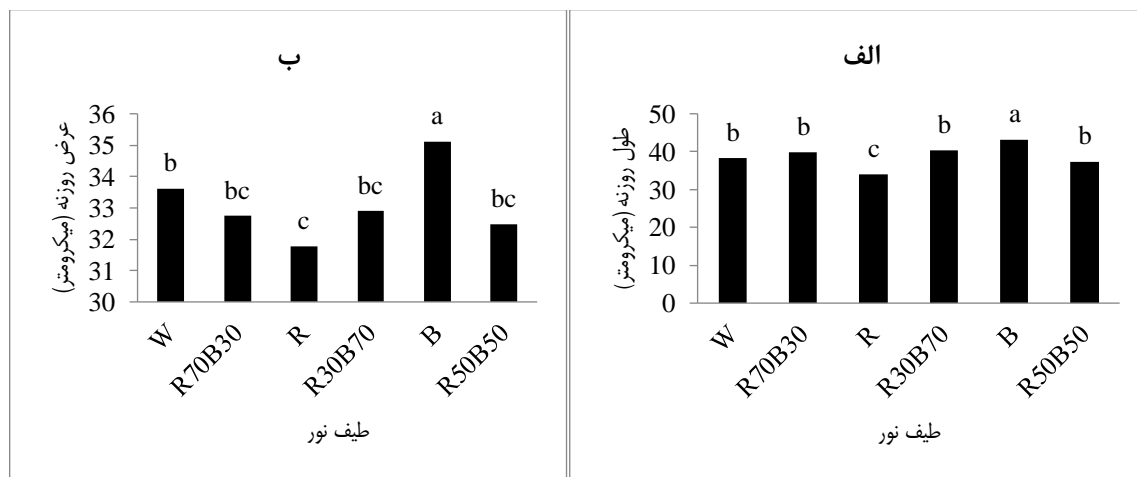
مورفولوژی روزنه ها شامل طول و عرض روزنه، طول و عرض منفذ روزنه در برگ های بالغ و توسعه یافته در پایان آزمایش اندازه گیری شد. برای این منظور اپیدرم زیرین برگ های جوان توسعه یافته که هنوز به گیاه متصل بودند با یک لایه نازک از لاک شفاف پوشیده شد، پس از گذشت ۱۰ دقیقه و خشک شدن لاک، با استفاده از چسب نواری شفاف لاک خشک شده از روی برگ جدا گردید و روی لام قرار گرفت. لام های حاوی نمونه ها با استفاده از میکروسکوپ نوری Omax با بزرگنمایی 40X بررسی شدند. در نهایت عکس روزنه ها با استفاده از دوربین متصل به میکروسکوپ و نرم افزار view

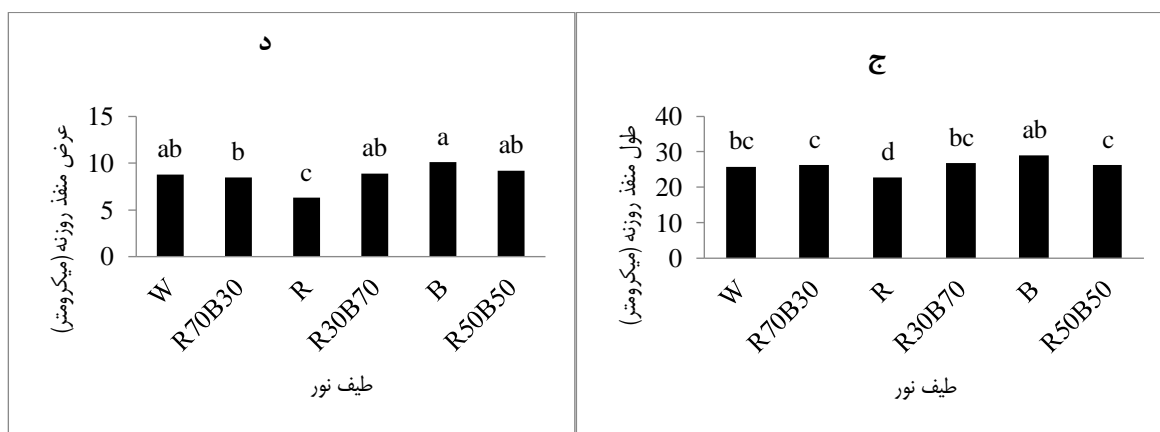


Omax top نسخه 3.5 تهیه شد. عکس‌های تهیه شده با استفاده از نرم افزار Digimizer مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای بررسی خصوصیات روزنه‌ای ۱۰۰ عکس روزنه به ازای هر تیمار نوری مورد ارزیابی قرار گرفت.

۳. نتایج

نتایج بیانگر تاثیر معنی‌دار در ارتباط با خصوصیات روزنه‌ای تحت طیف‌های نوری مختلف بود. بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، کمترین طول و عرض روزنه در تیمار نور قرمز و بیشترین طول و عرض روزنه در تیمار نور آبی مشاهده شد. بیشترین طول منفذ روزنه در نور آبی و کمترین مقدار آن در نور قرمز بود. بیشترین عرض منفذ روزنه در نور آبی مشاهده شد و با تیمارهای نوری سفید، ۵۰٪ قرمز + ۵۰٪ آبی و ۳۰٪ قرمز + ۷۰٪ آبی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و کمترین مقدار آن در نور قرمز بود (شکل ۱). روزنه‌ها تبادل گازهای برگ و از دست دادن آب از طریق تعرق را کنترل و مدیریت می‌کنند. فعالیت‌هایی که برای پایدار نگه داشتن شرایط آبی گیاه، میزان فتوسنتز و دمای برگ حیاتی هستند. در میان عوامل محیطی، نور سیگنال مهمی است که بر عملکرد روزنه تأثیر می‌گذارد. نور آبی توسط کریپتوکروم‌ها و فتوتروپین‌ها دریافت می‌شود و باعث باز شدن سریع روزنه می‌شود. همچنین، نور آبی با استفاده از تغییر در پتانسیل اسمزی، منجر به متورم شدن سلول‌های نگهبان و در نهایت باعث باز شدن روزنه می‌شود (Matthews et al., 2019). در نهال‌های خیار (*Cucumis sativus*)، افزایش نسبت نور آبی منجر به افزایش تعداد، عرض و مساحت منفذ روزنه شد (Savvides et al., 2012).





شکل ۱. خصوصیات روزنه‌ای برگ گیاه بادرشویه شامل طول روزنه (الف)، عرض روزنه (ب)، طول منفذ روزنه (ج) و عرض منفذ روزنه (د) تحت طیف‌های مختلف نوری (قرمز (R)، آبی (B)، سفید (W)، قرمز:آبی ۷۰:۳۰ (R70B30)، آبی:قرمز ۵۰:۵۰ (R50B50) و قرمز:آبی ۷۰:۳۰ (R30B70)) با شدت نور یکسان

۴. بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان دهنده تأثیرات طول موج آبی بر اندازه و باز شدن روزنه است که در نهایت بر فتوسنتز تأثیر می‌گذارد. عرض منفذ روزنه به عنوان مهمترین خصوصیت روزنه‌ای، نشان‌دهنده میزان باز بودن دهانه روزنه است. خصوصیات آناتومیک روزنه‌ای بطور قابل ملاحظه‌ای در گیاهان رشد کرده در طیف‌های مختلف نور متفاوت بود. به طور کلی بزرگترین اندازه روزنه با بیشترین عرض شکاف روزنه در گیاهان رشد کرده در نور آبی و در مقابل روزنه‌هایی با شکاف روزنه باریکتر در گیاهان رشد کرده در نور قرمز مشاهده شد. روزنه‌ها تبادل گازهای برگ و از دست دادن آب از طریق تعرق را کنترل و مدیریت می‌کنند. فعالیت‌هایی که برای پایدار نگه داشتن شرایط آبی گیاه، میزان فتوسنتز و دمای برگ حیاتی هستند. در میان عوامل محیطی، نور سیگنال مهمی است که بر عملکرد روزنه تأثیر می‌گذارد. نور آبی توسط کریپتوکروم‌ها و فتوتروپین‌ها دریافت می‌شود و باعث باز شدن سریع روزنه می‌شود. همچنین، نور آبی با تغییر در پتانسیل اسمزی، منجر به متورم شدن سلول‌های نگهبان و در نهایت باعث باز شدن روزنه می‌شود (Matthews *et al.*, 2019). این نتایج نشان دهنده تأثیرات طول موج آبی بر اندازه و باز شدن روزنه است که در نهایت بر فتوسنتز تأثیر می‌گذارد. یافته‌های ما نیز هم راستا با پژوهش‌های پیشین در ارتباط با اثر نور آبی بر تغییر مورفولوژی روزنه و افزایش اندازه روزنه‌ها بود (XiaoYing *et al.*, 2011).

منابع

- Hiyama, A., Takemiya, A., Munemasa, S., Okuma, E., Sugiyama, N., Tada, Y., Murata, Y. and Shimazaki, K.I. (2017). Blue light and CO signals converge to regulate light-induced stomatal opening. *Journal of Nature Communications*, 8: 1-12.
- Matthews, J.S.A., Violet-Chabrand, S. and Lawson, T. (2019). Role of blue and red light in stomatal dynamic behaviour. *Journal of experimental botany*, 71(7): 2253-2269.
- O'Carrigan, A., Babla, M., Wang, F., Liu, X., Mak, M., Thomas, R., Bellotti, B. and Chen, Z.H. (2014) Analysis of Gas Exchange, Stomatal Behaviour and Micronutrients Uncovers Dynamic Response and Adaptation of Tomato Plants to Monochromatic Light Treatments. *Plant Physiology and Biochemistry*, 82: 105-115.



- Savvides, A., Fanourakis, D. and van Ieperen, W. (2012). Co-ordination of hydraulic and stomatal conductances across light qualities in cucumber leaves. *Journal of Experimental Botany*, 63: 1135-1143.
- XiaoYing, L., ShiRong, G., ZhiGang, X., XueLei, J. and Tezuka, T. (2011). Regulation of chloroplast ultrastructure, cross-section anatomy of leaves, and morphology of stomata of cherry tomato by different light irradiations of light-emitting diodes. *HortScience*, 46: 217- 221.
- Zotov, V.S., Bolychevtseva, Yu.V., Khapchaeva, S.A., Terekhova, I.V., Shubin, V.V., Yurina, N.P. and Kulchin, Yu.N. (2020). Effect of Light Quality on the Biomass Yield, Photosystem 2 Fluorescence, and the Total Essential Oil Content of *Ocimum basilicum*. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 56: 336-343.



بررسی برخی پارامترهای فیتوشیمیایی گیاه عشقه (*Hedera*) در شمال ایران

لیلا رزاقی^{۱*}، الهام امینی^۱، فاطمه نصرالهی^۲، ندا عطازاده^۲، محمود صالحی^۲

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشگاه علوم پایه، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس. (lila23wsgtcwdxv@gmail.com)

^۲ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم.

^۳ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یاسوج، یاسوج.

چکیده

Hedera که پیچک نامیده می شود؛ سرده ای از ۱۵-۱۲ گونه از گیاهان چوبی همیشه سبز از خانواده Araliaceae بالا رونده یا زمین خزننده بومی اروپا غربی، اروپای مرکزی، اروپای جنوبی، ماکارونی، شمال غربی آفریقا، جنوب غربی آسیا شرقی تا ژاپن و تایوان است. اگر چه پیچک معمولی هم برای انسان و هم برای حیوانات غیر قابل خوردن است؛ اما برگهای آن سرشار از ترکیبات زیست فعال با اثرات مفید بر بدن انسان است. بررسی های فیتوشیمیایی وجود بخش های فعال بیولوژیکی مانند فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ساپورین ها و فنولیک ها را در این گیاه ثابت کرده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی برخی صفات فیتوشیمیایی جنس *Hedera* در شمال ایران می باشد. نتایج به این صورت بود که در اندازه گیری فنل کل ۵ نمونه مورد بررسی، نمونه ۲ *Hedera. helix* گلستان با نمونه ۴ *Hedera. pastuchovii* مازندران اختلاف معناداری را نشان داد؛ همچنین مقدار فلاونوئید کل نمونه ۲ *Hedera. helix* گلستان و نمونه ۳ *Hedera. pastuchovii* گلستان با نمونه ۴ *Hedera. pastuchovii* مازندران اختلاف معناداری را نشان داد. میانگین پرولین نمونه ۲ *Hedra. helix* گلستان با نمونه ۳ *Hedera. pastuchovii* گلستان اختلاف معناداری را نشان داد. در کربو هیدرات نمونه ۲ *Hedera. helix* گلستان با با نمونه ۳ *Hedera. pastuchovii* گلستان اختلاف معناداری را نشان داد. به طوری که بیشترین ترکیبات شیمیایی مربوط به استان گلستان بود.

واژگان کلیدی: فنل، فلاونوئید، گلستان، مازندران، *Hedera*



۱. مقدمه

ایران به دلیل موقعیت مطلوب از نظر ذخایر، ژنتیکی، اقلیمی و جغرافیایی سیاسی می تواند جایگاه مهمی را در زمینه گیاهان دارویی به خود اختصاص می دهد. گیاهان دارویی به عنوان درمان طبیعی مورد استفاده قرار می گرفتند. *Hedera* گیاهی با مشخصه برگ های ناجور شکل - برگ های متناوب چرمی دمبرگ دار، بدون گوشواره بوده، برگ های شاخه های عقیم کمابیش لوب دار است؛ گل آذین چتری تقریباً کروی، انتهایی منفرد قرار گرفته است. دمگل بدون بند، کاسه گل در حالت جوانی کرکدار و کرک فشرده، ستاره ای یا فلسی شکل، کاسه گل ۵ دانه ای، گلبرگ ۵ دانه ای سبز شونده و زرد شونده با لبه مماسی، پرچم به تعداد گلبرگ با کیسه و بساک تخم مرغی، تخمدان تحتانی ۵ حجره ای، خامه ۵ تایی بهم پیوسته با کلاله بدون پایک بوده؛ میوه سته، به رنگ سیاه، آبی آسمانی یا زرد شونده گاهی قرمز شونده با دانه های ۲-۵ تایی تخم مرغی شکل، سه وجهی و دارای برون بر گوشتی است (مظفریانی، ۱۳۸۳). گونه های این جنس به صورت درختچه ای همیشه سبز با ریشه هوایی و شاخه های عقیم پیچان هستند. این جنس، در آسیا صغیر - قفقاز تا ایران و اروپا و اروپا تا قفقاز - شمال ایران - شرق ماورای قفقاز پراکنش دارد. گونه این جنس، در شمال ایران، از آستارا تا گرگان پراکنش دارد (Metcalf, 2005).

از خواص درمانی گیاه عشقه می توان به مواردی چون ضد التهاب، ضد سرفه، ضد دردهای عصبی، ضد روماتیسم، ضد قارچ، کرم کش، ضد اسپاسم و ضد آسم اشاره کرد (Egual et al., 2007, Huntly et al., 2000). مصرف مواد شیمیایی و گیاهان دارویی از روش هایی است که در کنترل درد مورد استفاده قرار گرفته است. از سوی دیگر عوارض جانبی داروهای شیمیایی و قیمت بالای آنها سبب گرایش مجدد به طب گیاهی شده است. اثر ضددرد عصاره هیدروالکلی برگ گیاه عشقه در موش صحرایی ثابت گردیده است که احتمالاً از طریق فعال کردن مسیر اپیوئیدی می باشد (محمودی و همکاران، ۱۳۹۲). گونه های واکنش دهنده به اکسیژن، به ویژه رادیکال آزاد در بیماری های متعددی از جمله اختلالات عصبی، قلبی و التهابی نقش دارد. طبق تحقیقاتی که خان و همکاران در سال ۲۰۰۷ برای ارزیابی خاصیت ضد اکسیدانی *H. helix* انجام دادند؛ نتایج تایید کرد که عصاره این گیاه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی با مهار DNA با واسطه رادیکال آزاد و پراکسیداسیون لیپیدی است (Khan et al., 2007). این گیاه دارای طیف گسترده ای از متابولیت ها است و اثرات دارویی زیادی دارد. در تحقیقاتی که توسط (فام و همکاران، ۲۰۲۲) در ارتباط با ارزیابی پروفایل فیتوشیمیایی *H. helix* رشد یافته در مرکز ویتنام انجام شد، عصاره متابولیت پیچک دارای ۴۶ ترکیب شامل ۲۴ ساپورین و سایر ترکیبات شناسایی شد. برگ پیچک شامل فلاونوئید، کومارین، اسید فنولیک، استرون، الکلئیدها، آنتوسیانین ها به ویژه تریترپن ها می باشد. Hederagenin دارای فعالیت ضد توموری بالقوه است و هدراساپورین B دارای فعالیت ضد ویروسی از طریق مهار بیان پروتئین V2P ویروسی و مسدود کردن سنتز پروتئین کسپید ویروسی در برابر آنترو ویروس ۷۱ ژنوتیپ C3، C4a می باشد. a-hederin اثر مهار قوی بر رشد سلول سرطان سینه دارد و آپوپتوز را در این سلول ها ترویج می دهد. Hederacosied دارای اثر ضد التهابی حاد ریه ناشی از استافیلوکوک است (Pham et al., 2022). هدف از این مطالعه، اندازه گیری برخی ترکیبات شیمیایی از قبیل فنل و فلاونوئید، پرولین، کربوهیدرات، کلروفیل و فعالیت آنتی اکسیدانی می باشد.

2. مواد و روش ها

2-1. منطقه مورد مطالعه

در این تحقیق، برای انجام مطالعات فیتوشیمیایی گیاه *Hedera*، نمونه‌هایی از مناطق مختلف شمال ایران از سه استان گلستان، مازندران و گیلان جمع‌آوری شد (شکل ۱). نمونه‌های جمع‌آوری شده برای شناسایی به هرباریوم دانشگاه گنبد کاووس (GKUH) منتقل شد. شناسایی نمونه‌ها با مراجعه به فلور ایرانیکا انجام شد. از ۱۳ نمونه جمع‌آوری شده، ۶ نمونه مربوط به استان گلستان و ۳ نمونه از استان گیلان (نمونه‌های خانم مرادخانی) و ۳ نمونه از مازندران و یک نمونه مربوط به باغ ملی گیاه‌شناسی کرج می‌باشد (جدول ۱).

شکل 1- زیستگاه طبیعی *Hedera*جدول 1- نمونه‌های جمع‌آوری شده *Hedera*

ردیف	جمع‌آوری کننده	شماره هرباریوم	نام مکان	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (m)	نام نمونه
۱	مرادخانی	۸۰۳۲۹۸	تهران-کرج	52.196° N	37.389° E	۱۲۵۰	<i>Hedera. helix</i>
۲	فندرسکی	۸۰۴۰۵۱	گلستان- علی‌آباد	54.958° N	37.352° E	۲۸۸	<i>Hedera. helix</i>
۳	رزاقی	۸۰۴۷۱۳	گلستان- تنگراه	55.779° N	37.453° E	۴۶۱	<i>Hedera. pastuchovii</i>
۴	رزاقی	۸۰۴۷۱۱	گلستان- گنبد کاووس	55.167° N	37.631° E	۴۰	<i>Hedera. pastuchovii</i>



<i>Hedera. helix</i>	۸۹۱	36.431° E	54.481° N	گلستان - زیارت	۸۰۴۷۱۴	رزاقی	۵
<i>Hedera. helix</i>	۶۲۸	36.750° E	54.486° N	گلستان - ناهارخوران	۸۰۴۷۱۵	رزاقی	۶
<i>Hedera. helix</i>	۱۸۳	36.744° E	54.119° N	گلستان - کردکوی	۸۰۴۷۲۱	رزاقی	۷
<i>Hedera. helix</i>	۱۷	36.734° E	53.810° N	مازندران - گلوگاه	۸۰۴۷۱۷	رزاقی	۸
<i>Hedera. helix</i>	۰	36.698° E	53.538° N	مازندران - بهشهر	۸۰۴۷۱۶	رزاقی	۹

جدول ۱- نمونه‌های جمع‌آوری شده *Hedera*

ردیف	جمع‌آوری کننده	شماره هر بار یومی	نام مکان	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع	نام گونه
۱۰	مرادخانی	۸۰۳۲۷۹	مازندران - نور	54.281° N	36.460° E	۱۷-	<i>Hedera. helix</i>
۱۱	مرادخانی	۸۰۳۳۸۴	گیلان - اسالم خلخال	48.964° N	37.720° E	۱۱۰	<i>Hedera. helix</i>
۱۲	مرادخانی	۸۰۳۲۹۲	گیلان - فومن	49.230° N	37.424° E	۱۰	<i>Hedera. helix</i>
۱۳	مرادخانی	۸۰۳۲۸۹	گیلان - جنگل گیسوم	48.550° N	37.424° E	3	<i>Hedera. helix</i>

تحقیقات فیتوشیمیایی شامل فنل کل، فلاونوئید کل، اسید آمینه پرولین، قند محلول، فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH، کلروفیل (a-b) و کاروتنوئید می‌باشد. عصاره‌ی این نمونه‌ها با استفاده از متانول ۸۰ درصد به عنوان حلال استخراج شد. در مرحله استخراج، پس از خشک شدن کامل، نمونه‌ها را با آسیاب صنعتی به صورت پودر درآورده و به مقدار ۰/۵ گرم از برگ‌های خشک و پودر شده را با ترازو دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شد و عصاره متانول ساخته شد. برای استخراج ۱۰ سی سی متانول ۸۰ درصد، به ازای هر گرم نمونه پودر گیاهی در لوله مخصوص ریخته شد و به مدت ۴۸ ساعت روی شیکر در تاریکی قرار گرفت و در مرحله بعد با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه انکوبه شد. و در مرحله بعد با استفاده از کاغذ صافی جدا گردید. سپس با فیلتراسیون در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد، ۵ سی سی از هر عصاره در لوله مخصوص ریخته و عصاره در آون با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد، برای اندازه‌گیری وزن خشک، خشک گردید. مقدار ۵ سی سی از عصاره باقی مانده را برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی استفاده می‌شود. این کار با اندازه‌گیری کاهش شدت جذب توسط طیف‌سنجی تعیین کرد. در این روش ۲ میلی‌لیتر استاک تهیه شد. DPPH (۰/۰۰۴ گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) در لوله آزمایش ریخته شد و سپس ۰/۱ از هر عصاره به آن اضافه گردید و ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. داده‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از



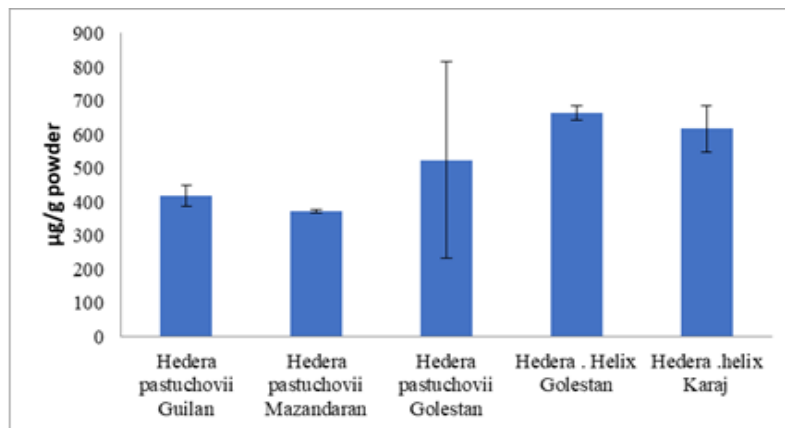
متانول به عنوان محلول خوانده شد. در این مطالعه به طور کلی ۵ تست از مجموع ۱۳ نمونه جمع آوری شده انجام شد؛ نمونه ۱ مربوط به *Hedera. helix* مربوط به باغ ملی گیاه شناسی کرج می باشد، نمونه شماره ۲ مربوط به *Hedera. helix* استان گلستان شامل زرین گل علی آباد کتول، گنبد کاووس، تنگه راه گلستان می باشد. نمونه ۳ *Hedera. pastuchovii* استان گلستان، شامل زیارت گرگان، ناهارخوران گرگان و کردکوی جنگل امام رضا می باشد. نمونه شماره ۴ *Hedera. pastuchovii* استان مازندران شامل گلوگاه، بهشهر و نور می باشد و نمونه شماره ۵ شامل اسالم خلخال، فومن و جنگل گیسوم می باشد. اندازه گیری محتوای فلاونوئید: براساس روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید انجام شد. از غلظت های مختلف کوثرستین ۱۰۰/۱۲-۵ میکروگرم/میلی لیتر در متانول جهت رسم منحنی استاندارد استفاده شد و محتوای فلاونوئید به صورت اکی والان های کوثرستین / گرم وزن خشک بیان شد.

اندازه گیری کربوهیدرات کل: محتوای کربوهیدرات براساس فرمول اسیدسولفوریک (Irrigoyen. et al., 1992) تعیین شد. افزودن اسیدسولفوریک (H_2SO_4) در این روش، محلول را گرم و رنگ آن را تیره می کند؛ این نشان دهنده وجود قند محلول در عصاره است. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت ppm استفاده شد. اندازه گیری پرولین: در این روش هنگامی که یک اسید آمینه با نین هیدرین در محلول اسیدی واکنش می دهد، رنگ قرمز ایجاد خواهد شد. وجود رنگ قرمز به دلیل تولید پیرول دیکتوهیدرندیلین (Diketohydrindilidene) می باشد. که از اسید آمینه و نین هیدرین در محلول اسیدی است. محتوای اسید آمینه آزاد نمونه با استفاده از منحنی استاندارد پرولین تعیین و مقدار آن بر حسب گرم وزن نمونه محاسبه شد.

اندازه گیری فنل: میزان فنل کل از روش رنگ سنجی (Foline- ciocalteu) اندازه گیری شد (Slinkard & Singleton, 1977). از اسید گالیک جهت رسم نمودار استاندارد استفاده شد. مقدار کل مواد فنلی با استفاده از مواد فنلی عصاره از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه شد. نتایج بر حسب میلی گرم اسید گالیک مربوط به یک گرم عصاره یادداشت شد و هر نمونه به تعداد سه تکرار انجام و میانگین گیری شد.

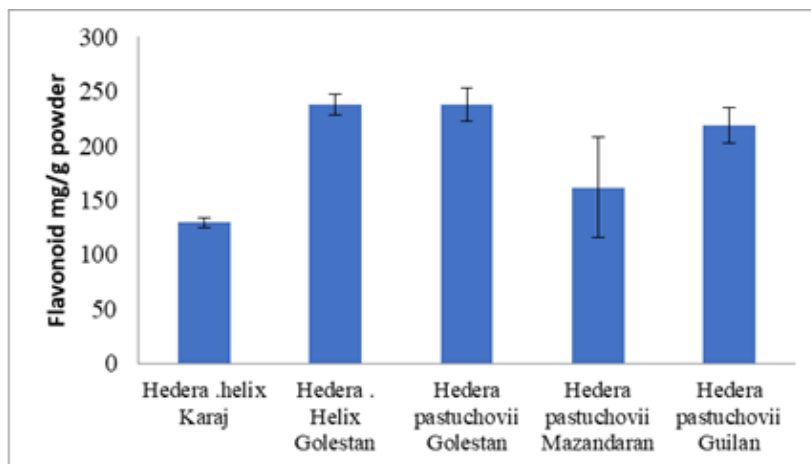
3. نتایج

در این مطالعه صفات فیتوشیمیایی از جمله فعالیت آنتی اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفته شد. در مقایسه با میانگین، بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی (۹۴/۱۸ درصد) مربوط به گونه *Hedera. pastuchovii* مازندران و کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی (۴۹/۹۴ درصد) مربوط به *Hedera. helix* استان گلستان می باشد.



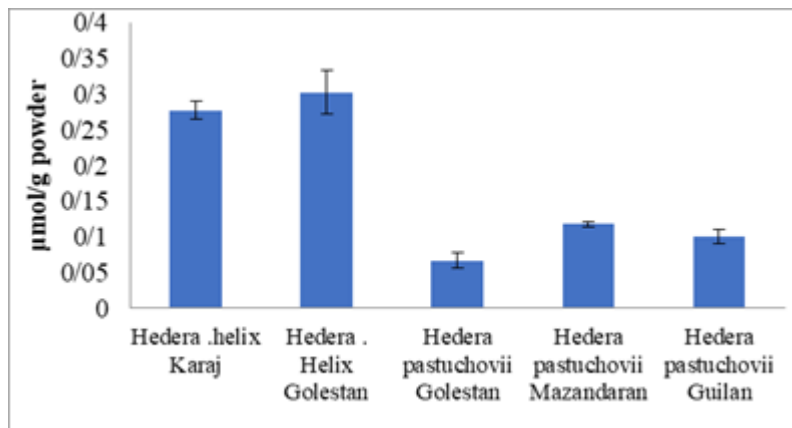
شکل ۲- مقایسه میانگین فنل کل در نمونه‌های برگ عشقه (*Hedera*)

مقایسه میانگین فنل کل اندازه‌گیری شده، در برگ گونه‌های جنس *Hedera* در سه استان شمالی، شامل گلستان، مازنداران و گیلان نشان می‌دهد؛ بیشترین میزان فنل کل در گونه *Hedera. helix* گلستان و کمترین میزان فنل کل در *Hedera. pastuchovii* مازنداران، مشاهده شد بین سایر نمونه‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد.



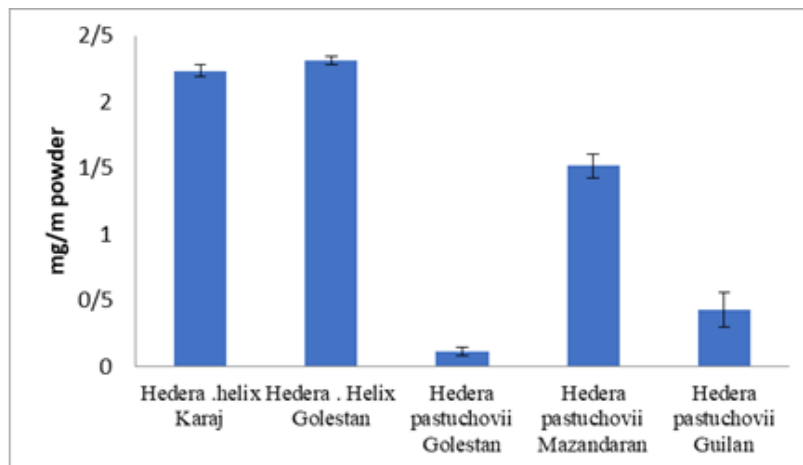
شکل ۳- مقایسه میانگین فلاونوئید کل در نمونه برگ عشقه (*Hedera*)

مقایسه میزان فلاونوئید کل، در برگ گونه‌های جنس *Hedera* در سه استان شمالی شامل گلستان، مازنداران و گیلان نشان می‌دهد که بیشترین میزان فلاونوئید در گونه *Hedera. helix* و *Hedera. pastuchovii* در استان گلستان و کمترین میزان فلاونوئید در گونه *Hedera. pastuchovii* مازنداران مشاهده شد.



شکل 4- مقایسه میانگین اسید آمینه پرولین در برگ عشقه (*Hedera*)

مقایسه میزان اسید آمینه پرولین در سه استان شمالی، شامل گلستان، مازندران و گیلان نشان می دهد بیشترین میزان پرولین در گونه *Hedera. helix* استان گلستان و کمترین میزان پرولین در گونه *Hedera. pastuchovii* استان گلستان می باشد.



شکل 5- مقایسه میانگین قند محلول در برگ عشقه (*Hedera*)

مقایسه میزان قند محلول گونه های جنس *Hedera. helix* در استان گلستان، مازندران و گیلان، تفاوت معناداری را نشان می دهد که بیشترین میزان قند محلول در گونه *Hedera. helix* استان گلستان و کمترین میزان قند محلول *Hedera. pastuchovii* استان گلستان مشاهده شد.

4. بحث و نتیجه گیری

عوامل محیطی مانند حرارت، نور خورشید، فشار، ارتفاع، آب، عرض جغرافیایی در رشد گیاه و میزان اسانس آن تاثیر گذار است (بهرامی و همکاران، 1397). رویشگاه نقش بسیار زیادی به عنوان عامل تاثیر گذار در تجمع متابولیت های ثانویه دارد. عوامل محیطی مانند ارتفاع از سطح دریا، خاک، رطوبت، نور و دما از مهم ترین عوامل تاثیر گذار در تجمع متابولیت های ثانویه

می باشد (سعیدی و همکاران، ۱۳۹۷). نقش رویشگاه به عنوان عامل موثر در تجمع متابولیت ها به اثبات رسیده است. محل رشد گیاهان از طریق تغییر رطوبت و دما بر فرایند تشکیل مواد موثر می تواند داشته باشد. نتایج تاثیر محیط بر مکانیسم تجمع متابولیت های ثانویه به درستی آشکار نشده است اما این مطلب که تاثیر محیط در فرایند تولید متابولیت ها و آنزیم های مرتبط با آن، در نوع و شدت واکنش های شیمیایی تاثیر گذار است، مورد تایید قرار گرفته است (نریمانی و همکاران، ۱۳۹۶). با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات که در گذشته صورت گرفته است، نقش رویشگاه به عنوان عامل تاثیر گذار در تجمع متابولیت های ثانویه تاکید شده است. نتایج نشان داد که بیشترین میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به *Hedera. pastuchovii* مازندران (۹۴/۱۸ درصد) و کمترین میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به *Hedera. helix* استان گلستان (۴۹/۹۴ درصد) می باشد. در مقایسه میانگین مقدار فنل کل در استان گلستان، مازندران و گیلان نشان داد که بیشترین مقدار فنل کل مربوط به *Hedera. helix* استان گلستان و کمترین مقدار فنل مربوط به *Hedera. pastuchovii* مازندران می باشد. مقایسه میزان فلاونوئید در سه استان گلستان، مازندران و گیلان نشان داد که بیشترین مقدار فلاونوئید در *Hedera. helix* و *Hedera. pastuchovii* استان گلستان و کمترین مقدار فلاونوئید *Hedera. pastuchovii* مازندران می باشد. مقایسه میانگین اسید آمینه پرولین در استان های گلستان، مازندران و گیلان نشان داد که بیشترین مقدار اسید آمینه پرولین در *Hedera. helix* استان گلستان و کمترین مقدار پرولین در *Hedera. pastuchovii* استان گلستان می باشد. مقایسه مقدار قند محلول در سه استان گلستان، مازندران و گیلان نشان داد که بیشترین مقدار قند محلول در *Hedera. helix* استان گلستان و کمترین مقدار قند محلول در *Hedera. pastuchovii* استان گلستان مشاهده شد. از آنجایی این گیاه خواص ضد التهابی و ضد سرفه، ضد دردهای عصبی، ضد رماتیسم، ضد قارچ، کرم کش، ضد اسپاسم و ضد آسم دارد، تحقیق در این مورد می تواند موثر واقع شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از تمام افرادی که در انجام این پژوهش همکاری داشتند، از جمله اساتید و مسئولین دانشگاه گنبد کاووس به ویژه استاد گرانقدر زنده یاد آقای دکتر ستاریان نهایت تشکر و قدردانی را به جا می آورند.

منابع

- بهرامی، م. ع.، نصیری، م. ۱۳۹۷. ارزیابی خصوصیات مورفولوژیکی و عملکرد اسانس برخی از جمعیت های سه گونه از پونه سا (*Nepeta Spp.*). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران.
- سعیدی، ک.، لریگوینی، ز.، کریمی، م.، مختاریان، ف.، آزاده، ز. ۱۳۹۷. مطالعه کمیت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی *LMelissa officinalis L. Achillea millefolium L. Thymus vulgaris L.* در شرایط اقلیمی شهرکرد، اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۳۱۶ (صفحات ۲۱-۳۱).
- محمودی، م.، محمدی، س.، شهیدی، س. ۱۳۹۲. بررسی اثر ضد درد عصاره ی هیدرو الکلی برگ گیاه عشقه در موش صحرایی نر. مجله ی علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، دوره بیستم، شماره ۲، شماره مسلسل ۶۸.
- مظفریانی، و. ۱۳۸۳. درختان و درخچه های ایران (تیره عشقه). صفحه ۳۴-۳۸. چاپ فرهنگ.



نریمانی، ر.، مقدم، م.، قاسمی پیربلوطی، ع.، شکوهی، د.، ۱۳۹۶. بررسی تنوع مورفولوژیکی، محتوای فنل و فعالیت آنتی اکسیدانی جمعیت‌های مختلف گونه‌های *Nepeta Crassifolia* و *Nepeta Nuda* در رویشگاه استان‌های اردبیل و آذر بایجان شرقی. فصلنامه

اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی 19(59):13-22.

Egualé, T., Tilahun, G., Debellá, A., Feleke, A., Makonnen, E., (2007). Haem on chus contortus: In vitro and invivo anthelminiti activity of aqueous and hydro-alcoholic extracts of *Hedera helix*. Exp parasitol:116:340-5

Khan, S., Shah, A.J., Ali, N.A., Gilani, A.H., (2007). Antioxidant activity of *Hedera helix* leaves extract. Iranian congress of Pharmacology.

Metcalfé, D.J., (2005). *Hedera helix* L. J Ecol 93:632–648.

Pham, H.N., Tran, C.A., Trinh, T.D., Thi, N.L.N., Phan, H.N.T., Le, V.N., Le, N.H., Phung, V.T., (2022). UHPLC-Q-TOF-MS/MS Dereplication to Identify Chemical Constituents of *Hedera helix* Leaves in Vietnam. Journal of Analytical Methods in Chemistry. ID 1167265, 18 pages.



مطالعه استخراج اسانس و تعیین ترکیبات مهم آن در گیاه زعفران کشت شده در استان لرستان

اسفندیار حسینی مقدم^۱، مجید محمودی^۲، مریم رضانی^۳ و مهدی شعبان^{۴*}

^۱ موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

^۲ دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ص. پ ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران.

^۳ مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان، خرم آباد، ایران.

^{۴*} محقق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان، پردیس تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی بروجرد، بروجرد، ایران.

(Shaaban.mehdi@gmail.com)

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی اسانس و ترکیبات آن در گیاه دارویی زعفران کشت شده در نقاط مختلف استان لرستان انجام شد. آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۸ به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در این مطالعه ۱۲ شهرستان‌های استان لرستان خرم‌آباد، بروجرد، دورود، کوهدشت، ازنا، الیگودرز، سلسله، دلفان، الشتر، پلدختر، دوره چگنی و رومشکان تیمارهای آزمایشی بودند. نتایج نشان داد اثر تیمار مکان بر حداکثر رطوبت و مواد فرار، ساfranال، کروسین و پیکروکروسین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایش نشان داد بالاترین میزان ساfranال اسانس در زعفران کشت شده در شهرستان دورود به میزان حداکثر جذب ۵۴ حاصل گردید. همچنین بیشترین میزان کروسین (حداکثر جذب ۳۴۳/۵) و پیکروکروسین (حداکثر جذب ۱۴۴) در شهرستان بروجرد به دست آمد. شهرستان بروجرد و دورود جزو شهرستان‌ها معتدل استان هستند و شهرستان ازنا جزو شهرستان‌های سرد استان لرستان هستند. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که برای دستیابی به بالاترین میزان ترکیبات مهم در اسانس می‌توان زعفران را در شهرستان‌های معتدل استان مانند بروجرد و دورود کشت نمود ولی به آزمایشات تکمیلی جهت تأیید این مطلب نیاز می‌باشد.

واژگان کلیدی: اسانس، زعفران، ساfranال، کروسین، لرستان.



۱. مقدمه

زعفران (*Crocus sativus* L.) به عنوان گران‌بهارترین ادویه جهان، جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات صادراتی ایران دارد (Ismailian et al., 2022). زعفران در مناطق خشک و نیمه خشک که زمستانهای سرد و تابستانهای گرم و خشک دارند و همچنین در اقلیم‌های نیمه استوایی و معتدل قابلیت رشد دارد (Ismailian et al., 2022). ایران یکی از مهمترین تولیدکنندگان زعفران در جهان است و حدود ۹۰ درصد از تولید این گیاه و بیش از ۸۴ درصد سطح زیر کشت زعفران در دنیا به ایران تعلق دارد (Koocheki, 2013). علیرغم سازگاری گیاه زعفران با مناطق وسیعی از کشور، قسمت اعظم این محصول کشاورزی در مناطقی از خراسان مرکزی و جنوبی با وجود خشکی و بارندگی کم، به علت موقعیت مناسب اقلیمی و دانش بومی کشت و کار و تولید می‌گردد (Malafilabi et al., 2018). یکی از عواملی که بر تولید کمی و کیفی محصول اثر دارد شرایط اقلیمی منطقه‌ای است که زعفران در آن کشت شده و این شرایط می‌تواند تولید گل و کیفیت اسانس را تحت تأثیر خود قرار دهد. محققین بسیاری عنوان داشته‌اند که عوامل اقلیمی تأثیر زیادی بر تولید زعفران داشته و بیشترین تأثیرپذیری عملکرد و اجزای عملکرد زعفران از عوامل اقلیمی می‌باشد (Kozegaran et al., 2011). عوامل اقلیمی اثرگذار بر تولید زعفران بارندگی، درجه حرارت و ارتفاع از سطح دریا می‌باشد (Faizi & Moradi, 2020). در طی فصل تابستان که گیاه زعفران در حال رکود از اردیبهشت تا مهر ماه است بارش باران کمتر باعث کیفیت و کمیت بیشتر زعفران تولیدی می‌گردد (Abrishami, 2009). درجه حرارت یکی از مهمترین عوامل اثرگذار بر گلدهی و در نتیجه تولید گل در زعفران می‌باشد (Koocheki et al., 2017). گرم شدن هوا تا حد بالا ممکن است عملکرد نهایی گل و کلاله زعفران را کاهش دهد (Esmaelnejad, 2017). جهت امکان سنجی کشت زعفران بایستی مناطق مستعد را از نظر عوامل اقلیمی در کشور شناسایی نمود تا بتوان تولید زعفران را در کشور افزایش داد. یکی از راه‌های افزایش عملکرد زعفران افزایش سطح زیر کشت آن از طریق شناسایی مناطق مستعد کشت و تولید این گیاه دارویی ارزشمند جهت مصارف داخلی، صادرات و همچنین به منظور استخراج ترکیبات مهم موجود در اسانس آن می‌باشد. از این رو این مطالعه به منظور بررسی مناطق مختلف مستعد کشت زعفران در استان لرستان و اثر شرایط آب و هوایی هر شهرستان بر ترکیبات مهم موجود در اسانس زعفران صورت گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

این مطالعه به منظور بررسی امان سنجی کاشت و برداشت اقتصادی زعفران و مطالعه تغییران در مهمترین ترکیبات اسانس زعفران در شهرستان‌های مختلف استان لرستان صورت گرفت. آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۸ به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در این مطالعه شهرستان‌های مختلف استان لرستان مشتمل بر ۱۲ شهرستان مختلف به عنوان تیمار در نظر گرفته شدند. این شهرستان‌ها عبارت بودند از خرم‌آباد، بروجرد، دورود، کوهدشت، ازنا، الیگودرز، سلسله، دلفان، الشتر، پلدختر، دوره چگنی و رومشکان بودند. زمین مورد کشت که در سال قبل از کاشت زعفران آیش بوده با گاواهن برگردان دار شخم زده شد و پیازهای زعفران در این اراضی کاشته شد. عملیات کاشت زعفران در مهر ماه با استفاده از بنه‌های ۶ تا ۱۰ گرمی و پس از یک دیسک سنگین انجام شد. برای اندازه‌گیری صفات مورد نظر نمونه‌برداری از کرت‌های آزمایشی همزمان با شروع



گلدهی زعفران آغاز شد و در هر کرت با حذف اثرات حاشیه گل‌های ظاهر شده به صورت روزانه جمع آوری شدند. فقط ۴ شهرستان توانستند عملکرد اقتصادی تولید نموده و اجزای عملکرد در این ۴ شهرستان اندازه گیری شد. البته زعفران کشت شده در همه شهرستان‌ها تولید گل داشتند و از گل و اسانس همه آنها برای آنالیز اسانس استفاده گردید.

آنالیز اسانس نمونه‌های زعفران با استفاده از دستگاه HPLC مدل Agilent چهار حلاله با اتوسمپلر و دکتور Spectrophotometr G162ZA و ستون Erospher به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۴ میلی‌متر انجام شد. کنترل ستون و دما با ترموستات G1316A صورت گرفت. در این دستگاه برای اندازه‌گیری کرو سین در طول موج ۴۴۰ نانومتر تنظیم گردید. فاز متحرک آن اتیل استات، ایزوپروپانول و آب به نسبت ۱۰:۳۴:۵۶ و با شدت جریان ۰/۴ میلی‌لیتر در دقیقه انجام شد و مقدار ۲۰ میکرولیتر از این نمونه به مدت ۴۰ دقیقه به دستگاه تزریق گردید. برای پیکروکرو سین نیز از طول موج ۲۵۰ نانومتر استفاده شد و فاز متحرک شامل آب، استونیتریل و متانول به نسبت ۴۸۰:۱۵:۵۰ و شدت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه به مدت ۴۰ دقیقه صورت گرفت. برای سافرانال نیز از طول موج ۳۱۰ نانومتر استفاده شد که فاز متحرک شامل آب، استونیتریل و متانول به نسبت ۴۸۰:۱۵:۵۰ به میزان جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه به مدت ۶۰ دقیقه انجام شد. برای رسم منحنی استاندارد از $C_{44}H_{64}O_{24}$ و با مشخصات $Mr=976.98$ استفاده شد. این نمونه با متانول در ۴ غلظت تهیه گردید. در پایان آزمایش نیز داده‌های این مطالعه توسط نرم‌افزار آماری SAS ver. 9.3 تجزیه شدند و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. رسم گراف‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار اکسل صورت گرفت.

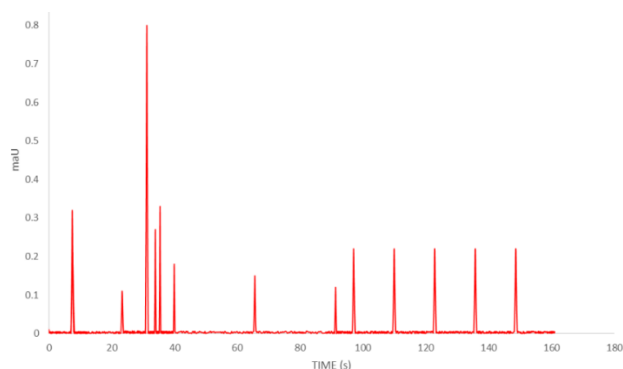
۳. نتایج

در این مطالعه نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار مکان بر صفات اندازه‌گیری شده از قبیل حداکثر رطوبت و مواد فرار، سافرانال، کرو سین و پیکروکرو سین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). کروماتوگرافی اسانس کامل زعفران با استفاده از دستگاه HPLC در شکل ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- تجزیه واریانس مهمترین اجزای اسانس زعفران کاشته شده در نقاط مختلف استان لرستان

منابع تغییرات	درجه آزادی	رطوبت و مواد فرار	سافرانال	کرو سین	پیکروکرو سین
بلوک	۲	۰/۰۰۰۲	۱۳۹	۶۷۵	۲۲۱
تیمار مکان	۱۱	۰/۰۰۷**	۱۸۶**	۳۰۸۱**	۱۱۷۸**
خطا	۲۲	۰/۰۰۰۰۰۹	۴۵	۲۹۴	۳/۶۱
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۸۶	۳/۱	۱/۵۳	۱/۸۷

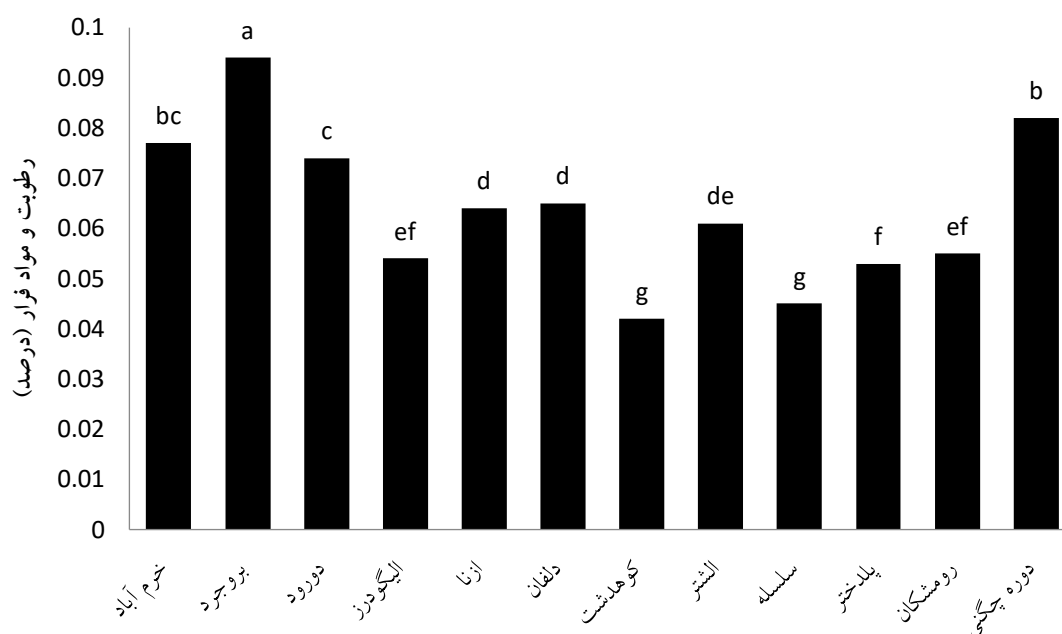
و* به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد



شکل ۱- دیاگرام کروماتوگرافی اسانس زعفران با استفاده از دستگاه HPLC

۳-۱. رطوبت و مواد فرار اسانس زعفران

بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارهای آزمایش مشخص شد که بین زعفران کشت شده در شهرستانهای مختلف استان لرستان از نظر حداکثر میزان رطوبت و مواد فرار اختلاف وجود داشته و مشخص شد که زعفران کشت شده در شهرستان بروجرد دارای بالاترین میزان رطوبت و مواد فرار به میزان ۰/۰۹۴ درصد بود و پس از این شهرستان، دوره چگنی دارای بالاترین میزان رطوبت و مواد فرار به میزان ۰/۰۸۲ درصد بود. همچنین نتایج نشان داد شهرستان خرم آباد در رده سوم (۰/۰۷۷ درصد) قرار داشت. بین دو شهرستان دلفان و ازنا از این نظر اختلاف معنی داری وجود نداشت و بر اساس این نتایج مشخص شد که کمترین میزان رطوبت و مواد فرار اندازه گیری شده در اسانس زعفران کاشته شده در شهرستان کوهدشت (۰/۰۴۲ درصد) اندازه گیری شد (شکل ۲).



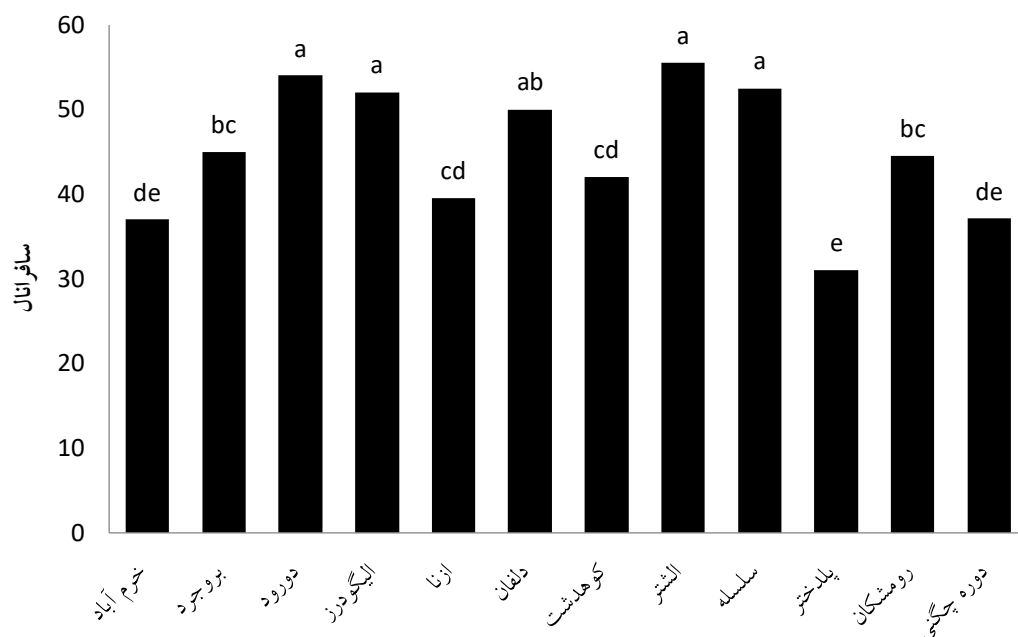
شکل ۲- رطوبت و مواد فرار اندازه گیری شده در اسانس زعفران کاشته شده در شهرستانهای مختلف استان لرستان



-ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

۳-۲. سافرانال

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌های آزمایش نشان داد که بالاترین میزان سافرانال اندازه‌گیری شده در اسانس زعفران کشت شده در شهرستانهای مختلف استان لرستان متعلق به شهرستان الشتر (حداکثر جذب ۵۵/۵) بود و این شهرستان از این نظر با شهرستانهای بروجرد (حداکثر جذب ۵۴)، سلسله (حداکثر جذب ۵۲/۵) و الیگودرز (حداکثر جذب ۵۲) اختلاف آماری معنی‌داری نداشت ولی اختلاف این ۴ شهرستان از نظر میزان سافرانال اسانس با سایر شهرستانهای استان لرستان معنی‌دار بود. در بین زعفران‌های کاشته شده در نقاط مختلف استان لرستان زعفران کشت شده در شهرستان پلدختر دارای کمترین میزان سافرانال به میزان حداکثر جذب ۳۱ بود و با سایر شهرستان‌های استان به جز شهرستان‌های خرم‌آباد (حداکثر جذب ۳۷) و دوره چگنی (حداکثر جذب ۳۷/۱) دارای اختلاف آماری معنی‌دار بود (شکل ۳).



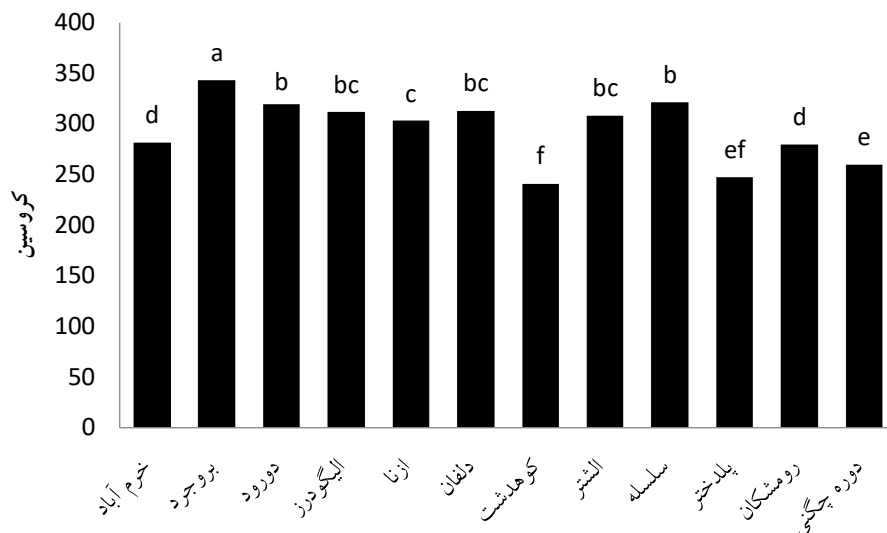
شکل ۳- سافرانال اندازه‌گیری شده در اسانس زعفران کاشته شده در شهرستانهای مختلف استان لرستان

-ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

۳-۳. کروسین

میزان کروسین موجود در اسانس زعفران کشت شده در نقاط مختلف استان لرستان با هم متفاوت بود و کروسین موجود در اسانس زعفران کشت شده در شهرستان بروجرد به طور معنی‌داری بیشتر از سایر شهرستان‌های استان لرستان بود (حداکثر جذب ۳۴۳/۵). پس از شهرستان بروجرد بیشترین میزان کروسین در اسانس زعفران کشت شده در شهرستان سلسله به میزان

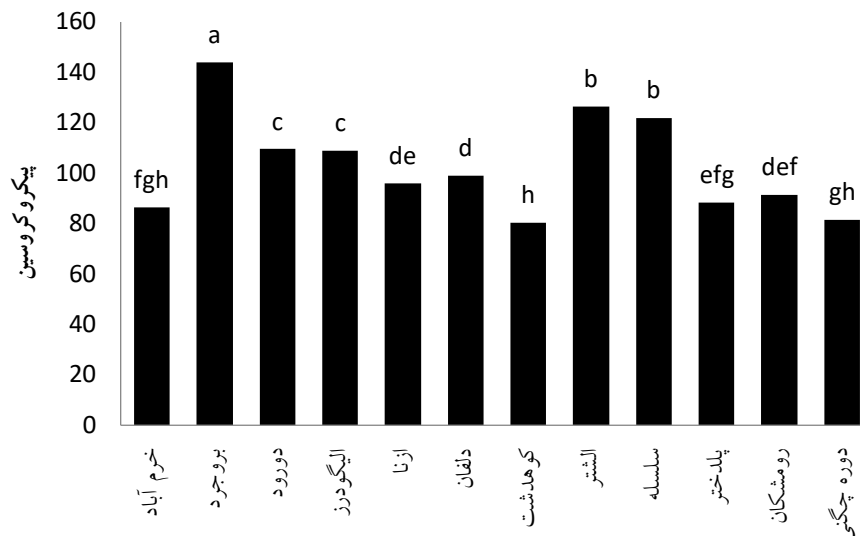
حداکثر جذب ۳۲۱ بود. همچنین بر طبق این نتایج مشخص شد که کمترین میزان اسانس کشت شده در شهرستان‌های پلدختر (حداکثر جذب ۲۴۷/۵) و کوهدشت (حداکثر جذب ۲۴۱) حاصل گردید (شکل ۴).



شکل ۴- گرو سین اندازه‌گیری شده در اسانس زعفران کاشته شده در شهرستان‌های مختلف استان لرستان - ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

۳-۴. پیکروگرو سین

نتایج نشان داد میزان پیکروگرو سین موجود در اسانس زعفران کشت شده در شهرستان بروجرد بالاتر از سایر شهرستان‌های استان لرستان بود (حداکثر جذب ۱۴۴) و از این نظر با سایر شهرستان‌های استان دارای تفاوت معنی‌دار بود. پس از شهرستان بروجرد میزان پیکروگرو سین وجود در اسانس زعفران کشت شده در شهرستان‌های الشتر (حداکثر جذب ۱۲۶/۵) و سلسله (حداکثر جذب ۱۲۲) بیشتر از سایر شهرستان‌های استان لرستان بود و اختلاف بین آنها نیز از نظر آماری معنی‌دار بود. اسانس زعفران کشت شده در شهرستان کوهدشت (حداکثر جذب ۸۰/۵) دارای کمترین میزان پیکروگرو سین بود (شکل ۵).



شکل ۵- پیکروکروسین اندازه‌گیری شده در اسانس زعفران کاشته شده در شهرستانهای مختلف استان لرستان

-ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

نتایج در مورد مهمترین ترکیبات موجود در اسانس زعفران نشان داد اسانس زعفران کشت شده در شهرستان بروجرد دارای بالاترین میزان رطوبت و مواد فرار، کروسین و پیکروکروسین بود و از این نظر با سایر شهرستان‌های استان دارای اختلاف معنی‌دار بود. این در حالی بود که بالاترین میزان سافرانال در زعفران کشت شده در شهرستان الشتر به دست آمد و این شهرستان با سایر شهرستان‌های استان به جز شهرستان‌های دورود، الیگودرز، سلسله و دلفان اختلاف معنی‌دار داشت. استان لرستان یکی از استان‌هایی است که در ایران به استان چهار فصل معروف بوده و در عین حال در یک زمان می‌توان تقریباً چهار فصل را در این استان مشاهده نمود. یکی از مهمترین دلایل تفاوت در میزان ترکیبات مهم موجود در اسانس زعفران مانند سافرانال، کروسین و پیکروکروسین نیز می‌تواند اثرات متفاوت اقلیمی بر گیاه و تشکیل این ترکیبات در اسانس زعفران باشد. اختلاف بین شهرستان‌های مختلف استان لرستان از نظر ارتفاع و شرایط دما بسیار زیاد بوده و سبب شده که اختلاف در ترکیبات مهم اسانس زعفران وجود داشته باشد. به طوری که شهرستان بروجرد که دارای آب و هوای معتدل می‌باشد منجر به این شد که بالاترین میزان کروسین و پیکروکروسین در اسانس زعفران تشکیل شود. همچنین شهرستان‌های دورود و الشتر که دارای آب و هوای معتدل سرد بودند بیشترین میزان سافرانال در آنها شکل گرفت. اختلاف بین ترکیبات اسانس زعفران کشت شده در شهرستان‌های یک استان در برخی دیگر از مطالعات مشاهده شد. در مطالعه‌ای دیگر بالاترین میزان رنگیزه کروسین در اکوتیپ مرنده و کمترین میزان آن در اکوتیپ کاشمر وجود دارد و بین زعفران کشت شده در مناطق مختلف از نظر سافرانال و پیکروکروسین نیز اختلاف معنی‌دار وجود داشت (Vakili Qartavol and Alizadeh Saletch, 2016)، که با یافته‌های حاصل از این مطالعه مطابقت داشت. آنها عنوان داشتند که تفاوت این ترکیبات در دو منطقه می‌تواند به دلیل شرایط اقلیمی این مناطق، ژنتیک و سن گیاه باشد. به علاوه پاسخ گیاه به شرایط آب و هوایی مختلف و چگونگی خوگیری گیاه به شرایط محیطی می‌تواند روی تغییر در



ترکیبات موجود در اسانس به عنوان متابولیت های ثانویه گیاه اثر داشته باشد، زیرا گیاه برای وفق دادن خود به شرایط محیطی به ناچار تغییراتی در متابولیت های ثانویه خود ایجاد نموده که بتواند به شرایط آب و هوایی منطقه سازگاری پیدا کند و همین امر بر تغییر در ترکیبات مهم اسانس زعفران اثر عمده ای می گذارد. سافرانال ترکیبی است که طی شرایط خشک کردن و ذخیره سازی پیکروکروسین ایجاد شده (Abdullave and Ortega, 2007)، که همبستگی مثبت بین سافرانال و پیکروکروسین نیز این ادعا را تأیید می نماید (جدول ۲). همچنین مقداری سافرانال نیز در کلاله با توجه به شرایط اقلیمی منطقه تولید می شود (Zarinkamar et al., 2011). آنها تفاوت میزان ترکیبات موجود در کلاله زعفران در مکان های مختلف را عمدتاً ناشی از تفاوت محیط، ژنتیک و فعالیت های کشاورزی دانسته اند. برخی دیگر از محققین نیز اختلاف ارتفاع مناطق از سطح دریا را دلیلی بر تفاوت در ترکیبات اسانس زعفران کشت شده در نقاط مختلف عنوان نمودند (Vakili Qartavol and Alizadeh Saleteh, 2016)، زیرا با افزایش ارتفاع منطقه میزان تشعشع فرابنفش افزایش یافته و در پاسخ به این افزایش تشعشع برخی از ترکیبات فنولی و کاروتنوئیدی نظیر کروسین نیز افزایش می یابند. بدیهی است که میزان بالاتر سافرانال در شهرستان های الشتر، درورد و دلفان با توجه به شرایط آب و هوایی معتدل سرد آنها بیانگر اثر بیشتر هوای معتدل سرد بر تولید بیشتر سافرانال می باشد و شرایط آب و هوایی گرم منجر به کاهش تولید سافرانال می گردد و میزان سافرانال تولید شده در اسانس زعفران کاشته شده در شهرستان پلدختر به عنوان گرمترین شهرستان استان لرستان گواهی بر این ادعا می باشد. در شرایط معتدل متمایل به سرد بیوسنتز ترکیبات کاروتنوئیدی افزایش می یابد (Schonhof et al., 2006) و چون شهرستان بروجرد جزو شهرستان های معتدل می باشد تحت این شرایط میزان کروسین و پیکروکروسین تولیدی در اسانس زعفران بالاتر از سایر مناطق استان لرستان بود.

جدول ۲- همبستگی بین مهمترین اجزای اسانس زعفران کاشته شده در نقاط مختلف استان لرستان

۴	۳	۲	۱	
			۱	رطوبت و مواد فرار
		۱	۰/۲۹	پیکروکروسین
	۱	۰/۶۳**	-۰/۰۷	سافرانال
۱	۰/۶۹**	۰/۸۵**	۰/۳۹*	کروسین

و* به ترتیب معنی دار در سطح پنج و یک درصد

تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان که امکانات اجرای این تحقیق را فراهم آورده است تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

Abdullave, F., and Ortega, C. (2007). HPLC quantification of major active components from different saffron (*Crocus sativus* L.) sources. Food Chemistry, 10: 1126-1131



- Abrishami, M.H. 2009. Saffron cultivation. Monthly Journal of Baghzar 35: 26-32.
- Esmaelnejad, M. (2017). Assessment and mapping of heat stress affecting the saffron In South Khorasan Province. Journal of Saffron Research, 4: 159-171.
- Faizi, H., and Moradi, R. (2020). Investigation of managerial and climatic factors affecting the yield gap between conventional and ideal saffron cultivation in Razavi and South Khorasan provinces. Journal of Saffron Research, 7 (2): 298-283.
- Ismailian, M., Faizi, J., Jahani, M., and Ein Afshar, S. (2022). Evaluation of different extraction methods for antioxidant and antimicrobial properties of saffron corm extract. Journal of Saffron Agriculture and Technology, 9 (3): 284-269.
- Koocheki A. (2013). Research on Production of Saffron in Iran: Past trend and Future. Saffron Agro and Technology, 1(1): 3-20.
- Koocheki, A., Rezvani Moghaddam, P., and Fallahi, H.R. (2017). Effects of planting dates, irrigation management and cover crops on growth and yield of saffron. Journal of Agroecology, 3: 435-451.
- Kozehgaran, S., Mousavi-Baygi, M., Sanaeinejad, H., and Behdani, M.A. (2014). Identification relevant areas for saffron cultivation according to precipitation and relative humidity in South Khorasan using GIS. Journal of Saffron Research, 1 (1): 85-96.
- Malafilabi, A., Kouchaki, A., Rezvani Moghadam, P., and Nasiri Mahallati, M. (2018). Effect of coriander density and type of planting bed on yield components of saffron flowers and stigmas. Agricultural Ecology, 9(2): 342-326.
- Schönhof, I., Klaring, H., Krumbein, A., Chuben, W., and Schrerer, M. (2006). Effect of temperature increase under radiation condition on phytochemicals and ascorbic acid in greenhouse grown broccoli. Agriculture, Ecosystems and Environment, 119: 103-111
- Vakili Qartavol, M., and Alizadeh Saletch, S. (2016). Comparison of effective compounds and antioxidant activity of saffron produced in Kashmar and Marand counties. Journal of Saffron Agriculture and Technology, 4 (3): 224-215.
- Zarinkamar, F., Tajik, S., and Soleimanpour S. (2011). Effects of altitude on anatomy and concentration of crocin, picrocrocin and safranal in *Crocus sativus* L. Australian Journal of crop Science, 5(7): 831-838.



تأثیر عصاره انار بر دیابت ایجاد شده در موش های سوری

صفر محسنی بندپی^{*۱}

^{*۱} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران. (smbmohseni@gmail.com)

چکیده

بیماری دیابت یکی از بیماری های شایع در جوامع امروزی محسوب می شود. با توجه به فراوانی این بیماری و افزایش شیوع عوارض آن مانند بیماری های قلبی - عروقی، تدابیر تغذیه ای می تواند نقش مهمی در کنترل این بیماری ایفا کند. استفاده از گیاهان دارویی یکی از راهکارهای قابل توجه در این زمینه است. انار یکی از گیاهان مهم بوده و به واسطه غنی بودن از آنتی اکسیدان ها، پتاسیم و ویتامین C جهت درمان بیماری های مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است. با توجه به این که دیابت یکی از شایع ترین بیماری ها و در عین حال پایه بسیاری از بیماری های دیگر بوده و درمان آن نیز هزینه زیادی بر سیستم بهداشت تحمیل می کند و از آنجا که دسترسی به گیاهان نیز از لحاظ هزینه، مقرون به صرفه تر است، تصمیم گرفته شد نقش عصاره انار در بهبود این بیماری مورد بررسی قرار گیرد. برای این کار موش های صحرایی تهیه شده به صورت تصادفی به شش گروه تقسیم شدند: گروه کنترل، دیابت، دریافت کننده عصاره انار با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم. عصاره انار از دانه و به صورت آبی - الکلی تهیه شده است. گروه دیابتی به وسیله استرپتوزوسین با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن دیابتی شدند. میزان قند خون نشان دهنده دیابتی شدن موش ها بود. پس از ۴ هفته، از موش ها خون گیری به عمل آمده، سرم خون جدا و میزان گلوکز خون مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره انار باعث کاهش معنی داری در قند خون می گردد و در غلظت 600mg/kg این کاهش معنی دارتر و در سطح کمتر از ۰/۰۰۱ می باشد.

واژگان کلیدی: انار، دیابت، قندخون



۱. مقدمه

دیابت قندی اکنون به عنوان یکی از شایعترین بیماری‌های رایج غیرمسمری در سراسر جهان شناخته شده است. در حدود ۱۷۰ میلیون نفر از این بیماری رنج می‌برند و پیش‌بینی شده است که تا سال ۲۰۲۵ به ۳۰۰ میلیون نفر افزایش پیدا کند. این بیماری مجموعه‌ای از اختلالات متفاوت است که با افزایش ثابت یا متغیر سطح گلوکز خون شناسایی می‌گردد. افزایش پایدار قند خون منجر به از دست دادن آب^۱ و کتواسیدوزیس می‌گردد. در طولانی مدت دیابت منجر به ایجاد اختلالات قلبی-عروقی، کلیوی، عصبی، آسیب شبکیه‌ای و حتی کوری می‌گردد (Boris, 2012). دیابت یک اختلال در متابولیسم بدن است که در آن یا انسولین به مقدار کافی در بدن وجود ندارد یا انسولین موجود قادر نیست وظیفه خود را به درستی انجام دهد. در نتیجه به علت وجود مقاومت در برابر آن، قند خون بالا می‌رود (Guyton, John, 1993).

۱-۱. دیابت نوع یک

در این نوع دیابت که ۱۰ تا ۱۵ درصد کل موارد دیابت را تشکیل می‌دهد، تولید انسولین از پانکراس به علت از بین رفتن سلول‌های سازنده انسولین متوقف می‌شود. این نوع دیابت زمانی به نام دیابت نوجوانان و دیابت وابسته به انسولین هم معروف بود چرا که در سن زیر ۳۰ سال به وجود می‌آید.

۱-۲. دیابت نوع دو

دیابت شیرین نوع II که سابق بر این آن را دیابت شیرین غیر وابسته به انسولین^۲ (NIDDM) یا دیابت بزرگسالان می‌نامیدند، شرایط مزمنی است که در آن بدن قادر به استفاده و ذخیره گلوکز نمی‌باشد و گلوکز به جای تبدیل شدن به انرژی به جریان خون بازگشته و سبب ایجاد علائم مختلف می‌شود. دیابت نوع II در نتیجه عدم توانایی بدن در تولید گیرنده‌ی انسولین و یا ناتوانی در استفاده بهینه از انسولین تولیدی رخ می‌دهد که به این حالت مقاومت به انسولین گفته می‌شود. این نوع دیابت اغلب در افراد بالای ۴۰ سال، چاق و دارای سابقه خانوادگی دیابت رخ می‌دهد.

۱-۳. دیابت به علل متفرقه

از علل متفرقه می‌توان به جراحی، داروها (مثل کورتیکواستروئیدها)، سوء تغذیه و عفونت اشاره کرد (W.H.O, 1994). منشأ بیماری دیابت نوع I ممکن است فاکتورهای ژنتیکی، واکنش‌های خود ایمنی و زیست محیطی (عفونت‌های ویروسی مانند سایتومگالو ویروس، روبلا ویروس اپشتین-۶ و آلبومین گاوی) باشد که با بیماری در ارتباط هستند (Boris D, 1994). دیابت نوع I با سیستم HLA (کروموزوم ۶) و ایمنی سلولی و واکنش‌های خود ایمنی سرولوژیک ارتباطی قوی دارد (Braunwald E et al., 2001). در دیابت نوع I وقایع ایمونولوژیکی که منجر به تخریب سلول‌های بتا می‌گردند، غالباً وابسته به فعالیت سلول‌های T (T-cell) می‌باشند که به دنبال آن نقصان در ترشح انسولین رخ می‌دهد اغلب سالها پیش از

^۱ -dehydration^۲ -Insulin dependent diabet melitus



ظهور بالینی بیماری می توان آنتی بادی های ضد سلول های لانگرهانس (ICA) را در سرم افراد پیدا نمود (Boris, 1994). دیابت نوع I زمانی به وجود می آید که بدن قادر به تولید انسولین نیست و نتیجه آن هایپر گلیسمی می باشد. افرادی که به دیابت نوع I مبتلا هستند معمولاً نوسانات وسیعی را در سطح قند خون خود تجربه می کنند ، به همین دلیل ممکن است به چندین بار تزریق انسولین در طی روز نیاز داشته باشند. تجویز انسولین برای پیشگیری از کتوز، کما و مرگ ضروری است (Gerich, 1993).

دیابت نوع II بیماری هتروژنی است که با هایپر گلیسمی مزمنی که ناشی از مقاومت انسولینی و تغییر در ترشح انسولین است مشخص می گردد (Wyso, 2000). فاکتورهای محیطی در توسعه بیماری NIDDM نقش مهمی دارند؛ زیرا شیوع این بیماری با افزایش سن و در افراد چاق بیشتر است. تقریباً ۸۰٪ بیماران مبتلا به NIDDM چاق هستند. لذا چاقی نه تنها دارای یک نقش اساسی در دیابت نوع II است ، بلکه می تواند باعث بدتر شدن تحمل افراد نسبت به گلوکز گردد (Gerich, J, 1993). افراد چاق اغلب فشار خون بالایی دارند که در این افراد اکثراً با افزایش انسولین خون در ارتباط است. میزان اضافه وزن و مدت زمانی که افراد دارای اضافه وزن هستند هر دو از عوامل خطرزا برای دیابت نوع II می باشند (Genuth, 2000). مطالعات اخیر نقش فاکتورهای ژنتیکی را در بروز دیابت نوع II نشان می دهد، هر چند که رابطه آن با سیستم HLA مشخص نگردیده است (Wyso, 2000). پژوهش های اخیر نشان داده اند که واکنش های اکسیداتیو و احیا و رادیکال های آزاد اکسیژن و نیتروژن نقش مهمی در ایجاد زیان های وارده به سلول های بتای جزایر لانگرهانس لوزالمعده ایفا می کنند (Melvin, 2002). بیماری تصلب شرایین به خصوص در عروق بزرگ از مهمترین علل مرگ و میر در بیماران مبتلا به NIDDM است (Genuth, 2000). با وجود فاصله بین وعده های غذایی و مصرف گاه و بیگاه کربوهیدرات ها، قند خون انسان به طور نرمال در محدوده کوچکی تنظیم می شود. به طور نرمال در اغلب انسان ها این تغییرات در حدود $110-80 \text{ mg/dl}$ است. به جز مدت کوتاهی بعد از صرف غذا که قند خون موقتاً افزایش می یابد. گلوکز اولین منبع انرژی برای انسان است. سیستم عصبی و خصوصاً مغز، برای تأمین انرژی کاملاً به گلوکز وابسته است. بافت عصبی قادر به ذخیره کربوهیدرات نیست، بنابراین ثابت نگه داشتن گلوکز در یک محدوده معین برای آن بسیار مهم است. به همین دلیل غلظت گلوکز در مایع خارج سلولی باید در یک محدوده کوچک نگهداری شود. وقتی غلظت گلوکز کاهش یابد، بافت عصبی منبع انرژی اولیه را از دست می دهد و قادر به اعمال طبیعی خود نیست (Michael, 2005). کبد، پانکراس و دیگر غدد آندوکرینی هم در کنترل غلظت گلوکز نقش دارند، در زمان گرسنگی کبد با شکستن گلیکوژن گلوکز را وارد خون می نماید. وقتی گرسنگی بیش از یک روز طول بکشد، گلوکز از منابع دیگری توسط فرایند گلوکونئوژنز (gluconeogenesis) ساخته می شود. گلوکز خون توسط دو هورمون اصلی کنترل می شود که هر دو به وسیله پانکراس تولید و عکس یکدیگر عمل می کنند (Michael, 2005) ترکیبی از چندین سیستم هورمونی با اثرات متقابل قند خون را در محدوده ی باریکی حفظ می کنند:



1-4. انار

انار (*Punica granat*) از گیاهان خانواده Punicaceae است. درخت انار ساقه‌ای ناهموار با چوب محکم، گل‌هایی درشت به رنگ قرمز مایل به ارغوانی و برگ‌هایی صاف و ساده دارد. منشأ این گیاه را ایران ذکر کرده‌اند و اکنون در نواحی مختلف اروپا، شمال آفریقا و مدیترانه یافت می‌شود. انار در زبان عربی رمان، در انگلیسی Punice apple یا Pomegranate و در فرانسه Grenadier نامیده می‌شود (صفاری، ۲۰۱۲). تحقیقات نشان می‌دهد که آب انار و عصاره گل‌های آن برای کنترل دیابت مفید است. برخی از ترکیبات موجود در آب انار عبارتند از: آنتوسیانین‌ها^۱، گلوکز، ویتامین C، اسید الاجیک^۲، اسید گالیک^۳، اسید کافئیک^۴، کاتچین^۵، کرسستین^۶، روتین^۷، مواد معدنی متعدد (به ویژه آهن) و اسیدهای آمینه. در گل‌های درخت انار موادی نظیر اسید گالیک، اسید اورسولیک^۸ و تری ترپنئیدهایی^۹ نظیر اسید ماسلینیک^{۱۰} و اسید آسیاتیک^{۱۱} یافت می‌شوند. اسید گالیک از جمله ترکیباتی است که بخشی از اثرات ضد دیابتی انار را ایجاد می‌کند (صفاری، ۲۰۱۲).

با توجه به این که دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها و در عین حال پایه بسیاری از بیماری‌های دیگر بوده و درمان آن نیز هزینه زیادی بر سیستم بهداشت تحمیل می‌کند و از آنجا که دسترسی به گیاهان نیز از لحاظ هزینه، مقرون به صرفه تر است، تصمیم گرفته شد نقش عصاره انار در بهبود این بیماری مورد بررسی قرار گیرد.

2. مواد و روش‌ها

2-1. مدل حیوانی

۶۰ عدد (سر) موش سوری نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۳۰-۵۰ گرم از انستیتو پاستور شمال واقع در شهرستان آمل خریداری شد. سپس آنها را به ۶ گروه ده تایی ($n=10$)، شامل گروه کنترل (C)، گروه دیابتیک (D)، گروه دیابتی دریافت کننده عصاره انار با غلظت ۱۰۰ میلی گرم، گروه دیابتی دریافت کننده عصاره انار با غلظت ۲۰۰ میلی گرم، گروه دیابتی دریافت کننده عصاره انار با غلظت ۴۰۰ میلی گرم و گروه دیابتی دریافت کننده عصاره انار با غلظت ۶۰۰ میلی گرم تقسیم کرده و در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته جهت سازگاری با محیط به مدت ۲ روز در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند. تمامی گروه‌ها آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. عصاره‌گیری از دانه‌های انار به صورت آبی- الکلی

۳-Anthocyanin۴-Ellagic acid۵-Gallic acid۶-Caffeic acid۷-Catechin۸-Quercetin۹-Rutin۱۰-Ursolic acid۱۱-Triterpenoids۱۲-Maslinic acid۱۳-Asiatic acid



حاصل شد. ابتدا میوه‌های سالم از منطقه گرگان انتخاب شده بعد دانه‌ها به شکلی جدا شدند که کمترین آسیب به دانه‌ها وارد شود. در مرحله خشک کردن دانه‌ها را در سینی ریخته و در دمای پایین در فر گذاشته تا خشک شود دانه‌های خشک شده بعد از آن با آسیاب پودر شدند و از یک صافی ریز عبور داده شده تا پودری یکنواخت بدست آید. سپس ۲۰ گرم از آن در یک لیتر الکل و آب به نسبت ۷۰ به ۳۰ خیسانده شد و ۴۸ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. سپس حلال در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتیگراد، توسط دستگاه روتاری اوپوریتور تبخیر گردید و برای انجام آزمایشات در یخچال نگهداری شد. برای تعیین غلظت مناسب در حلال مناسب یعنی اب رقیق میشد.

2-2. روش تحقیق

پس از طی دو روز جهت خوگیری با شرایط آزمایشگاه، حیوانات به صورت تصادفی در گروه‌های کنترل، دیابتی و گروه دیابتی دریافت کننده عصاره انار با غلظت ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ قرار گرفتند حیوانات بوسیله داروی استرپتوزوسین (STZ) با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دیابتی شدند (شهیدی، ۱۳۸۱). گروه دیابتی به ترتیب زیر با داروی استرپتوزوسین دیابتی شدند. یک ویال استرپتوزوسین شرکت Pharmacia & Upjohn ساخت آمریکا محتوی ۱ گرم دارو بود، تمامی رت‌ها وزن شده به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، مقدار ۵۰ میلی گرم از دارو تزریق شد. تزریق به صورت درون صفاقی^۱ (i.p) انجام گرفت. پس از طی ۴ هفته تزریق روزانه و مرتب دارو، میزان گلوکز خون رت‌ها با استفاده از کیت اندازه گیری گلوکز، سنجیده شد. رت‌هایی که گلوکز خون آنها بیش از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود، دیابتی شده در نظر گرفته می شدند. رت‌ها در تمامی گروه‌ها آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. با توجه به اینکه رت‌های دیابتی شده به میزان بیشتری آب نیاز داشتند، ظروف آب بیشتری برای گروه‌های دیابتی در نظر گرفته. در روز نمونه گیری، حیوانات به آزمایشگاه منتقل می شدند. پس از دو ساعت، که حیوان با محیط خو گرفت مراحل خون گیری انجام شد. زمان نمونه گیری برای تمامی گروه‌ها یکسان در نظر گرفته شد. حیوانات در تمامی گروه‌ها از غروب روز قبل، از غذا گرفته شدند و از نظر تغذیه در یک شرایط برابر قرار گرفتند. سپس تمامی رت‌ها تحت بیهوشی سطحی با کلروفرم قرار گرفته، با برشی که بر قفسه سینه آنها داده شد، خونگیری توسط سرنگ مستقیماً از قلب آنها انجام می گرفت. در این مرحله بلافاصله نمونه‌های خون بر روی یخ قرار گرفته و سرم به وسیله سانتریفوژ در دور ۵۰۰۰ جدا شد و پس از تقسیم نمودن آن‌ها در میکروتیوپ، بلافاصله به فریزر جهت اندازه گیری‌های بعدی منتقل گردید. پس از جدا سازی سرم از نمونه‌های خون گرفته شده، میزان گلوکز سرم تمامی گروه‌ها به وسیله کیت شرکت زیست شیمی و به روش اسپکتروفتومتری گلوکز اکسیداز اندازه گیری شد. آنالیزهای آماری بر روی میزان گلوکز سرم در گروه‌های شش گانه انجام گرفت. کلیه محاسبات آماری این تحقیق توسط آزمون t-student انجام گرفت. نتایج نیز به صورت $\text{mean} \pm \text{sem}$ گزارش گردیده است. نتایج کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد ($P < 0.05$).

۳. نتایج

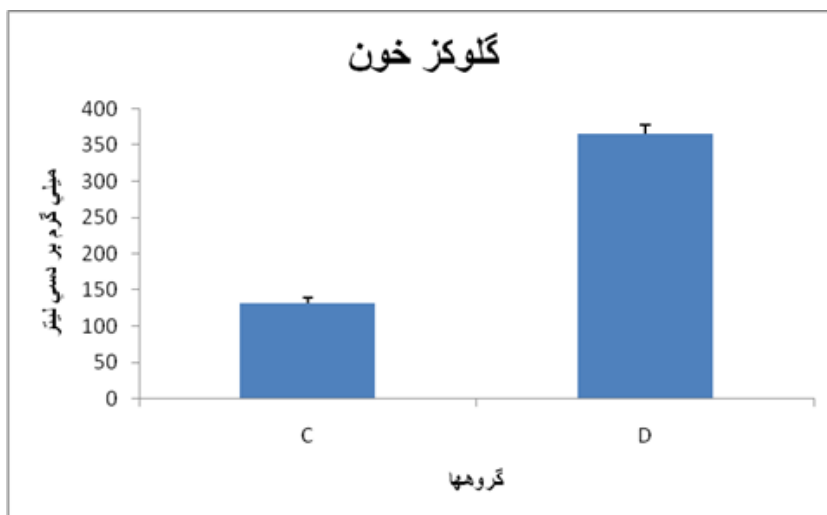
۳-۱. قند خون در دو گروه کنترل و دیابت

^۱۴-Intraperitoneal



پس از اتمام ۴ هفته، میزان گلوکز سرم گروه‌ها اندازه‌گیری شد. از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین دو گروه کنترل (C) و گروه دیابت (D) دیده شده است. ($P < 0.001$).

نمودار ۱. میانگین میزان گلوکز سرم در دو گروه کنترل و دیابت (C و D)

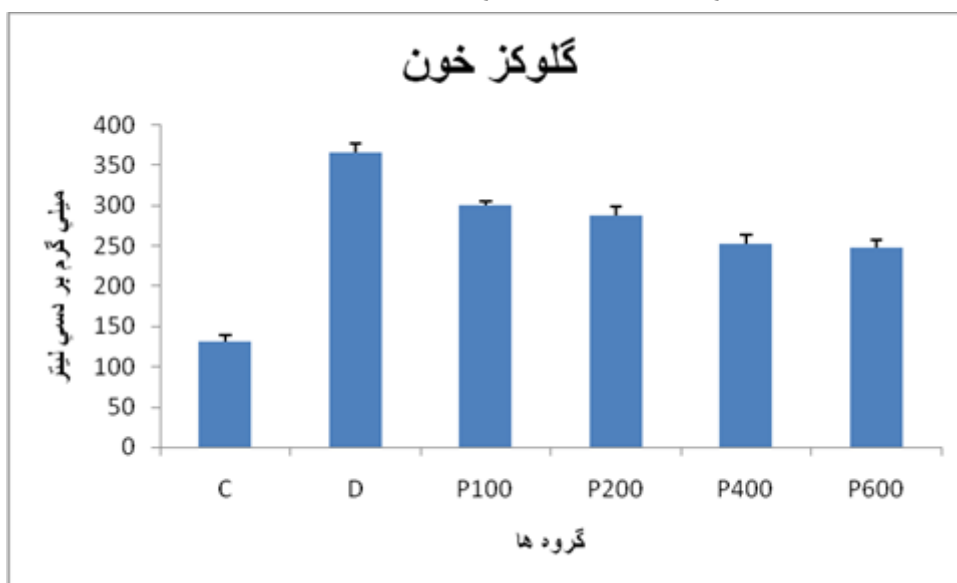


نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$ بیان گردیده است. $P < 0.001$

C = گروه کنترل، D = گروه دیابتی شده

۳-۲. قند خون در دو گروه دیابت و تمامی گروه‌ها در یک نمودار

نمودار ۲. میانگین میزان گلوکز سرم در تمامی گروه‌ها



نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$ بیان گردیده است.



C=گروه کنترل، D=گروه دیابت، P100=گروه عصاره با غلظت ۱۰۰، P200=عصاره با غلظت ۲۰۰، P400=عصاره با غلظت ۴۰۰ و P600=عصاره با غلظت ۶۰۰ میلی گرم بر لیتر.

۴. بحث و نتیجه گیری

با توجه به افزایش و فراوانی بیماری دیابت و افزایش شیوع عوارض آن همچون بیماری های قلبی - عروقی، تدابیر تغذیه ای می تواند نقش مهمی در کنترل این بیماری داشته باشد. داروهای مختلفی از در درمان این بیماری بکار می روند. از طرفی رویکرد قابل توجهی به داروهای جدید با منشا طبیعی از جمله گیاهان دارویی نیز وجود دارد. انار منبع مهم آنتی اکسیدان ها، پتاسیم و ویتامین C است. در واقع انار یکی از غنی ترین منابع پلی فنل هاست، که گروهی از آنتی اکسیدان های قوی هستند. عمل آنتی - اکسیدان ها کاهش یا جلوگیری از صدمات سلولی است که در بسیاری از بیماری ها رخ می دهد (Najafzadeh, 2010).

انار علاوه بر آنتی اکسیدان ها، حاوی مواد دیگری همچون تانن ها و آنتی سیانین هاست. همچنین انار دارای مقدار قابل ملاحظه ای فیر، نیاسین و پتاسیم است. میوه انار دارای خواص متعددی است به طوری که قسمت های مختلف آن اعم از دانه، پوست و گل هر کدام اثرات دارویی متنوعی دارند. انار می تواند اثرات ضد انعقادی، ضد سرطانی، کاهش دگی کلسترول خون و آرام بخشی اعصاب داشته باشد (Zhang, 2007; Parmar, 2007). پوست انار حاوی ترکیبات متعددی از جمله پلی فنل ها است که این ترکیبات دارای خواص آنتی اکسیدانی می باشد (Najafzadeh, 2010). از آنجا که تا کنون در مورد خاصیت ضد دیابتی پوست انار مطالعات زیادی صورت گرفته ولی اثر ضد دیابتی عصاره انار در دیابت تجربی با استرپتوزوسین در رت بررسی نشده، در این مطالعه خاصیت ضد دیابتی عصاره انار بر گلوکز خون مورد مطالعه قرار گرفته است. در مطالعه ای وزیری و همکاران در سال ۱۳۹۸ بر روی روغن دانه انار کار کرده و اثر آنرا بر بیان ژن متالوپروتئاز که باعث بیماری مفاصل میشود بررسی کردند و مشاهده نمودند که بیان ژن MMP-1 را مهار می کند و در پیشگیری ضعف و درد مفاصل عملکرد مفیدی دارد (وزیری و همکاران، ۱۳۹۸).

با توسعه سریع کاربرد داروهای سنتتیک (مصنوعی) در سالیان اخیر، استفاده از گیاهان دارویی تا حدود زیادی منسوخ شده بود؛ ولی به دلیل بروز عوارض نامطلوب جانبی ترکیبات سنتتیک و عدم سازگاری آن با طبیعت انسان، بار دیگر توجه دانشمندان و محققان به گیاه درمانی و مواد موثر موجود در گیاهان دارویی معطوف گردید. امروزه جهت کنترل بیماری دیابت از انسولین و داروهای شیمیایی خوراکی پایین آورنده قند خون استفاده می شود. در طب سنتی نیز گیاهان دارویی مختلفی جهت مقابله با این بیماری مورد استفاده قرار گرفته است (Ewald, 1995; Najafzadeh, 2010)، از جمله این گیاهان می توان به انار اشاره نمود که اثرات درمانی آن در بیماری های گوناگون به اثبات رسیده است.

هانگ و همکاران در سال ۲۰۰۰ اثبات کردند که مصرف خوراکی عصاره گل انار با دوز ۵۰۰ میلی گرم به مدت شش هفته، باعث کاهش سطح پلاسمایی گلوکز در موش های دیابتی می شود (Huang et al., 2005). پارمار و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که عصاره پوست انار با دوز ۲۰۰ میلی گرم در موش سوری دیابتی شده توسط آلوکسان، از عوارض آلوکسان جلوگیری می کند و اثر ضد دیابتی و آنتی اکسیدانی آن را به پلی فنل های موجود در آن مرتبط دانستند (Parmar et al., 2007).



رژنبلات و همکاران در سال ۲۰۰۶ اثر آب انار را در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو بررسی کردند و مشاهده کردند که آب انار با خاصیت آنتی اکسیدانی می تواند اثرات مفیدی در این بیماران داشته باشد (Rosenblat et al., 2006) جفری و همکاران در سال ۲۰۰۰ اثر عصاره آبی - الکلی گل انار را در کاهش گلوکز خون در رت های دیابتی شده بررسی کردند (Jefri et al., ۲۰۰۰). جلودار و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثر دانه انار را در جیره غذایی رت های دیابتی شده بررسی کردند و اثر قابل ملاحظه ای مشاهده نکردند (Jelodar et al., 2007). هانتسیلاس و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که پونسیک اسید (Punicic acid) که ایزومر لینولیک اسید در انار است می تواند فعالیت و بیان ژن Proxisome Proliferator Activated و Gamma (PPAR- gamma receptor) را افزایش دهد و در نتیجه تحمل به گلوکز و التهاب ناشی از دیابت را کاهش دهد و برداشت گلوکز را تسریع کند و اثر ضد دیابتی داشته باشد (Hontecillas et al., 2009) صمدلویی و همکاران در سال ۱۳۸۶ در مطالعه ای اثر آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولیک هسته انار را بررسی کردند و نشان دادند که ترکیبات فنولیک انار قوی ترین اثر آنتی اکسیدانی را دارند (Samadloi et al., 2007).

به خاطر اثرات مخرب استرس اکسیداتیو به دنبال دیابت، به نظر می رسد که مصرف آنتی اکسیدان های موجود در انار می تواند در کاهش آسیب های سلولی دخالت داشته باشد شاید عصاره انار توانسته باشد به روشی مشابه متفورمین جلوی تولید بیشتر گلوکز از طریق گلیکوکوژنولیز یا گلوکونئوژنز را گرفته باشد. بنابراین نتیجه پژوهش حاضر در مورد خاصیت هایپوگلاسمیک بودن عصاره انار با نتایج مطالعات فوق همخوانی دارد. مک فارلن و همکاران در سال ۲۰۰۹ مشاهده کردند که روغن دانه انار می تواند حساسیت سلول به انسولین را در موش هایی با دیابت نوع ۲ افزایش دهد و از پیشرفت بیماری جلوگیری نماید. در مطالعه ای دیگر مشخص شد که پلی فنل های انار دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی آتروژنیک در انسان و موش دچار آترواسکروز می باشد (Samadloi, 2007).

در مطالعات متعددی مشخص شد که انار دارای خواص آنتی کسیدانی، ضد سرطان و ضد التهاب است و در درمان و پیشگیری از سرطان، بیماری های قلبی - عروقی، عفونت های باکتریایی و آسیب پوستی ناشی از اشعه ماورای بنفش مؤثر است. بخشی از این خواص درمانی انار به ترکیبات موجود در آن از جمله فلاونوئیدها مربوط می شود. البته برای یافتن مکانیسم دقیق تأثیر عصاره انار بر بهبود دیابت بهتر است هر یک از اجزای موجود در عصاره به طور مجزا در مطالعات تجربی و بالینی مورد ارزیابی قرار گیرند

با توجه به افزایش فراوانی بیماری دیابت و عوارض آن همچون بیماری های قلبی - عروقی، تدابیر تغذیه ای می تواند نقش مهمی در کنترل این بیماری داشته باشد. به همین دلیل توجه به گیاهان دارویی در این زمینه می تواند مورد توجه قرار گیرد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره انار در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ با تزریق درون صفاقی اثر قابل ملاحظه و معنی داری در کاهش قند خون دارد. انار علاوه بر آنتی اکسیدان ها، حاوی مواد دیگری همچون تانن ها و آنتی سیانین و مقدار قابل ملاحظه ای فیبر، نیاسین و پتاسیم است. میوه انار دارای خواص متعددی است به طوری که قسمت های مختلف آن اعم از دانه، پوست و گل هر کدام اثرات دارویی متنوعی دارند. انار می تواند اثرات ضد انعقادی، ضد سرطانی، کاهندگی کلسترول خون و



آرام بخشی اعصاب داشته باشد. بنابراین عصاره انار اثر هیپوگلاسمیک داشته و می تواند در پیشگیری و کاهش اثرات دیابت مورد توجه قرار گیرد.

منابع

- شهیدی، ا.، حسین زاده، ح. ۱۳۸۱. مدل های حیوانی ایجاد دیابت. مجله دیابت و لیپید ایران. 2 (1): 1-10.
- صفاری، ح.، ۱۳۹۱. مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره، دانه و پوست انار و آنتی بیوتیک های رایج بر روی هلیکوباکتری جدا شده از بیوپسی در بیمارستان شهید بهشتی کاشان. مجله علوم پزشکی فیض 16 (5): ۴۲۶-۴۳۲.
- وزیری جاوید، ر.، مقصودی، ح.، حاجی حسینی، ر.، ۱۳۹۸. بررسی اثر پانیسیک اسید روغن هسته انار بر بیان ژن متالوپروتئیناز یک و سه در سسلولهای THP-1 تحریک شده با لیوپلی ساکارید در مقایسه با ترکیبات دارویی استروئیدی و غیر استروئیدی. مجله پژوهشهای سلولی و مولکولی (مجله زیست شناسی ایران). 32 (4): 512-523.
- Braunwald, E., Anthony, S., Stephen, L., (2001). Harrison's Principles of Internal Medicine, Mc Grow Hill, 15th ed.
- Draznin, B., Book details, ., Edition. 1994th, ., Publisher. Humana; Publication date. December 6, 2012; Language. English; File size. 6160 KB. \$123.67.
- Ethnopharmacology, 70(3): 309-14.
- Ewald, G. (1995). Manual of Medicinal therapeutics 28 th ed, Altltle Brow, pp: 437-444.
- Genuth, S., (2000). Implications of the UK Prospective Diabetes study for patients with ebesity and type 2 Diabetes. Obesity Research, 8.(2):198-200.
- Gerich, J., (1993). The Genetic basis of type 2 Diabetes Militus: Impaired Insulin secretion versus Impaired insulin sensitivity. Endocrine Reviews, 19(4): 491-503.
- Guyton and Hall., (2000). Medical Physiology, 10th ed., W.B. Saunders, 880-895.
- Hontecillas, R., O'Shea, M., Einerhand, A., Diguardo, M., Bassaganya, R. J., (2009). Activation of PPAR gamma and alpha by puniceic acid ameliorates glucose tolerance and suppresses obesity-related inflammation. Journal of the American College Nutrition, 28(2): 184-95
- Huang, T.H., Peng, G., Kota, B.P., (2005). Anti-diabetic action of punica granatum flower extract: activation PPAR- gamma and identification of an active component. Toxicology and Applied Pharmacology, 207(2): 160-9.
- Jafri, M.A., Aslam, M., Javed, K., Singh, S., (2000). Effect of Punica granatum Linn. (flowers) on blood glucose level in normal and alloxan-induced diabetic rats, Journal of
- Jelodar, G., Mohsen, M., Shahram, S. (2007). Effect of walnut leaf, coriander and pomegranate on blood glucose and histopathology of pancreas of alloxan induced diabetic rats African Journal of Traditional and Complementary, Alternative Medicine, 4(3): 299-305.
- Melvin, R., Hayden., (2002). Islet Redox Stress: Journal of the pancreas, 3(4):86-108.
- Michael, L., Bishop, M.S., (2005). Mt. clinical chemistry fifth edition ISBN. Education consultant, ARUP Laboratories Salt Lake city Utah 0-7817-4611-6.
- Najafzadeh, H., Aghel, N., Hemmati, A.A., Oulapour, S., (2011). Effect of Hydro Alcoholic extract of peel of Punica granatum on experimental diabetes mellitus by streptozotocin in rats, Pharmaceutical sciences, 16(4):239-248.
- Parmer, H.S., (2007). Antidiabetic potetus Citrus Ssineus and punica granata peel extracts. Biofactors, 31(1):17-24.
- Rosenblat, M., Hayek, T., Aviram, M., (2006). Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages, Atherosclerosis, 187(2): 363-71.
- Samadlloiy, H.R., Azizi, M.H., Barzegar, M., (2007). Antioxidative effect of pomegranate seed phenolic componends on soybean oil, J. Agric. Sci. Natur. Resour., 14 (4): www.sid.ir.



- Wyso, M., Ng., SC., Lee, T, Sanke, H.K Lee., JCN, Chan, (2000). Genetics of type 2 diabetes mellitus. HKMJ Vol 6 No 1(69-76).
- Zhang,,Q.,. (2007). Aniliperoxidant activity of pomegranats peel extracts on lard. National Products research, 21(3): 211-216.

مقایسه مقدار فنل کل و فلاوونوئید در اکوتیپ‌های گیاه دارویی چای کوهی (*Stachys lavandulifolia*) تحت تنش پرتو فرابنفش B

قادر حبیبی^{*۱}

^۱ گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران (ghabibi@pnu.ac.ir)

چکیده

گیاهان مرتفع برای در مصون ماندن از آسیب‌های شدت بالای پرتو فرابنفش در ارتفاعات، سازگاری‌های ریختی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی حاصل کرده‌اند. در این تحقیق، اکوتیپ‌های مناطق کم ارتفاع (۲۲۰۰ متر) و مرتفع (۳۳۰۰ متر) گیاه *Stachys lavandulifolia* در معرض شدت پرتو فرابنفش B با دز ۱۵ و ۳۰ کیلوژول بر متر مربع در روز قرار گرفتند و مقادیر فنل کل، فعالیت آنزیم PAL و فلاوونوئید سنجش شدند. نتایج نشان داد اکوتیپ‌های مناطق مرتفع سازوکارهای حفاظت نوری بهتری در مقایسه با گیاهان ساکن ارتفاع پایین نشان دادند. دلیل مقاومت بالای اکوتیپ‌های مناطق مرتفع در معرض دزهای بالای پرتو فرابنفش افزایش سازگاری با شرایط نور بالا از طریق تجمع متابولیت‌های آنتی اکسیدانی شامل ترکیبات فنلیک و کاروتنوئیدها محقق شد و در نتیجه حفظ عملکرد فتوسنتزی آنها گردید. به طور کلی تحت تنش پرتو فرابنفش در اکوتیپ‌های مرتفع مقادیر فنل کل، فعالیت آنزیم PAL و فلاوونوئید به طور قابل توجهی بیشتر از اکوتیپ‌های کم ارتفاع بود. یافته‌های حاضر اطلاعات مهمی برای ساز و کارهای دخیل در حفاظت نوری گیاه *Stachys lavandulifolia* در برابر تنش‌های نوری ارائه می‌کند که آسیب به گیاهان را به حداقل رسانده و منجر به انتخاب اکوتیپ‌های مقاوم به شرایط تنش با ترکیبات مؤثره بیشتر به منظور استفاده‌های علمی، کشاورزی و صنعتی می‌شود.

واژگان کلیدی: اکوتیپ‌های مناطق مرتفع، پرتو فرابنفش، فنل کل، *Stachys lavandulifolia*



۱. مقدمه

قرار گرفتن طولانی مدت گیاهان در معرض شدت نور بالا و شدت بالای پرتو فرابنفش، مکانیسم‌های محافظت کننده نوری طولانی مدت را فعال می کند که منجر به پاسخ های سازگاری (بوم پذیری) می شود (Pinnola and Bassi, 2018). افزایش ارتفاع، می تواند اثرات مضر خشکی و پرتو UVB بر رشد، بهره وری و فتوسنتز گیاهان عالی را افزایش دهد (Singh et al., 2023). اگرچه شرایط تنش می تواند رشد گیاه را به تعویق اندازد، با این وجود بسیاری از گونه های مقاوم مکانیسم های سازگاری متفاوتی را تحت این شرایط کسب کرده اند (Elkeilsh et al., 2019). در این شرایط، گیاهان برای جلوگیری از اثرات مضر شدت های بالاتر تابش نور و دز بالای پرتو فرابنفش، با تجمع آنتی اکسیدان ها و رنگیزه های غیر فتوسنتزی مانند ترکیبات فنلی در برگ ها باعث کاهش آسیب نوری می شوند (Shi et al., 2022). به دلیل وجود ساختارهای حلقوی، فلاونوئیدها توانایی جذب الکترون های اضافی دارند که آنها را قادر می سازد تا به عنوان جاروب کننده های غیر آنزیمی گونه های فعال اکسیژن (ROS) عمل کنند و می توانند در برابر آسیب نوری، به ویژه ناشی از پرتو فرابنفش، از گیاه محافظت کنند (Shi et al., 2022). بعضی ترکیبات فنلی در شدت نور بالا پرتو فرابنفش را غربال می کنند (Singh et al., 2023). تمام فلاونوئیدها در محدوده ی پرتو فرابنفش جذب دارند و بیشتر در روپوست سلول های گیاهی تجمع می یابند تا مقادیر زیاد پرتو فرابنفش را جذب کنند و اجازه عبور به لایه های داخلی را ندهند (Ferreya et al., 2021).

هدف این تحقیق، معرفی سازوکارهای حفاظت نوری در اکوتیپ های مختلف چای کوهی (*Stachys lavandulifolia*) است تابش UV-B به میزان معینی بر گیاهان دارویی می تواند راهی مناسب برای بدست آوردن مقدار قابل توجهی از متابولیت های ثانویه و در نتیجه افزایش ارزش دارویی و اقتصادی آنها، باشد (Lingwan et al., 2023). هم اکنون، هیچ اطلاعاتی درمورد نقش تابش UVB بر تغییرات محتمل در گیاهان دارویی *Stachys lavandulifolia* در ارتفاعات زیاد و کم وجود ندارد. در این تحقیق فرض شده است که تنوع قابل توجهی در مکانیسم های حفاظت نوری و وضعیت متابولیسم فنلی بین گیاهان مناطق مرتفع و کم ارتفاع متناسب با ارتفاعی که در آن زیست می کنند، وجود دارد. همچنین طی این تحقیق، گیاه نامبرده از نظر بعضی متابولیت های ثانوی مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش ها

بذرهای اکوتیپ های مناطق کم ارتفاع (۲۲۰۰ متر) و مرتفع (۳۳۰۰ متر) گیاه چای کوهی (*Stachys lavandulifolia*) در گلدان های پلاستیکی به عمق ۴۰ سانتی متر و قطر ۳۰ سانتی متر و حاوی خاک ماسه ای پرلیت دار به مدت ۱۲ هفته کشت شدند و هر ۷ روز یک بار با آب مقطر آبیاری شدند. گیاهان به شرایط نرمال اتاق رشد شامل فتوپریود ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی و دمای روز ۲۵ و شب ۱۸ درجه سانتی گراد منتقل شدند. گیاهان انتخاب شده به مدت ۱۰ روز با شدت پرتو فرابنفش B با دز ۱۵ و ۳۰ کیلوژول بر متر مربع در روز تیمار شدند. سنجش بر روی نمونه های تازه برداشت شده و یا نگهداری شده در ازت مایع انجام شد.



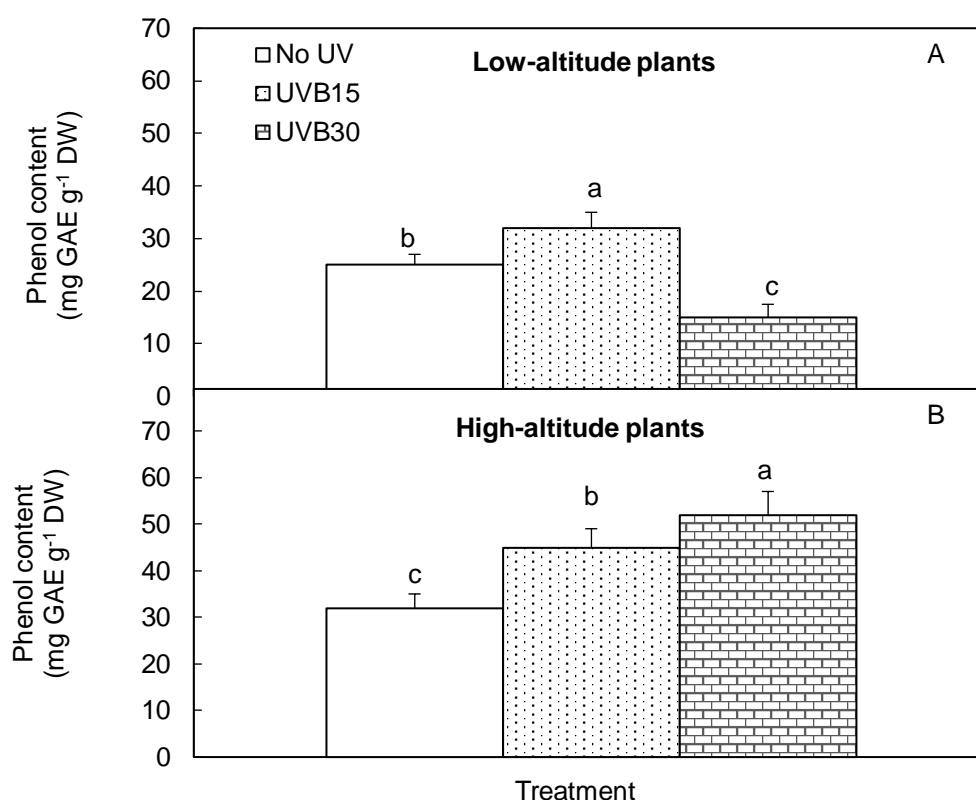
فعالیت فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) مطابق روش (Zucker, 1965) مورد اندازه گیری قرار گرفت. ابتدا عصاره آنزیمی در بافر ۵۰ میلی مولار بافر فسفات سدیم با $pH=7/8$ و حاوی اتیلن دی آمین تتراستیک اسید (EDTA) با غلظت ۲ میلی مولار و ۱۸ میلی مولار مرکاپتواتانول و ۰/۱ درصد تریتون X-100 استخراج شد. عصاره ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰ دور سانتریفوژ شده و روشناور برای سنجش فعالیت مورد استفاده قرار گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به یک میلی لیتر از محلول واکنشی شامل ۵۰ میلی مولار بافر سدیم بورات ($pH=8/8$) و ۵ میلی مولار L-فنیل آلانین اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه به منظور انجام واکنش قرار گرفت. جذب نمونه ها در ۲۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (SPECORD 50 PLUS, Analytikjena, Germany) اندازه گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم بر اساس غلظت پروتئین آنزیمی لازم برای تولید یک نانومول سینامیک اسید محاسبه شد. از آنجایی که بیشترین ترکیبات فنلی گیاهان از نوع پلی فنل ها می باشد، برای سنجش فنل کل از روش معرف فنلی فولین سیوکالتو (Mavi et al., 2004)، استفاده شد. برای این منظور ۵ گرم برگ پس از پودر شدن توسط هاون در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد و با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴۲ صاف گردید. غلظت ۲۵۰ میکرولیتر معرف فولین با ۲۵ میکرولیتر عصاره و ۵۰۰ میکرولیتر محلول آبی کربنات سدیم ۲۰ درصد مخلوط شد. نمونه های شاهد فاقد عصاره بودند. پس از قرار دادن نمونه ها در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه جذب آنها در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه گیری شد و غلظت فنل کل بر اساس منحنی استاندارد اسید گالیک به دست آمد. برای هر عصاره این سنجش ۴ بار تکرار شد و میانگین فنل کل موجود در عصاره تیمارها به صورت میلی گرم اسید گالیک در گرم بافت بیان شد. برای سنجش غلظت فلاونوئیدها، نمونه های برگ در متانول حاوی آلومینیوم کلراید دو درصد استخراج شده و پس از سانتریفوژ، روشناور برداشت و جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. از غلظت های مختلف کوئرستین (صفر تا ۱۶ میلی گرم در لیتر) به عنوان استاندارد استفاده گردید و غلظت فلاونوئیدها براساس واحد میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن تر محاسبه شد (Simon et al., 1974).

آزمایش در قالب طرح بلوک های کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده ها با کمک نرم افزار سیگما استات (نسخه ۳/۵) با استفاده از تست توکی در سطح پنج درصد انجام گردید.

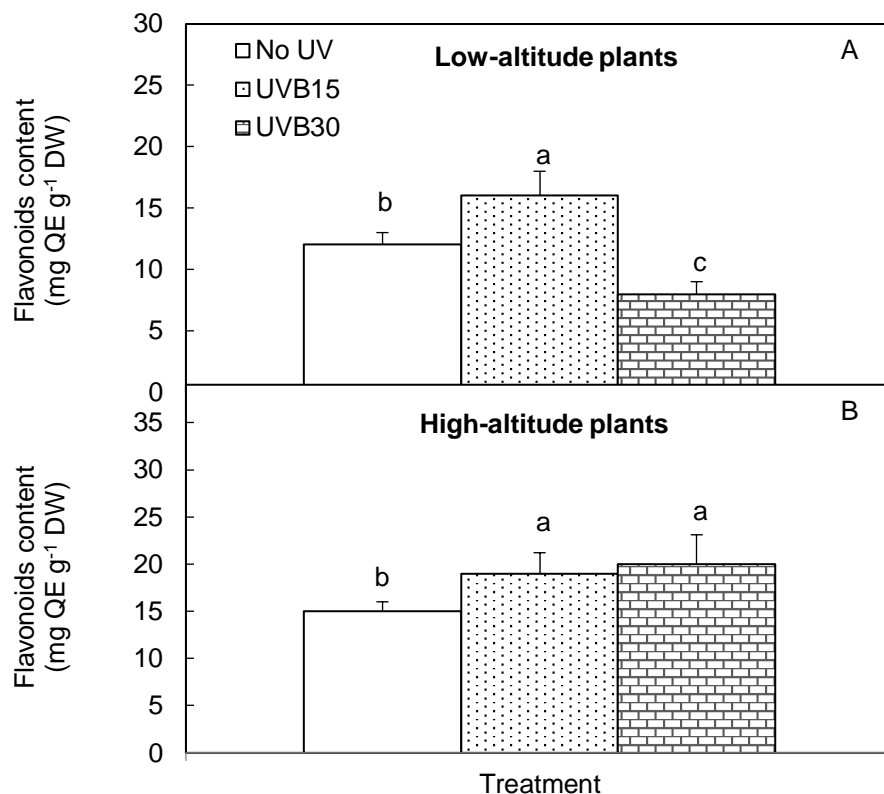
۳. نتایج

مقدار فنل در گیاهان مناطق کم ارتفاع تحت تأثیر اعمال تنش دز پایین پرتوفراپنفش افزایش معنی داری پیدا کرد ولی با افزایش دز پرتوفراپنفش، مقدار فنل در گیاهان مناطق کم ارتفاع نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۱). مقدار فنل در گیاهان مناطق مرتفع تحت تأثیر اعمال تنش دز پایین و دز بالای پرتوفراپنفش افزایش معنی داری پیدا کرد. الگوی تغییرات مقدار فلاونوئیدها مانند الگوی تغییرات مقدار فنل بود بطوریکه در گیاهان مناطق کم ارتفاع تحت تأثیر اعمال تنش دز پایین پرتوفراپنفش افزایش ولی تحت تنش دز بالای پرتوفراپنفش، نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۲). مقدار فلاونوئید در گیاهان مناطق مرتفع تحت تأثیر اعمال تنش دز پایین و دز بالای پرتوفراپنفش افزایش معنی داری پیدا کرد.

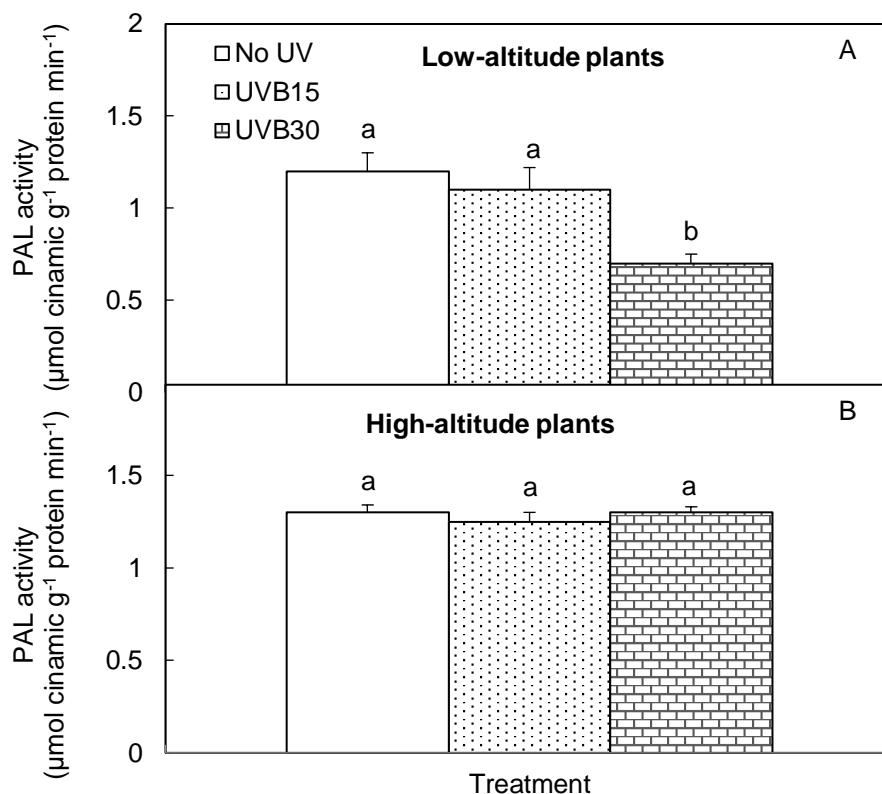
فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالایز (PAL)، در گیاهان کم ارتفاع تحت تأثیر اعمال دز پایین پرتوفرا بنفش قرار نگرفت، اما اعمال دز بالای پرتوفرا بنفش منجر به افزایش معنی دار فعالیت آنزیم PAL شد (شکل ۳). فعالیت آنزیم PAL در گیاهان مناطق مرتفع تحت تأثیر تنش دز پایین (UVB15) و دز بالای (UVB30) پرتوفرا بنفش قرار نگرفت (شکل ۳).



شکل (۱) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB) بر مقدار فنل کل در برگ های اکوتیپ های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Stachys lavandulifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده ها میانگین ۴ تکرار هستند.



شکل (۲) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB) بر مقدار فلاوونوئید کل در برگ های اکوتیپ های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Stachys lavandulifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده ها میانگین ۴ تکرار هستند.



شکل (۳) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB) بر فعالیت آنزیم PAL در برگ های اکوتیپ های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Stachys lavandulifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده ها میانگین ۴ تکرار هستند.

۴. بحث و نتیجه گیری

متابولیت های ثانویه مانند فلاونوئیدها، اسیدهای فنلیک، تانن ها و آنتوسیانین ها پتانسیل فوق العاده ای در مهار ROS و کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهان نشان داده اند (Pandeya *et al.*, 2020). فلاونوئیدها از محصولات مسیر فنیل پروپانویید در گیاهان با نقش های فراوانی به طور مثال بعنوان مولکول های سیگنال دهی، فیلتر پرتو فرابنفش و جاروبرگر گونه های فعال اکسیژن با نقش آنتی اکسیدانی عمل می کنند (Dias *et al.*, 2021) و نقش های زیادی در تحمل به تنش های غیر زیستی مانند پرتو فرابنفش دارند. در این مطالعه، مقدار فنل و فلاونوئید برگ های گیاهان کم ارتفاع تحت تأثیر دز بالای پرتو فرابنفش، کاهش معنی داری نشان داد که با کاهش معنی دار در فعالیت فنیل آلانین آمونیلایز همراه بود. در گیاهان مناطق مرتفع، مقدار فنل و فلاونوئید تقریباً در همه تیمارها افزایش معناداری داشت که با سطوح بالای فعالیت آنزیم PAL در برگ تیمارهای شده همراه بود. (Shi و همکاران، ۲۰۲۲) نشان دادند که گیاهان تحت تنش UVB، به تجمع فلاونوئیدهای غربالگر نور آفتاب می پردازند که منجر به جلوگیری یا کاهش آسیب ناشی از آن می شود. در گیاه *Capsicum annuum* نیز افزایش محتوای فلاونوئید تحت



تنش UVB توسط (Castillejo و همکاران، ۲۰۲۲) مشاهده شد. (Pandey و همکاران، ۲۰۲۰) نیز نشان دادند که UVB باعث افزایش قابل توجه تولید فلاونوئیدها از طریق افزایش بیان ژن PAL می شود. همچنین در مطالعات دیگر نشان داده شده است که افزایش تابش UVB به طور قابل توجهی فعالیت PAL را افزایش می دهد که منجر به تجمع متابولیت های ثانویه ای که به طور مستقیم یا غیر مستقیم از گیاه در برابر UVB محافظت می کنند، می شود (Hideg *et al.*, 2013) که با نتیجه این مطالعه درباره گیاهان مرتفع مطابقت دارند. در این تحقیق، به طور کلی گیاهان مناطق مرتفع نسبت به گیاهان مناطق کم ارتفاع، تجمع بیشتری از ذخیره های فنلی و فلاونوئیدی را در برگ های خود نشان دادند و همچنین میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالاز در تیمارهای گیاهان مرتفع در مقایسه با گیاهان کم ارتفاع بطور معناداری بیشتر بود.

منابع

- Elkeilsh, A., Awad, Y. M., Soliman, M. H., Abu-Elsaoud, A., Abdelhamid, M. T., & El-Metwally, I. M., 2019. Exogenous application of β -sitosterol mediated growth and yield improvement in water-stressed wheat (*Triticum aestivum*) involves up-regulated antioxidant system. *Journal of plant research*, 132(6): 881–901.
- Ferreira, M. L. F., Serra, P., Casati, P., 2021. Recent advances on the roles of flavonoids as plant protective molecules after UV and high light exposure. *Physiologia Plantarum*, 173(3): 736-749.
- Mavi, A., Terzi, Z. and Ozgen, U., 2004. Antioxidant properties of some medicinal plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. *Verum* (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 27: 702-705.
- Pinnola, A., Bassi, R., 2018. Molecular mechanisms involved in plant photoprotection. *Biochemical Society Transactions*, 46(2): 467-482.
- Shi, Y., Ren, J., Zhao, B., Zhu, T., Qi, H., 2022. Photoprotective Mechanism of Fucoxanthin in Ultraviolet B Irradiation-Induced Retinal Müller Cells Based on Lipidomics Analysis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 70(10): 3181–3193.
- Simon, L.M., Fatrai, Z., Jonas, D.E. and Matkovics, B., 1974. Study of Peroxide Metabolism Enzymes during the Development of *Phaseolus vulgaris*. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 166(5-6): 387-392.
- Singh, P., Singh, A., Choudhary, K. K., 2023. Revisiting the role of phenylpropanoids in plant defense against UV-B stress. *Plant Stress*, 7: 100143.
- Zucker, M., 1965. Induction of phenylalanine deaminase by light, its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. *Physiologia Plantarum*, 40: 779-784.

ارزیابی ارتباط بین پلی آمین ها و تنش سرب در بهبود عملکرد گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)

مهرنوش محمدی^۱، سروناز بی غم سوستانی^۲، منیره رنجبر^{۳*}

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان (ranjbarmonir@yahoo.com)

^۲گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

چکیده

گیاهان دارویی مانند مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) در معرض تنش های زیست محیطی، از جمله فلزات سنگین، دچار تغییرات فیزیولوژیکی می شوند. در این پژوهش، تأثیر محلول پاشی پوترسین و اسپرمیدین (۱ میلی مولار) بر گیاه مریم گلی تحت تنش سرب (۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار نیترات سرب) بررسی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گردید. نتایج نشان داد که این ترکیبات می توانند اثرات منفی سرب را کاهش داده و عملکرد گیاه را بهبود بخشند. بیشترین افزایش فعالیت آنزیمی در پلی فنل اکسیداز و کاتالاز مشاهده شد و فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت های ۱۲۵ و ۵۰۰ میکرومولار سرب نسبت به سایر تیمارها افزایش یافت. همچنین، تیمارهای پوترسین و اسپرمیدین باعث بهبود وزن تر و خشک و افزایش طول گیاه شدند که احتمالاً به حفظ پایداری غشا مرتبط است، اما این تغییرات از نظر آماری معنادار نبود. این نتایج نشان می دهد که مریم گلی از مقاومت بالایی در برابر تنش فلزات سنگین برخوردار است و استفاده از پلی آمین ها می تواند تا حدی اثرات منفی ناشی از این تنش را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: آلاینده، پلی آمین، تنش محیطی، فلز سنگین، گیاهان دارویی



۱. مقدمه

فلزات سنگین از آلاینده‌های مهم زیست‌محیطی موجود در خاک هستند و سطوح سمی برخی از آنها (کادمیم، مس، سرب و غیره) می‌تواند در اثر فعالیت‌های انسانی در مناطق طبیعی و کشاورزی ظاهر شود. حضور آنها در اتمسفر، خاک و آب، حتی در غلظت‌های کمی، می‌تواند مشکلات جدی برای همه موجودات ایجاد کند (Benavides et al. 2005; Grata~o et al. 2023).

سرب (Pb) دومین فلز مضر برای همه موجودات زنده در نظر گرفته می‌شود. آلودگی سرب ناشی از آگروز خودروها، علاوه بر استفاده از کودهای آلوده به سرب، به یک موضوع مهم در سراسر جهان تبدیل شده است. استفاده بی‌وقفه از پساب‌های صنعتی آلوده به آب زهکشی برای آبیاری منجر به آلودگی سرب در سایت‌های کشاورزی می‌شود. بیشتر گیاهان زمانی که غلظت سرب از ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک بیشتر شود علائم سمیت را نشان می‌دهند (Yasseen and Al-Thani 2013). پلی آمین‌ها (Pas) ترکیبات نیتروژنی هستند که در تمام سلول‌های زنده وجود دارند. سه پاس اصلی، پوترسین (Put)، اسپرمیدین (Spd) و اسپرمین (Spm)، در فرآیندهای سلولی مختلف از ارتقاء رشد و تقسیم سلولی تا مهار تولید اتیلن و پیری شرکت می‌کنند (Tiburcio et al. 1997; Kamiab et al., 2020; Bagni & Tassoni 2001). سرب (Pb) به شدت بر متابولیسم طبیعی گیاه، ویژگی‌های مورفولوژی، فیزیولوژیکی و رشد و بهره‌وری محصول تأثیر می‌گذارد (Rady et al. 2016; Grata~o et al. 2005; wang et al., 2023). اغلب منجر به کاهش رشد، کاهش بیوسنتز کلروفیل، عدم تعادل هورمونی و القای تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در گیاهان می‌شود (Sachdev et al., 2023). سرب که فلز غیر اکسیداسیونی است، باعث تولید ROS می‌شود که منجر به استرس اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی می‌شود (Cuypers et al., 2023). گیاهان معمولاً دارای سه مکانیسم تحمل سرب هستند، یعنی (الف) مکانیسم‌های غیرفعال (گیاه انواع موانع فیزیکی در برابر جذب سرب ایجاد می‌کند)، (ب) مکانیسم‌های القایی (سم‌زدایی فلز و دفع آن به فضاهای خارج سلولی) و (ج) فعال سازی سیستم دفاعی ضد اکسیداتیو (که شامل آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی است) برای از بین بردن ROS (Rady et al. 2021). آنتی اکسیدان‌ها، هم آنزیمی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) و غیر آنزیمی مانند گلوتاتیون احیا شده (GSH) و گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) هستند. به جز آنتی اکسیدان‌ها، گیاهان همچنین انواع مختلفی از ترکیبات آلی یا اسمولیت‌های پرولین و قندهای محلول را برای محافظت از ساختارهای سلولی ضروری و حفظ پتانسیل اسمزی سلولی انباشته می‌کنند (Bhat et al., 2022). در این مطالعه از مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) استفاده شد. مریم گلی یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی و معطر است. درختچه‌ای است دائمی و همیشه سبز تا ارتفاع ۶۰ سانتی متر *S. officinalis* بومی منطقه مدیترانه است، گونه‌های مریم گلی نیز پراکنش جهانی دارند. *S. officinalis* به دلیل غنی بودن از اسانس، یکی از مشهورترین گیاهان معطر از نظر محتوای بیوشیمیایی است (Sheikhalipour et al., 2024). اسانس مریم گلی که با مونوترپن‌های α - و β -توژون مشخص می‌شود، ترکیبی بسیار پیچیده از ترکیبات متعدد است. مونوترپن‌های α - و β -توژون، کافور، ۱۸-سینئول و بورنئول ترکیبات اصلی هستند (Chehade et al., 2022). در میان سایر متابولیت‌های ثانویه، اسید کارنوسینیک، اسید رزمارینیک، اسید کافیک و اسید



سالیوانولیک در *S. officinalis* یافت می شود (Mróz and Kusznierevicz., 2023). این گونه به دلیل پتانسیل آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی قوی خود (Kompoura et al., 2024)، و همچنین کاربردهای دارویی سنتی (Pesaraklu et al., 2021) شناخته شده است.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. کشت بذر و تیماردهی

بذر گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)، از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد و در گلدان های حاوی کوکوپیت و پرلیت به نسبت مساوی کاشته شد. گلدان های حاوی بذر هر روز در ۳ نوبت با آب مقطر آبیاری شدند. این روند ادامه پیدا کرد تا زمانی که بذر فوق الذکر جوانه زد، با مشاهده جوانه علاوه بر آب مقطر روزانه یک مرتبه محلول پاشی هوگلند صورت گرفت. با رشد گیاه و رسیدن گیاه به مرحله دو برگچه ایی تیمار توام غلظت های نیترات سرب ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرو مولار و پلی آمین ها (محلول ۱ میلی مولار پوترسین، محلول ۱ میلی مولار اسپرمیدین) به مدت ۱ ماه و به صورت یک روز در میان صورت گرفت و در روزهای دیگر محلول پاشی هوگلند به همراه آب مقطر انجام می شد. نحوه استفاده پلی آمین ها به صورت اسپری پاش (محلول پاشی) بوده است.

۲-۲. تعیین طول گیاه

پس اتمام تیمار دهی، به طور تصادفی از هر گلدان ۵ تا گیاه برداشته و طول آنها با خط کش اندازه گیری شدند، سپس اعداد بدست آمده با هم جمع و میانگین اعداد محاسبه شد (Zheng et al., 2023).

۲-۳. محاسبه وزن تر و خشک گیاه

۲-۳-۱. وزن تر گیاه

به طور تصادفی تعدادی گیاه از هر گلدان برداشته شد سپس بخش هوایی از بخش زیرزمینی جدا گردید. برای محاسبه وزن تر بخش های هوایی جدا شده، وزن گردید (Zheng et al., 2023).

۲-۳-۲. وزن خشک گیاه

پس از محاسبه وزن تر، گیاهان را داخل فویل گذاشته درحالی که سطح آن ها باز است فویل های حاوی گیاهان داخل آون با دمای ۶۰ الی ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت پس از خشک شدن وزن آنها تعیین شد (Zheng et al., 2023).



۲-۴. تهیه عصاره آنزیمی

جهت تهیه عصاره آنزیمی ابتدا ۰/۲ گرم از اندام های هوایی گیاه به مدت ۱ روز در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد منجمد شد. سپس ۰/۱ گرم بافت منجمد به همراه ۱/۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات در هاون چینی سائیده شد، سپس به اپندورف منتقل شد و توسط سانتریوفوژ یخچال دار به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با دور ۱۵۰۰ قرار گرفت در پایان جهت سنجش آنزیم از محلول رویی استفاده شد (Kar and Mishra., 1976).

۲-۵. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز و پلی فنل اکسیداز

۲۰۰ میکرولیتر از عصاره برداشته داخل لوله آزمایش ریخته و بعد ۲/۸ میلی لیتر از بافر پتاسیم فسفات را به عصاره اضافه و ۳۰۰ میکرو لیتر آب اکسیژنه ۳٪ بلافاصله اضافه و داخل دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۳۰ نانومتر قرار گرفت فعالیت آنزیم بر حسب واحد جذب تعیین شد. محلول بلانک شامل ۲/۸ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات به همراه ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود (Rady et al., 2023; Maehly and Chance., 1954).

۲-۶. سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی برداشته به آن ۲/۸ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات اضافه شد، ۱۰۰ میکرو لیتر از پیروگالول ۱۰ میلی مولار را اضافه کرده و بلافاصله در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۴۲۰ نانومتر میزان جذب سنجش شد. محلول بلانک شامل ۲/۸ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات به همراه ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود (Rady et al., 2023, Taneja and Sachar., 1974).

۲-۷. آنالیز آماری

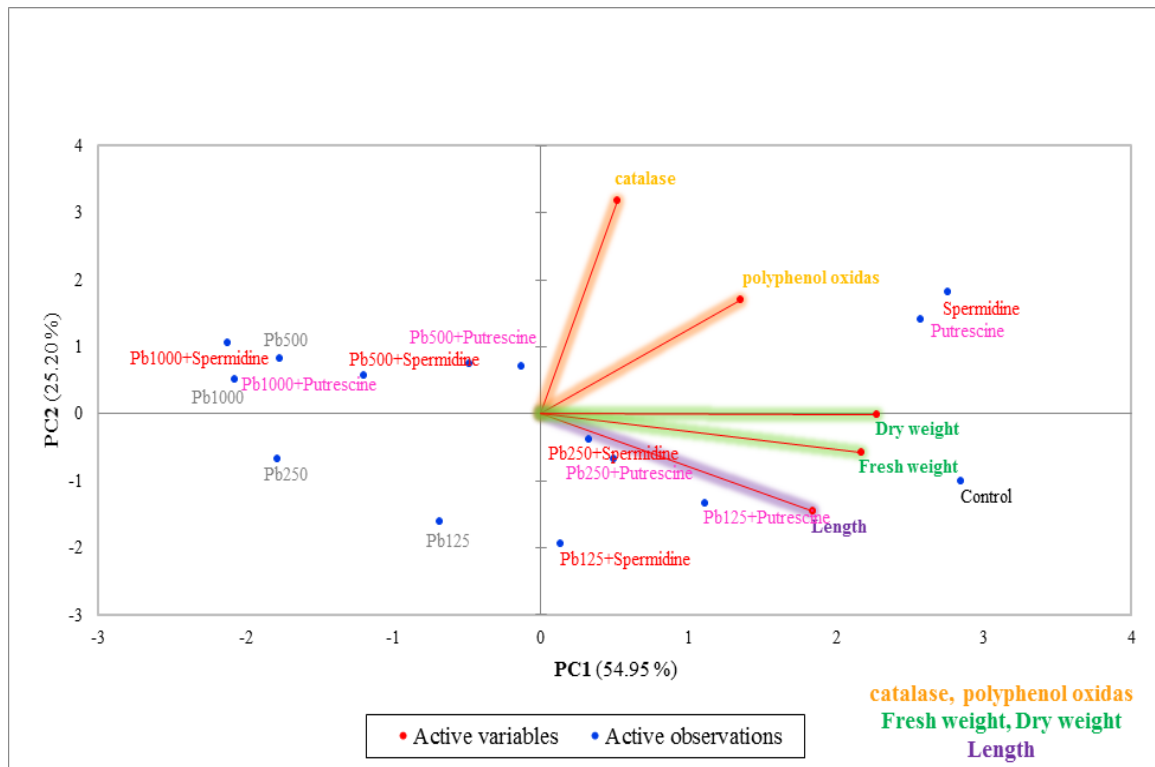
این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی انجام شد پس از جمع آوری داده ها آنها را از طریق آزمون کلموگروف اسمیرنوف ارزیابی کرده و با توجه به نرمال بودن داده ها از آزمون های پارامتریک جهت آنالیز آماری بهره بردیم. تمام داده ها در اکسل ۲۰۱۹، در نرم افزارهای XLSTAT، SRplot آنالیز شد قابل ذکر است مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن انجام شد.

۳. نتایج

ما نتایج تجزیه و تحلیل اجزای اصلی خود را ارائه می کنیم. طرح مولفه اصلی دو بعدی جداسازی پانزده تیمار مختلف را در چهار ربع بای پلات به تصویر می کشد. طرح نشان می دهد که تیمارهای اسپرمیدین و پوترسین بیشترین ارتباط را با پلی فنل اکسیداز و کاتالاز نشان داد، همچنین تیمارهای سرب ۵۰۰ میکرومولار+پوترسین، سرب ۱۰۰۰ میکرومولار+پوترسین، سرب ۱۰۰۰ میکرومولار+اسپرمیدین، سرب ۵۰۰ میکرومولار+اسپرمیدین، سرب ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار ارتباط عکس با را با طول گیاه، وزن تر، وزن خشک نشان دادند همچنین این تیمارها با فعالیت آنزیم کاتالاز پلی فنل اکسیداز ارتباط مستقیم و اندک



نشان دادند، بیشترین ارتباط طول گیاه، وزن تر، وزن خشک با تیمارهای سرب ۲۵۰ میکرومولار+پوترسین، سرب ۲۵۰ میکرومولار+اسپرمیدین، سرب ۱۲۵ میکرومولار+پوترسین، سرب ۱۲۵ میکرومولار+اسپرمیدین نشان داده شد (شکل ۱).



شکل ۱. تجزیه و تحلیل مؤلفه های اصلی (PCA) بر اساس تیمارهای مختلف پوترسین و اسپرمیدین در *Salvia officinalis* L. در بین تیمارها

نتایج نشان می دهد که تیمار گیاه با غلظت های ۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میکرومولار سرب در مقایسه با شاهد باعث افزایش طول گیاه شده است. احتمالاً این اثر مربوط به افزایش اندازه سلول ها به دلیل افزایش فشار اسمزی و جذب آب سلولی است. میزان وزن تر گیاه تحت تاثیر تیمار با غلظت های مختلف سرب نسبت به شاهد کاهش یافته است که این کاهش معنی دار بود. میزان وزن خشک گیاه تحت تیمار با غلظت های مختلف سرب نسبت به شاهد نیز کاهش معنی دار نشان داد. تیمار سرب روی فعالیت آنزیم کاتالاز ارزیابی شد و نتایج نشان داد که بیشترین تاثیر به تیمارهای اسپرمیدین و پوترسین تعلق داشت و کمترین تاثیر بر تیمار سرب ۱۲۵ میکرومولار تعلق داشت. آنالیز واریانس اختلاف داده های مربوط به تیمار غلظت های مختلف سرب در رابطه با فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در سطح ۱٪ معنی دار بوده است نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در گیاه *Salvia officinalis* L. تیمار گیاه با غلظت های مختلف سرب باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نسبت به شاهد شده است. همچنین فعالیت این آنزیم در غلظت های ۱۲۵ و ۵۰۰ میکرومولار سرب نسبت به دیگر غلظت های سرب افزایش نشان داد. و نتایج نشان داد که بیشترین تاثیر به تیمار اسپرمیدین تعلق داشت (جدول ۱).



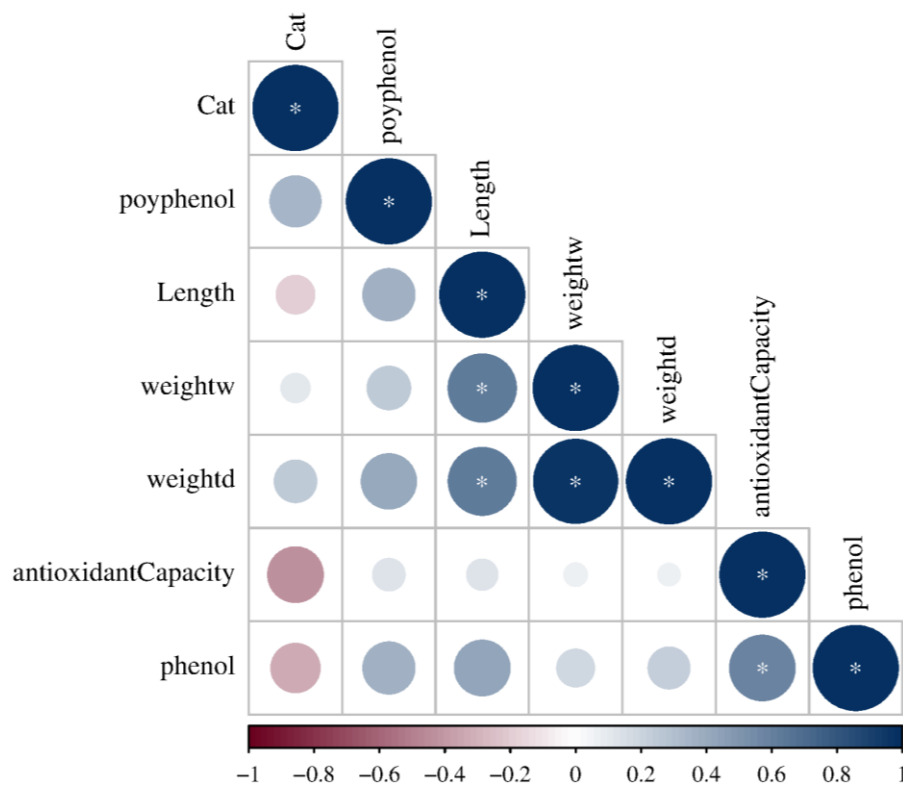
جدول ۱ توصیفی تیمارها و فاکتورهای سنجش شده در این مطالعه

گروه ها	کاتالاز OD/fwgr	پلی فنل اکسیداز OD/fwgr	طول گیاه Cm	وزن تر gr	وزن خشک gr
کنترل	$0.0 \pm 0.627 / 0.077^d$	$0.0 \pm 0.334 / 0.029^h$	$1.0 \pm 0.867 / 1.817^a$	$2.0 \pm 0.647 / 3.876^a$	$1.0 \pm 0.32 / 0.047^c$
پوترسین	$0.0 \pm 0.813 / 0.025^a$	$0.0 \pm 0.632 / 0.0652^b$	$9.0 \pm 0.933 / 1.616^b$	$2.0 \pm 0.79 / 3.688^b$	$1.0 \pm 0.39 / 0.070^a$
اسپرمیدین	$0.0 \pm 0.833 / 0.032^a$	$0.0 \pm 0.715 / 0.028^a$	$9.0 \pm 1.867 / 1.814^b$	$1.0 \pm 1.847 / 1.003^{bc}$	$1.0 \pm 0.71 / 0.085^b$
سرب ۱۲۵	$0.0 \pm 0.18 / 0.026^g$	$0.0 \pm 0.418 / 0.185^{cde}$	$8.0 \pm 0.6133 / 1.858^d$	$1.0 \pm 0.276 / 2.343^{de}$	$0.0 \pm 0.5449 / 0.089^m$
سرب ۲۵۰	$0.0 \pm 0.333 / 0.045^f$	$0.0 \pm 0.416 / 0.140^{cde}$	$8.0 \pm 1.033 / 1.19^e$	$0.0 \pm 0.749 / 2.094^{fg}$	$0.0 \pm 0.313 / 0.088^o$
سرب ۵۰۰	$0.0 \pm 0.71 / 0.095^{cd}$	$0.0 \pm 0.3873 / 0.102^{cde}$	$7.0 \pm 0.8733 / 1.25^{ef}$	$0.0 \pm 0.705 / 2.081^{fg}$	$0.0 \pm 0.3137 / 0.020^o$
سرب ۱۰۰۰	$0.0 \pm 0.623 / 0.096^d$	$0.0 \pm 0.377 / 0.200^{def}$	$7.0 \pm 0.7267 / 1.814^f$	$0.0 \pm 0.53 / 3.068^g$	$0.0 \pm 0.2863 / 0.092^p$
سرب ۱۲۵ + اسپرمیدین	$0.0 \pm 0.287 / 0.020^f$	$0.0 \pm 0.2773 / 0.335^k$	$8.0 \pm 0.67 / 1.301^{bc}$	$1.0 \pm 0.726 / 3.844^{bcd}$	$0.0 \pm 0.8517 / 0.045^d$
سرب ۲۵۰ + اسپرمیدین	$0.0 \pm 0.48 / 0.036^e$	$0.0 \pm 0.4313 / 0.102^{cd}$	$8.0 \pm 0.533 / 1.890^d$	$1.0 \pm 0.585 / 3.959^{bcd}$	$0.0 \pm 0.7957 / 0.035^g$
سرب ۵۰۰ + اسپرمیدین	$0.0 \pm 0.753 / 0.032^{ab}$	$0.0 \pm 0.344 / 0.124^{gh}$	$7.0 \pm 0.5833 / 1.833^{fg}$	$1.0 \pm 0.433 / 2.056^{cdf}$	$0.0 \pm 0.7325 / 0.056^k$
سرب ۱۰۰۰ + اسپرمیدین	$0.0 \pm 0.64 / 0.026^{cd}$	$0.0 \pm 0.3447 / 0.136^{gh}$	$5.0 \pm 0.5367 / 1.167^k$	$1.0 \pm 0.133 / 2.332^{ef}$	$0.0 \pm 0.5207 / 0.055^n$
سرب ۱۲۵ + پوترسین	$0.0 \pm 0.29 / 0.020^f$	$0.0 \pm 0.4553 / 0.168^c$	$9.0 \pm 0.1467 / 0.923^b$	$1.0 \pm 0.892 / 2.115^{bc}$	$0.0 \pm 0.956 / 0.078^d$
سرب ۲۵۰ + پوترسین	$0.0 \pm 0.47 / 0.043^e$	$0.0 \pm 0.4003 / 0.138^{def}$	$8.0 \pm 0.7667 / 1.553^{cd}$	$1.0 \pm 0.7047 / 2.076^{bcd}$	$0.0 \pm 0.823 / 0.096^f$
سرب ۵۰۰ + پوترسین	$0.0 \pm 0.723 / 0.020^{bc}$	$0.0 \pm 0.364 / 0.340^{fgh}$	$7.0 \pm 0.373 / 1.331^g$	$1.0 \pm 0.647 / 2.114^{bcd}$	$0.0 \pm 0.8112 / 0.011^g$
سرب ۱۰۰۰ + پوترسین	$0.0 \pm 0.63 / 0.020^d$	$0.0 \pm 0.3473 / 0.170^{gh}$	$6.0 \pm 0.766 / 2.786^h$	$1.0 \pm 0.30 / 3.067^{de}$	$0.0 \pm 0.6397 / 0.083^l$

حروف غیر یکسان نشان دهنده معناداری بین تیمارها می باشد ($P < 0/05$) و حروف یکسان نشان دهنده عدم معناداری بین تیمارها می باشد ($P > 0/05$).

۳-۱. ارزیابی همبستگی پیرسون در تیمارهای مختلف

همبستگی پیرسون نشان داده شد که چگونه ویژگی های مختلف مورد مطالعه با یکدیگر مرتبط هستند (شکل ۲). در شکل رنگ های همبستگی بین مثبت قوی (آبی تیره $R=1$) و منفی قوی (قرمز تیره $R=-1$) را نشان می دهد (شکل ۲).



شکل ۲ همبستگی های منفی با رنگ قرمز و همبستگی های مثبت با رنگ آبی نشان داده شده اند. ضرایب همبستگی هم با اندازه دایره و هم با شدت رنگ همبستگی دارند.

۴. بحث و نتیجه گیری

با توجه به داده های موجود مشخص می شود که سرب بر پارامترهای مورفولوژیکی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) اثر بازدارندگی دارد. طول ساقه با تیمار سرب کاهش یافت. این کاهش ممکن است به کاهش سلول های مرستمی در ناحیه اندام هوایی توسط تجمع سرب نسبت داده شود (Bessonova et al., 2020). این نتایج با مطالعه دیگری که در آن طول ساقه گندم به دلیل فلز سنگین سرب کاهش یافت، مرتبط است. با تغییر در فعالیت آنزیم ها و القای استرس اکسیداتیو از رشد گیاهان جلوگیری می کند (Zulfiqar et al., 2019). علاوه بر این، سرب یک فلز سنگین بسیار سمی است که به دلیل تغییرات متابولیسم و فیزیولوژی گیاهان، اثرات مضر بر عملکرد و ویژگی های زیست توده مانند وزن تازه اندام هوایی و



وزن خشک گیاه مریم گلی دارد. برای کاهش و ترمیم آسیب ناشی از ROS به دلیل وجود فلز سنگین در محیط رشد گیاه، کاربرد خارجی آنتی اکسیدان هایی مانند پلی آمین ها گیاهان زراعی را قادر می سازد تا یک سیستم دفاعی پیچیده آنتی اکسیدانی ایجاد کنند تا استراتژی دفاع سلولی در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از سرب را افزایش دهند (Hafeez et al., 2023). کاربرد اسپری پوترسین و اسپرمیدین اثرات مضر سرب را کاهش داد و به طور قابل توجهی ویژگی های رشد گیاه گندم را افزایش داد، پلی آمین ها در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مختلف مربوط به رشد و نمو گیاه نقش دارند (Kamiah et al., 2020) که می توانند نقش مهار رشد گیاه ناشی از سرب را خنثی کنند دهد (Tyagi et al., 2023). احتمالاً تیمار اسپری پلی آمین ها از هدر رفتن کلروفیل جلوگیری می کند و از ساختار غشای تیلاکوئیدها به دلیل ویژگی های کاتیونی آنها محافظت می کند. این امکان وجود دارد که تیمارهای اسپری پلی آمین ها با استفاده از تأثیر غیر اختصاصی بر پلاسما، اثر فیزیولوژیکی را القا کنند. محققان اعلام کرده اند که اسپرمیدین به عنوان بهترین تیمار، می تواند ساختارها و عملکرد دستگاه فتوسنتزی را از طریق برهمکنش با غشای تیلاکوئید تنظیم کند (Rady et al., 2021). کانال انتقال خاصی برای عناصر غیر ضروری مانند سرب در گیاهان وجود ندارد. عناصر فلزی غیر ضروری از طریق انتقال دهنده ها و کانال های عناصر ضروری مانند کلسیم و پتاسیم به گیاهان منتقل شدند (Tiwari et al., 2020).

اثر بهبود بخش پلی آمین ها بر روی فلزات سنگین با القای سنتز پروتئین های خاص را می توان به نقش پلی آمین ها در افزایش تحمل گیاهان مریم گلی به فلزات سنگین نسبت داد (Abdulmajeed et al., 2022). نتایج تجربی نشان می دهد که تیمار خارجی پلی آمین ها نقش مهمی در افزایش تحمل گیاهان مریم گلی در اندام هوایی در مقایسه با مقادیر کنترل متناظر آنها دارد. این اثر ترمیم کننده ناشی از کاربرد برون ز از پلی آمین ها ممکن است به دلیل آن باشد: (۱) افزایش تولید فیتوکلانتین ها به ویژه در ریشه. (۲) افزایش دیواره سلولی و ذخیره واکوئولی این فلزات سنگین. (۳) افزایش سم زدایی فلزات سنگین با افزایش تجمع این فلزات در تریکوم های برگ و دمگل گیاهان گندم (Riyazuddin et al., 2021). و (۴) تحت این تنش ها به عنوان یک آنتی اکسیدان کارآمد و پاک کننده رادیکال های آزاد عمل کرده و ترشحات ریشه را در خاک افزایش می دهد (Abdulmajeed et al., 2022).

در مطالعه حاضر نشان داده شد که کاربرد پلی آمین ها خارجی اثرات نامطلوب تنش سرب بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه مریم گلی را کاهش داده و آنها را افزایش داد. این افزایش در تولید عملکرد توسط پلی آمین ها ممکن است به دلیل افزایش طول عمر برگ ها باشد (Kaur et al., 2023; Rady et al., 2021). پلی آمین ها نقش بسیار مهمی در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی (مربوط به کیفیت عملکرد) مانند رشد اندام تولید مثل، غده زایی، شروع گل و رشد و رسیدن میوه دارند (Nandy et al., 2022). فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم پلی فنل اکسیداز در تیمارهای پوترسین و اسپرمیدین افزایش نشان داد. پلی آمین ها بعنوان مولکولهای شبه هورمونی در این گیاه پارامترهای رشد و فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم پلی فنل اکسیداز را تحت تاثیر قرار داد. استفاده توام پلی آمین ها با سرب جهت تعدیل اثرات سرب تغییراتی را در طول و وزن خشک و تر گیاه نشان داد. فعالیت آنزیم کاتالاز و پلی فنل اکسیداز در تیمار توام افزایش یافت. بطور کلی نتایج نشان داد که پلی آمین ها نقش کاهش دهنده در اثرات



سوء گیاه مریم گلی را کاهش دهد اما این کاهش اثرات معنی دار نبود که دلیل اصلی آن مقاوم بودن گیاه مریم گلی نسبت به سرب ارزیابی شد.

منابع

- Abdulmajeed, A.M., Alharbi, B.M., Alharby, H.F., Abualresh, A.M., Badawy, G.A., Semida, W.M. and Rady, M.M., 2022. Simultaneous action of silymarin and dopamine enhances defense mechanisms related to antioxidants, polyamine metabolic enzymes, and tolerance to cadmium stress in *Phaseolus vulgaris*. *Plants*, 11(22): 3069.
- Bagni N, Tassoni A. 2001 Biosynthesis, oxidation and conjugation of aliphatic polyamines in higher plants. *Amino Acids* 20: 301–317.
- Benavides MP, Gallego SM, Tomaro ML. 2005 Cadmium toxicity in plants. *Braz J Plant Physiol* 17: 21–34.
- Bessonova, V., Dzhygan, O., Ivanchenko, O. and Ponomareva, O., 2020. The phytotoxic effects of lead, cadmium and sodium chloride on the morphological and physiological characteristics of ornamental herbaceous plants. *Metal Toxicity in Higher Plants*, p.157.
- Bhat, M.Y., Gul, M.Z. and Dar, J.S., 2022. Gene Expression and Role of Antioxidant Enzymes in Crop Plants Under Stress. In *Antioxidant Defense in Plants: Molecular Basis of Regulation* (pp. 31-56). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Chehade, S., Kobeissy, M., Kanaan, H. and Haddad, M., 2022. Comparison between the Chemical Compositions and the In-Vitro Antidiabetic and Anti-Inflammatory Activities of *Salvia Libanotica* and *Salvia Officinalis* Leaves Essential Oils. *Eur. J. Pharm. Med. Res*, 93: 34-43.
- Cuypers, A., Vanbuel, I., Iven, V., Kunnen, K., Vandionant, S., Huybrechts, M. and Hendrix, S., 2023. Cadmium-induced oxidative stress responses and acclimation in plants require fine-tuning of redox biology at subcellular level. *Free Radical Biology and Medicine*.
- Grataño PL, Polle A, Lea PJ, Azevedo RA. 2005 Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Funct Plant Biol* 32: 481–494.
- Hafeez, A., Rasheed, R., Ashraf, M.A., Qureshi, F.F., Hussain, I. and Iqbal, M., 2023. Effect of heavy metals on growth, physiological and biochemical responses of plants. In *Plants and their Interaction to Environmental Pollution* (pp. 139-159). Elsevier.
- Kamiab, F., Tavassolian, I. and Hosseinfarahi, M., 2020. *Biologia futura: the role of polyamine in plant science*. *Biologia Futura*, 71: 183-194.
- Kar, M. and Mishra, D., 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant physiology*, 57(2): 315-319.
- Kaur, Y. and Das, N., 2023. Roles of polyamines in growth and development of the Solanaceous crops under normal and stressful conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(8): 4989-5010.
- Kompoura, V., Karapantzou, I., Mitropoulou, G., Parisi, N.A., Gkalpinos, V.K., Anagnostou, V.A., Tsailanis, A.D., Vasdekis, E.P., Koutsaliaris, I.K., Tsouka, A.N. and Karapetsi, L., 2024. Exploiting the beneficial effects of *Salvia officinalis* L. extracts in human health and assessing their activity as potent functional regulators of food microbiota. *Food Chemistry*, 441: 138175.
- Maehly, A. and Chance, B., 1954. Catalases and peroxidases. *Methods Biochem Anal*, 1: 357-424.
- Mróz, M. and Kusznierevicz, B., 2023. Phytochemical screening and biological evaluation of Greek sage (*Salvia fruticosa* Mill.) extracts. *Scientific Reports*, 13(1): 22309.
- Nandy, S., Das, T., Tudu, C. K., Mishra, T., Ghorai, M., Gadekar, V. S., ... & Dey, A. 2022. Unravelling the multi-faceted regulatory role of polyamines in plant biotechnology, transgenics and secondary metabolomics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(3): 905-929.
- Pesaraklu, A., Radjabian, T. and Salami, S.A., 2021. Methyl jasmonate and Ag+ as effective elicitors for enhancement of phenolic acids contents in *Salvia officinalis* and *Salvia verticillata*, as two traditional medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 141: 105-115.



- Rady, M.M., El-Yazal, M.A.S., Taie, H.A. and Ahmed, S.M., 2016. Response of wheat growth and productivity to exogenous polyamines under lead stress. *Journal of crop science and biotechnology*, 19: 363-371.
- RADY, M.M., EL-YAZAL, M.A.S., TAIE, H.A. and AHMED, S.M., 2021. Physiological and biochemical responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants to polyamines under lead stress. *Innovare Journal of Agricultural Sciences*, 1-10.
- Riyazuddin, R., Bela, K., Poór, P., Szepesi, Á., Horváth, E., Rigó, G., ... & Csiszár, J. (2022). Crosstalk between the Arabidopsis glutathione peroxidase-like 5 Isoenzyme (AtGPXL5) and ethylene. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(10): 5749.
- Sachdev, S., Ansari, S.A., Ansari, M.I., Fujita, M. and Hasanuzzaman, M., 2021. Abiotic stress and reactive oxygen species: Generation, signaling, and defense mechanisms. *Antioxidants*, 10(2):
- Sheikhalipour, M., Kulak, M., Mohammadi, S.A., Esmailpour, B., Nouraein, M., Kocak, M.Z., Farajzadeh, S.M., Gohari, G., Fotopoulos, V. and Vita, F., 2024. Foliar application of either melatonin or sodium nitroprusside regulates the antioxidant status, and the morpho-physiological attributes and essential oil production in sage (*Salvia officinalis* L.) under salinity stress. *Scientia Horticulturae*, 323: 112526.
- Taneja, S.R. and Sachar, R.C., 1974. Induction of polyphenol oxidase in germinating wheat seeds. *Phytochemistry*, 13(12): 2695-2702.
- Tiburcio AF, Altabella T, Borrel A, Masgrau C. 1997 Polyamines metabolism and its regulation. *Physiol Plant* 100, 664–674.
- Tiwari, S., Patel, A., Pandey, N., Raju, A., Singh, M. and Prasad, S.M., 2020. Deficiency of essential elements in crop plants. *Sustainable solutions for elemental deficiency and excess in crop plants*, 19-52.
- Tyagi, A., Ali, S., Ramakrishna, G., Singh, A., Park, S., Mahmoudi, H. and Bae, H., 2023. Revisiting the role of polyamines in plant growth and abiotic stress resilience: mechanisms, crosstalk, and future perspectives. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(8): 5074-5098.
- Wang, X., Altaf, M.A., Hao, Y., Wang, Z. and Zhu, G., 2023. Effect of heat stress on root architecture, photosynthesis, and antioxidant profile of water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk) seedlings. *Horticulturae*, 9(8): 923.
- Yasseen BT, Al-Thani RF. 2013. *Agricultural chemistry*. USA: InTech.
- Yoo KS, Bang H, Lee EJ, Crosby K, Patil BS. 2012. Variation of carotenoid, sugar, and ascorbic acid concentrations in watermelon genotypes and genetic analysis. *Hortic Environ Biotechnol*. 53(6): 552–560.
- Zheng, Y., Yu, C., Xiao, Y., Ye, T. and Wang, S., 2023. The impact of utilizing oyster shell soil conditioner on the growth of tomato plants and the composition of inter-root soil bacterial communities in an acidic soil environment. *Frontiers in Microbiology*, 14.
- Zulfiqar, U., Farooq, M., Hussain, S., Maqsood, M., Hussain, M., Ishfaq, M., Ahmad, M. and Anjum, M.Z., 2019. Lead toxicity in plants: Impacts and remediation. *Journal of environmental management*, 250: 109557.

مسکالین یک ترکیب دارویی و روانگران در کاکتوس

پرویز ملک زاده^۱، فاطمه اسماعیلی^{۱*}

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران. (ftmh.esmaeli80@gmail.com)

چکیده

این مقاله به صورت یک مطالعه مروری به بررسی مسکالین (۳،۴،۵-تری متوکسی فن اتیل آمین) می پردازد که به عنوان یکی از قدیمی ترین مواد توهم زا شناخته می شود و شواهدی از استفاده آن به ۵۷۰۰ سال پیش برمی گردد. این ترکیب به طور عمده در کاکتوس پیوت و برخی از کاکتوس های جنس *Echinopsis* یافت می شود. با ممنوعیت مواد روان گردان در اوایل دهه ۱۹۷۰، تحقیقات در مورد مسکالین و دیگر ترکیبات روان گردان به شدت کاهش یافت. این مقاله به بررسی داروشناسی و تأثیرات رفتاری مسکالین می پردازد و بر داده های پیش بالینی و بالینی تمرکز دارد. مسکالین به عنوان یک آگونیست گیرنده های سروتونین عمل کرده و اثرات توهم زای آن عمدتاً از طریق این گیرنده ها شکل می گیرد. این ترکیب همچنین بر گیرنده های نورآدرنالی و دوپامین تأثیر دارد و می تواند احساس خوشحالی، توهمات و بهبود در سلامت روان را ایجاد کند. مسکالین همچنین رفتارهای اجتماعی و واکنش پذیری را افزایش می دهد. به طور کلی، به نظر می رسد که مصرف آن ایمن باشد و مسمومیت ها معمولاً خفیف و به راحتی قابل درمان هستند.

واژگان کلیدی: روان گردان، کاکتوس پیوت، مسکالین.



۱. مقدمه

روانگردان‌ها از حدود ۸۵۰۰ سال پیش در آیین‌ها و درمان‌ها استفاده می‌شوند و تغییراتی در ادراک و احساسات ایجاد می‌کنند، بدون اینکه خطر اعتیاد داشته باشند. با وجود محبوبیت آن‌ها در دهه‌های ۶۰ و ۷۰، ممنوعیت این مواد تحقیقات را محدود کرد. اخیراً، استفاده از روانگردان‌های کلاسیک، از جمله مسکالین، برای درمان اختلالات روانی مانند افسردگی و الکلیسم پیشنهاد شده است، هرچند مطالعات کلینیکی در مورد مسکالین محدود است (Agin-Liebes, Haas, Lancelotta, Uthaug, Ramaekers, & Davis, 2021; Carstairs & Cantrell, 2010; Dinis-Oliveira, Pereira, & Da Silva, 2019).

مسکالین، یک آلکالوئید طبیعی با تاریخچه ۵۷۰۰ ساله در مراسم مذهبی و درمانی، عمدتاً در کاکتوس‌ها یافت می‌شود. با وجود وضعیت غیرقانونی آن، استفاده از مسکالین برای مراسم مذهبی در کلیسای بومیان آمریکا از سال ۱۹۲۰ قانونی شده است. آرتور هفتربر در سال ۱۸۹۶ اولین کسی بود که مسکالین را ایزوله کرد و ارنست اسپات در سال ۱۹۱۹ آن را سنتز کرد. (Bruhn, De Smet, El-Seedi, & Beck, 2002).

مسکالین به طور طبیعی عمدتاً در کاکتوس‌ها، به ویژه در کاکتوس پیوت (*Lophophora williamsii*) در آمریکای شمالی و کاکتوس سان پدرو (*Echinopsis pachanoi*) در آمریکای جنوبی یافت می‌شود. همچنین در نیشکر پرویی (*Echinopsis peruviana*)، نیشکر بولیوی (*Echinopsis lageniformis*) و *Pereskia aculeata* نیز وجود دارد. علاوه بر این، مسکالین در برخی اعضای خانواده Fabaceae، مانند *Acacia berlandieri* نیز یافت می‌شود (Hulsey, Kalam, Daley, Fowler, & Terry, 2011; Klein, Kalam, Trout, Fowler, & Terry, 2015).

مسکالین تنها آلکالوئید موجود در کاکتوس پیوت نیست و چندین آلکالوئید دیگر نیز در این کاکتوس یافت می‌شوند که ممکن است اثرات مسکالین را تقویت کنند، هرچند برخی از آن‌ها به تنهایی فعالیت دارویی ندارند. از جمله این آلکالوئیدها می‌توان به پلهوتین اشاره کرد که خواص آرام‌بخش و خواب‌آور دارد (Bruhn et al., 2002).

هوردنین، آلکالوئید دیگری در پیوت، خواص آنتی‌بیوتیکی دارد و به عنوان نشانگر در علم سم‌شناسی برای شناسایی مصرف آبجو استفاده می‌شود. این ترکیب در جو نیز یافت می‌شود و می‌تواند پس از مصرف آبجو در خون و ادرار قابل شناسایی باشد (Jay, 2019). آنالینین^۱ نیز یک آلکالوئید محرک است که در پیوت موجود است (Ghansah, Kopsombut, Maleque, & Brossi, 1993; Watkins, Li, Yeaman, & Facchini, 2023).

۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت یک مطالعه مروری انجام شده و به بررسی مقالات معتبر به زبان انگلیسی و منابع الکترونیکی مختلف پرداخته است. برای این منظور، از پایگاه‌های داده‌ای نظیر PubMed، Scopus، Web of Science و موتور جستجوی Google Scholar استفاده شده است. در این مطالعه، از کلیدواژه‌های مرتبط شامل «مسکالین»، «کاکتوس» و «تأثیرات متابولیکی

¹ Anhalinine



و بالینی» بهره‌گیری گردید تا اطلاعات جامعی جمع‌آوری شود. فرآیند جستجو به گونه‌ای طراحی شد که مقالات منتشر شده بین سال‌های ۲۰۲۰ تا ۲۰۲۵ را شامل شود

۳. نتایج

۳-۱. تحقیقات پیش بالینی

مسکالین به اندازه دیگر درمان‌ها به‌طور جامع مطالعه نشده و داده‌های موجود عمدتاً از آزمایش‌های کوچک به دست آمده‌اند. این ترکیب به‌عنوان آگونیست گیرنده‌های سروتونین 5-HT_{2A} و 5-HT_{2B} شناخته می‌شود و تأثیر بیشتری بر گیرنده 5-HT_{2A} دارد. اثرات توهم‌زای آن از طریق آگونیسم این گیرنده ایجاد می‌شود (Halberstadt, Powell, & Geyer, 2013). در آزمایش‌هایی بر روی موش‌ها، مسکالین نورون‌های آدرنژیک لُکوس گُروئوس را وابسته به دوز سرکوب کرد و واکنش‌پذیری آن‌ها را افزایش داد. مطالعه‌ای بر روی گربه‌ها نشان داد که اثرات مسکالین همچنین از طریق سیگنال‌دهی گیرنده‌های دوپامین واسطه‌گری می‌شود و پیش‌درمانی با آنتاگونیست‌های سروتونین یا دوپامین اثرات آن را تقریباً مسدود کرد. بعد از تجویز مسکالین در گربه‌ها، حرکات غیرطبیعی و پاسخ‌های شبیه توهم مشاهده شد (Olejníková-Ladislavová et al., 2024).

۳-۱-۱. فارموکولوژی

مسکالین پس از تزریق وریدی در گربه‌ها نیمه‌عمر ۲ ساعته دارد و عمدتاً در هیپوکامپ، آمیگدال و قشر سینگولیت تجمع می‌یابد. در انسان‌ها، تنها یک مورد مرگ ناشی از مسکالین گزارش شده است. این ترکیب به سرعت جذب و عمدتاً به کبد و کلیه‌ها توزیع می‌شود و ۲۸ تا ۴۶ درصد آن به صورت تغییر نیافته در ادرار دفع می‌شود. مسکالین از طریق دئامیناسیون اکسیداتیو به متابولیت‌های مختلف تبدیل می‌شود. در دوزهای کم، سطح متابولیت سروتونین ۵-هیدروکسی‌ایندول‌استیک اسید را کاهش و در دوزهای بالا افزایش می‌دهد. همچنین، در مطالعات سلولی، مسکالین به سلول‌ها آسیبی وارد نکرده و احتمالاً برای مصرف انسانی ایمن است، هرچند نیاز به ارزیابی‌های بیشتری دارد (Olejníková-Ladislavová et al., 2024).

۳-۲. تحقیقات بالینی

۳-۲-۱. رفتار حیوانات

تحقیقات در مدل‌های جانوری، به‌ویژه با استفاده از ماهی‌های زبرا، نشان داده‌اند که مسکالین اثرات مشابه داروهای ضد اضطراب را دارد. دوزهای مختلف (۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر) باعث افزایش فعالیت حرکتی وابسته به دوز در این ماهی‌ها شدند. در موش‌ها، دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم منجر به اوج فعالیت حرکتی یک ساعت پس از مصرف شد. در دوزهای پایین‌تر، حرکات کاهش و در دوزهای بالاتر (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) افزایش حرکات مشاهده شد. همچنین، مسکالین باعث ایجاد پاسخ لرزش سر وابسته به دوز مسکالین می‌شود که به گیرنده 5-HT_{2A} مرتبط است. به‌طور کلی، اثرات مسکالین در موش‌ها نشان‌دهنده رفتارهای دوز-وابسته معکوس است (Halberstadt et al., 2013).

۳-۲-۲. سینتیک



مسکالین دارای نیمه عمر ۶ ساعت در انسان هاست. حدود ۸۱/۴ درصد از دوز خوراکی آن به صورت تغییر نیافته در ادرار دفع می شود و ۱۳/۲ درصد به شکل TMPA. تجویز خوراکی ممکن است دآمیناسیون بیشتری از طریق کبد نسبت به تزریق وریدی داشته باشد. همچنین، تحمل متقابل نسبت به مسکالین با دیگر روانگردان های سروتونرژیک مانند LSD و سیلوسیبین طی چند روز پس از مصرف توسعه می یابد و این اثرات پس از ۳ تا ۴ روز عدم مصرف بازمی گردند (Bruhn et al., 2002; Cassels & Sáez-Briones, 2018; Costa & Gołembiowska, 2022; Vejmola et al., 2021).

۳-۲-۳. اثرات فیزیولوژیکی و روان شناختی

اثرهای فیزیولوژیکی رایج مسکالین شامل گشاد شدن مردمک ها، افزایش دمای بدن، ضربان قلب و فشار خون است که برای چندین ساعت باقی می ماند. دوزهای بالای ۲۰۰ میلی گرم ممکن است باعث حالت تهوع و استفراغ شوند. مسکالین سینستریا را تحریک می کند، به طوری که افراد ممکن است رنگ ها را با طعم های خاصی مرتبط کنند و درک رنگ تحت تأثیر قرار می گیرد. توهمات بصری خاصی از جمله "ژئومترزاسیون" در دوزهای بالا مشاهده می شود و درک زمان به شدت تغییر می کند (Barber, 2017; Jay, 2019). احساس خوشحالی و سرخوشی پس از مصرف شایع است، اما اضطراب و وحشت نیز ممکن است رخ دهند. در موارد شدید، از مایعات وریدی و داروهای دیگر برای کاهش علائم استفاده می شود. اثرات روان زایی مسکالین، محققان را به بررسی کاربرد آن در شبیه سازی تجربی اسکیزوفرنی سوق داده است (Ádori et al., 2011; Agin- Liebes et al., 2021).

۳-۲-۴. علوم اعصاب مدرن

مطالعات پیش بالینی نشان دادند که مصرف ۵۰۰ میلی گرم مسکالین سولفات در مردان بالغ سالم باعث افزایش فعالیت نورونی در نیم کره راست و ایجاد حالت روان پریشی حاد می شود. این اثرات با استفاده از SPECT بررسی و عدم تعادل های نیم کره راست و کاهش عملکرد در میدان دید چپ مشاهده گردید (Carstairs et al., 2010; Vamvakopoulou, Narine, Campbell, Dyck, & Nutt, 2023).

۳-۲-۵. مطالعات درمانی

اگرچه مطالعات اولیه نشان ندادند که مسکالین پتانسیل درمانی برای اسکیزوفرنی دارد، آلبو و اندرسون در سال ۱۹۷۴ استفاده بالقوه آن را در درمان الکلیسم بررسی کردند (Albaugh & Anderson, 1974). این مطالعه بر روی افراد بومی آمریکا با مصرف حدود ۵۰۰ میلی گرم مسکالین انجام شد و شرکت کنندگان تجربه خود را نقطه عطفی در غلبه بر الکلیسم دانستند. هالپرن و همکاران همچنین سه گروه از ناواهو^۲ را مقایسه کردند و دریافتند که کاربران پیوت از سلامت روانی بهتری نسبت به الکلی های بهبود یافته برخوردارند. نظرسنجی بین المللی در سال ۲۰۲۱ نشان داد که ۸۶ درصد از افراد مبتلا به افسردگی و ۸۰

^۱ تبدیل به اشکال هندسی.

^۲ ناواهو (Navajo): بزرگترین قبیله بومی آمریکایی در ایالات متحده هستند.



درصد از افراد مبتلا به اضطراب بهبودی را تجربه کردند (Halpem, Sherwood, Hudson, Yurgelun-Todd, & Pope Jr, 2005). با این حال، به دلیل عدم استفاده از روش‌های کنترل شده، نیاز به مطالعات مدرن بیشتری برای تأیید نتایج وجود دارد (Bruhn et al., 2002; Carstairs et al., 2010; Cassels et al., 2018).

۳-۳. ترکیبات دارویی مشابه مسکالین

ترکیبات دارویی مشابه با مسکالین که در پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند، شامل چندین ماده مهم هستند. سیلوسایبین، یک ترکیب فعال در قارچ‌های روانگردان، به عنوان درمانی برای افسردگی و اضطراب مورد بررسی قرار گرفته است. ال‌اس‌دی (LSD)، که یک روانگردان قوی است، در برخی از مطالعات بالینی برای درمان اختلالات روانی و اضطراب در بیماران مبتلا به سرطان استفاده می‌شود. همچنین، دی‌متیل‌تریپتامین (DMT)، یک ترکیب طبیعی که در برخی سنت‌های فرهنگی و مذهبی به کار می‌رود، در حال حاضر در تحقیقات بالینی برای درمان اختلالات روانی مورد توجه قرار گرفته است (Colace, 2010; Passie & Benzenhöfer, 2018). آياهواسکا، که نوشیدنی سنتی حاوی DMT است، برای درمان‌های روحی و روانی در جوامع بومی استفاده می‌شود و در مطالعات علمی به تازگی مورد بررسی قرار گرفته است. نهایتاً، MDMA (اکستازی)، اگرچه بیشتر به عنوان یک ماده تفریحی شناخته می‌شود، اما تحقیقات نشان می‌دهند که این ترکیب نیز پتانسیل بالایی در درمان PTSD و اضطراب اجتماعی دارد. این ترکیبات به دلیل اثرات مشابه بر سیستم سروتونرژیک و پتانسیل‌های درمانی‌شان در حال بررسی و تحقیق هستند (Agin-Liebes et al., 2021; Bruhn et al., 2002).

۳-۳-۱. عوارض جانبی داروی‌های مشابه مسکالین

ترکیبات دارویی مشابه با مسکالین عوارض جانبی مختلفی دارند که بسته به نوع ترکیب و دوز مصرفی متفاوت هستند. برای مثال، سیلوسایبین ممکن است باعث تهوع و استفراغ، اضطراب و افکار منفی، توهمات شدید و سردرد شود. ال‌اس‌دی (LSD) می‌تواند تغییرات شدید در ادراک حس‌ها (سینستزیا)، اضطراب و وحشت، بی‌خوابی و توهمات را به همراه داشته باشد (Cassels et al., 2018; Colace, 2010). دی‌متیل‌تریپتامین (DMT) نیز ممکن است باعث حالت تهوع، توهمات بصری و شنوایی، احساسات شدید و اختلال در درک زمان و فضا شود. آياهواسکا^۱ معمولاً با تهوع و استفراغ شدید، تغییرات خلق و خو و توهمات همراه است. همچنین، MDMA (اکستازی) می‌تواند افزایش دما، عرق‌ریزی، اضطراب و افسردگی پس از مصرف، اختلالات خواب و کاهش اشتها را به همراه داشته باشد. این عوارض جانبی ممکن است در برخی افراد شدیدتر باشند و با عواملی مانند دوز مصرفی، وضعیت سلامت فرد و محیط مصرف متفاوت باشند. لذا، استفاده از این ترکیبات باید تحت نظر متخصصان بهداشت و درمان انجام شود (Bruhn et al., 2002; Dinis-Oliveira et al., 2019).

^۱ آياهواسکا (Ayahuasca): یک نوشیدنی سنتی که از ترکیب چند گیاه خاص تهیه می‌شود و در مراسم مذهبی و آیینی برخی از قبایل بومی آمریکای جنوبی استفاده می‌شود. این نوشیدنی به خاطر خواص روان‌گردانش شناخته شده و حاوی ماده‌ای به نام دی‌متیل‌تریپتامین (DMT) هست که می‌تونه باعث توهمات بصری و شنیداری، تغییر در درک زمان و فضا و تجربه‌های شدید عاطفی بشود.



۳-۴. گیاهان حاوی مسکالین

۱-۳-۴. کاکتوس پیوت

کاکتوس پیوت (*Psychoactive cactus*) به دلیل محتوای بالای مسکالین، یک ترکیب روانگردان، شناخته شده است و به ویژه در فرهنگ‌های بومی آمریکایی برای اهداف مذهبی و درمانی استفاده می‌شود (Rudgley, 2012). این کاکتوس حاوی مسکالین و آلکالوئیدهای دیگری مانند TMPA و نتوسکولین است که می‌تواند اثرات توهم‌زا و تغییر در حالت آگاهی را ایجاد کنند (Hulsey et al., 2011; Klein et al., 2015; Watkins et al., 2023). مصرف پیوت معمولاً شامل توهومات بصری، تغییرات در درک زمان و فضا و تجربه‌های معنوی عمیق است. همچنین، ترکیبات فنولی و قندهایی مانند ساکارز و گلوکز در پیوت وجود دارند که ممکن است به خواص درمانی آن کمک کنند. به طور کلی، پیوت جزء مهمی از فرهنگ بومی آمریکایی است و به عنوان ابزاری برای درمان و رشد شخصی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نیاز به بررسی‌های بیشتر برای درک کامل خواص دارویی و روان‌شناختی این کاکتوس وجود دارد (Saroya & Singh, 2020).

۲-۳-۴. کاکتوس سان پدرو

کاکتوس سان پدرو (*Echinopsis pachanoi*) یکی از گونه‌های معروف و روانگردان است که به طور سنتی در فرهنگ‌های بومی آمریکای جنوبی، به ویژه در پرو و اکوادور، برای اهداف مذهبی و درمانی استفاده می‌شود. این کاکتوس حاوی مسکالین است که مسئول اثرات توهم‌زای آن می‌باشد و معمولاً به صورت خوراکی در مراسم‌های آیینی مصرف می‌شود. اثرات آن شامل توهومات بصری، تغییرات در درک زمان و فضا، و تجربه‌های معنوی عمیق است و به عنوان درمانی برای مشکلات روانی مانند افسردگی و اضطراب شناخته می‌شود. کاکتوس سان پدرو همچنین به خاطر زیبایی ظاهری‌اش، با گل‌های بزرگ و معطر سفید یا کرم رنگ، در باغ‌ها به عنوان گیاه زینتی محبوب است. با ساقه‌های بلند و جذابیت بصری، این کاکتوس نه تنها به عنوان یک داروی سنتی، بلکه به عنوان یک جزء مهم از فرهنگ بومی نیز شناخته می‌شود. تکثیر آن به سادگی از طریق بذرها و قلمه‌ها انجام می‌شود و ارتباط آن با مراسم شمن‌گری در کوه‌های آند، آن را به طور خاص منحصر به فرد می‌سازد (Klein et al., 2015; Saroya et al., 2020).

۳-۳-۴. نیشکر پرویی

نیشکر پرویی (*Echinopsis peruviana*) یکی از گونه‌های کاکتوس است که به خاطر خواص روانگردان و درمانی‌اش شناخته می‌شود و بومی مناطق کوهستانی پرو و دیگر نقاط آمریکای جنوبی است. این کاکتوس حاوی مسکالین و دیگر آلکالوئیدهاست که می‌تواند اثرات توهم‌زا و تغییر در آگاهی ایجاد کنند و معمولاً در مراسم‌های مذهبی به عنوان ابزاری برای دستیابی به تجارب معنوی استفاده می‌شود. نیشکر پرویی همچنین به عنوان یک گیاه زینتی با گل‌های زیبا و رنگارنگ در باغ‌ها محبوب است. به طور کلی، این کاکتوس نه تنها به عنوان یک گیاه روانگردان و دارویی، بلکه به عنوان یک جزء مهم از فرهنگ بومی نیز شناخته می‌شود (Longo & Musah, 2020).



۴-۳-۴. نیشکر بولیوی

نیشکر بولیوی (*Echinopsis lageniformis*)، که به نام سنسو یا کاکتوس بولیوی نیز شناخته می‌شود، یک گونه روانگردان بومی مناطق کوهستانی بولیوی و دیگر نقاط آمریکای جنوبی است. این کاکتوس به‌خاطر خواص توهم‌زای خود و استفاده‌های فرهنگی در سنت‌های بومی مشهور است و دارای ساقه‌های سبز و گاهی آبی‌سبز است که در شرایط خشک و ارتفاعات بالا رشد می‌کند. نیشکر بولیوی حاوی مسکالین و دیگر آلکالوئیدهای روانگردان است که می‌توانند تغییر در آگاهی ایجاد کنند و عمدتاً در مراسم مذهبی برای دستیابی به تجارب معنوی استفاده می‌شوند. گل‌های بزرگ و زیبا این کاکتوس عطر خوشی را منتشر می‌کنند که حشرات گرده‌افشان را جذب می‌کند و به زیبایی آن می‌افزاید (Longo et al., 2020).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

مسکالین به‌عنوان یک آگونیست گیرنده HT2A5 عمل می‌کند و بر توهمات تأثیر می‌گذارد، در حالی که همچنین بر گیرنده‌های آدرنرژیک و دوپامینرژیک فعالیت دارد که پروفایل رفتاری متمایز آن را توضیح می‌دهد. این ترکیب می‌تواند حالت تغییر یافته‌ای از آگاهی را القا کند که مشابه نشانه‌های مشاهده‌شده در اسکیزوفرنی است و نیمه‌عمر طولانی‌تری نسبت به سایر روانگردان‌ها دارد. بهبودهای خودگزارش‌شده در سلامت روان و توانایی غلبه بر الکلیسم در محیط‌های طبیعی یا مذهبی، پتانسیل درمانی مسکالین را نشان می‌دهد. با این حال، نیاز به تحقیقات بیشتری برای تعریف استفاده بالینی آن وجود دارد. برای استخراج مسکالین از برخی از کاکتوس همچون کاکتوس پیوت و سان‌پدرو و نیشکر پرویی و بولیویای استفاده کرد. مسکالین، علاوه بر کاربردهای سنتی و مذهبی، پتانسیل بالایی در درمان بیماری‌های عصبی و روان‌پزشکی دارد. بررسی‌های علمی نشان داده‌اند که این ترکیب با تأثیر بر گیرنده‌های سروتونین می‌تواند تجربه‌های روان‌شناختی عمیقی ایجاد کند که در برخی موارد، به بهبود شرایط روحی و افزایش انعطاف‌پذیری شناختی منجر می‌شود. مطالعات اخیر در مورد تأثیر داروهای روان‌گردان در درمان بیماری‌هایی مانند افسردگی، اضطراب و PTSD، اهمیت بررسی بیشتر ترکیباتی مانند مسکالین را برجسته کرده‌اند. با این حال، چالش‌های متعددی در مسیر استفاده علمی و دارویی از مسکالین وجود دارد. یکی از مهم‌ترین چالش‌ها، محدودیت‌های قانونی و اخلاقی است که بسیاری از کشورها بر تحقیق و مصرف این ترکیب اعمال کرده‌اند. این محدودیت‌ها نه تنها دسترسی به کاکتوس‌های حاوی مسکالین را دشوار کرده‌اند، بلکه مانع از انجام مطالعات گسترده و کنترل‌شده برای بررسی اثرات دارویی آن شده‌اند. برداشت بیش‌ازحد کاکتوس‌های حاوی مسکالین از زیستگاه‌های طبیعی، به‌ویژه *Lophophora williamsii* (پیوته)، منجر به کاهش جمعیت این گیاه و حتی خطر انقراض آن در برخی مناطق شده است. این مسئله اهمیت توسعه‌ی روش‌های پایدار برای کشت و استخراج مسکالین را دوچندان می‌کند.

منابع

Ádori, C., Andó, R. D., Balázs, T., Solti, C., Vas, S., Palkovits, M., . . . Bagdy, G. (2011). Low ambient temperature reveals distinct mechanisms for MDMA-induced serotonergic toxicity and astroglial Hsp27 heat shock response in rat brain. *Neurochemistry international*, 59(5): 695-705.



- Agin-Liebes, G., Haas, T. F., Lancelotta, R., Uthaug, M. V., Ramaekers, J. G., & Davis, A. K. (2021). Naturalistic use of mescaline is associated with self-reported psychiatric improvements and enduring positive life changes. *ACS Pharmacology & Translational Science*, 4(2): 543-552.
- Albaugh, B. J., & Anderson, P. O. (1974). Peyote in the treatment of alcoholism among American Indians. *American journal of Psychiatry*, 131(11): 1247-1250.
- Barber, T. X. (2017). LSD, Mescaline, Psilocybin, and other Psychedelic Drugs. In *LSD, Marijuana, Yoga, and Hypnosis* (pp. 3-76): Routledge.
- Bruhn, J. G., De Smet, P. A., El-Seedi, H. R., & Beck, O. (2002). Mescaline use for 5700 years. *The Lancet*, 359(9320): 1866.
- Carstairs, S. D., & Cantrell, F. L. (2010). Peyote and mescaline exposures: a 12-year review of a statewide poison center database. *Clinical toxicology*, 48(4): 350-353.
- Cassels, B. K., & Sáez-Briones, P. (2018). Dark classics in chemical neuroscience: mescaline. *ACS chemical neuroscience*, 9(10): 2448-2458.
- Colace, C. (2010). Drug dreams in mescaline and LSD addiction. *American Journal on Addictions*, 19(2): 192.
- Costa, G., & Gołembiowska, K. (2022). Neurotoxicity of MDMA: main effects and mechanisms. *Experimental neurology*, 347, 113894.
- Dinis-Oliveira, R. J., Pereira, C. L., & Da Silva, D. D. (2019). Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of peyote and mescaline: clinical and forensic repercussions. *Current molecular pharmacology*, 12(3): 184-194.
- Ghansah, E., Kopsombut, P., Maleque, M., & Brossi, A. (1993). Effects of mescaline and some of its analogs on cholinergic neuromuscular transmission. *Neuropharmacology*, 32(2): 169-174.
- Halberstadt, A. L., Powell, S. B., & Geyer, M. A. (2013). Role of the 5-HT_{2A} receptor in the locomotor hyperactivity produced by phenylalkylamine hallucinogens in mice. *Neuropharmacology*, 70, 218-227.
- Halpern, J. H., Sherwood, A. R., Hudson, J. I., Yurgelun-Todd, D., & Pope Jr, H. G. (2005). Psychological and cognitive effects of long-term peyote use among Native Americans. *Biological psychiatry*, 58(8): 624-631.
- Hulsey, D., Kalam, M. A., Daley, P., Fowler, N., & Terry, M. (2011). Clinal geographic variation in mescaline concentration among Texas populations of *Lophophora williamsii* (Cactaceae). *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 677-683.
- Jay, M. (2019). *Mescaline: a global history of the first psychedelic*: Yale university press.
- Klein, M. T., Kalam, M., Trout, K., Fowler, N., & Terry, M. (2015). Mescaline concentrations in three principal tissues of *Lophophora williamsii* (Cactaceae): implications for sustainable harvesting practices. *Haseltonia*, 2015(20): 34-42.
- Longo, C. M., & Musah, R. A. (2020). An efficient ambient ionization mass spectrometric approach to detection and quantification of the mescaline content of commonly abused cacti from the *Echinopsis* genus. *Journal of forensic sciences*, 65(1): 61-66.
- Olejníková-Ladislavová, L., Fujáková-Lipski, M., Šíchová, K., Danda, H., Syrová, K., Horáček, J., & Páleníček, T. (2024). Mescaline-induced behavioral alterations are mediated by 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 173903.
- Passie, T., & Benzenhöfer, U. (2018). MDA, MDMA, and other “mescaline-like” substances in the US military's search for a truth drug (1940s to 1960s). *Drug testing and analysis*, 10(1): 72-80.
- Rudgley, R. (2012). Psychoactive plants. In *The cultural history of plants* (pp. 194-207): Routledge.
- Saroya, A. S., & Singh, J. (2020). *Psychoactive Medicinal Plants and Fungal Neurotoxins*: Springer.
- Vamvakopoulou, I. A., Narine, K. A., Campbell, I., Dyck, J. R., & Nutt, D. J. (2023). Mescaline: The forgotten psychedelic. *Neuropharmacology*, 222, 109294.
- Vejmola, Č., Tylš, F., Piorecká, V., Koudelka, V., Kadeřábek, L., Novák, T., & Páleníček, T. (2021). Psilocin, LSD, mescaline, and DOB all induce broadband desynchronization of EEG and disconnection in rats with robust translational validity. *Translational Psychiatry*, 11(1): 506.
- Watkins, J. L., Li, Q., Yeaman, S., & Facchini, P. J. (2023). Elucidation of the mescaline biosynthetic pathway in peyote (*Lophophora williamsii*). *The Plant Journal*, 116(3): 635-649.

ازدیاد قلمه ریشه گیاه دارویی انار شیطان

فاطمه دارابیپور^{۱*}، ساسان محسن زاده^۱

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، شیراز (Darabpour1994@gmail.com)

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر هورمون IBA و برخی عوامل دیگر بر ریشه‌زایی قلمه‌های ریشه گیاه دارویی انار شیطان انجام شد. هدف احیای و ازدیاد گیاه دارویی در حال انقراض انار شیطان می‌باشد زیرا این گونه در ایران تنها به طریق پاجوش تکثیر می‌یابد. نمونه‌ها از شهرستان فیروزآباد استان فارس و شهرستان اندیمشک استان خوزستان تهیه و با دو روش کاشت افقی و عمودی مورد آزمایش قرار گرفتند. قلمه‌ها با قطر ۱ تا ۵ سانتی‌متر و طول ۵ تا ۳۰ سانتی‌متر، در گلدان‌های حاوی مخلوط پرلیت و کوکوپیت کشت شدند. هورمون IBA در غلظت‌های پی‌پی‌ام ۷۰۰، پی‌پی‌ام ۱۴۰۰ و پی‌پی‌ام ۲۱۰۰ استفاده گردید. نتایج نشان داد که غلظت پی‌پی‌ام ۲۱۰۰ IBA، بیشترین تأثیر را در ریشه‌زایی داشت، به‌ویژه در قلمه‌های کاشته‌شده به روش افقی. همچنین، قطر قلمه تأثیر چشمگیری بر نتایج داشت؛ به‌طوری‌که قلمه‌های با قطر بیشتر، ریشه‌زایی و تولید کالوس بهتری نشان دادند. علاوه بر این، زخم کردن قلمه‌ها نیز در تحریک تولید کالوس، به‌ویژه در روش کاشت افقی، مؤثر بود. این نتایج نشان می‌دهد که ترکیب مناسب هورمون، روش کاشت، قطر قلمه، و زخم کردن سطح قلمه می‌تواند به بهبود تکثیر این گیاه ارزشمند دارویی کمک کند.

واژگان کلیدی: انار شیطان، قلمه ریشه، کاشت عمودی، کاشت افقی، هورمون ریشه‌زا



۱. مقدمه

گیاه *Tecomella undulata*، که به عنوان انار شیطان نیز شناخته می شود، یک درخت بومی و اقتصادی از مناطق خشک و بیابانی است که در هند و پاکستان به طور طبیعی رشد می کند و در ایران نیز در جنوب این کشور یافت می شود. این گیاه به دلیل مقاومت بالای خود در برابر خشکی و شوری، به عنوان یک گونه مقاوم در برابر شرایط سخت محیطی شناخته شده است (Rasool et al., 2023). علاوه بر ویژگی های زیست محیطی، این گیاه خواص دارویی بسیاری نیز دارد که از آن به عنوان یک منبع طبیعی برای درمان بیماری هایی مانند سرطان، مشکلات گوارشی و التهابات استفاده می شود (Kalia et al., 2014).

یکی از ویژگی های برجسته گیاه انار شیطان، ترکیبات فعال زیستی موجود در این گیاه است. این گیاه به دلیل دارا بودن انواع ترکیبات بیواکتیو نظیر لاپاکول، اسید اولئانولیک، اسید اُرسولیک و اسید بتولینیک شناخته می شود که خواص دارویی متعددی به آن بخشیده است. این ترکیبات علاوه بر خواص ضد التهابی و ضد باکتریایی، توانایی درمان بیماری های مختلف را دارند و باعث شده اند تا گیاه انار شیطان در طب سنتی و داروسازی مورد توجه ویژه قرار گیرد.

از جمله کاربردهای دارویی این گیاه می توان به درمان بیماری هایی چون سرطان، ایدز، یرقان، مشکلات گوارشی، اختلالات کبدی، میگرن، التهابات کبدی و بسیاری دیگر از بیماری های داخلی و خارجی اشاره کرد. همچنین، این گیاه در درمان مشکلات مربوط به مجاری ادراری، بیماری های زنان، کم خونی و تسکین دردهای مزمن از جمله دردهای مفصلی و عضلانی کاربرد دارد (Kalia et al., 2014). به ویژه، استفاده از عصاره های این گیاه برای تقویت سیستم ایمنی بدن، درمان التهاب ها، کاهش درد و بهبود گردش خون رایج است.

چوب این گیاه نیز به دلیل خواص مکانیکی قوی اش، علاوه بر کاربردهای دارویی، در صنایع مختلف مانند ساخت مبلمان و لوازم چوبی استفاده می شود. ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی موجود در گیاه انار شیطان موجب شده است که به عنوان یک منبع طبیعی با پتانسیل درمانی در نظر گرفته شود. از این رو، این گیاه در تحقیقاتی که بر روی گیاهان دارویی و درمان های طبیعی انجام می شود، جایگاه ویژه ای دارد و بررسی خواص دارویی آن به طور مداوم در حال گسترش است (Jeyaprabakaran and Rajendran, 2020).

با این حال، به دلیل تهدیدهای زیست محیطی مانند تغییرات اقلیمی، تخریب زیستگاه ها و قطع غیرمجاز درختان، جمعیت این گیاه در طبیعت به شدت کاهش یافته است (صادقی و همکاران، ۱۴۰۱). این گونه که به صورت لکه ای در طبیعت می روید، به دلیل پراکنش محدود خود، در معرض خطر انقراض بیشتری نسبت به گونه های با پراکنش وسیع تر قرار دارد. (پالاش و همکاران، ۱۳۹۲). از این رو، حفاظت از این گونه و تلاش برای تکثیر آن از اهمیت ویژه ای برخوردار است. یکی از روش های موثر برای تکثیر این گیاه، استفاده از تکنیک های کشت اندام به ویژه قلمه زنی است که می تواند به احیای جمعیت این گیاه در شرایط مختلف کمک کند.



۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. منطقه مورد مطالعه

این تحقیق در دو شهرستان اندیمشک از استان خوزستان و فیروزآباد از استان فارس انجام شد. شهرستان اندیمشک دارای آب و هوای گرم و خشک با تابستان‌های طولانی و زمستان‌های ملایم است، در حالی که فیروزآباد در استان فارس دارای آب و هوای معتدل و متمایل به گرم می‌باشد. نمونه‌ها از درختان گیاه *Tecomella undulata* در این مناطق جمع‌آوری شد. شرایط اقلیمی این دو منطقه می‌تواند تأثیرات متفاوتی بر رشد و ریشه‌زنی گیاهان داشته باشد که در این تحقیق بررسی گردید.

۲-۲. روش تحقیق

آزمایش کامل تصادفی در دو نوبت از دی تا اردیبهشت ۱۴۰۳ در دانشکده علوم شیراز انجام شد. ماده مورد استفاده در این تحقیق شامل قلمه‌های ریشه از درختان *Tecomella undulata* بود که از عمق ۳۰ سانتی‌متری خاک با استفاده از قیچی باغبانی جدا شدند. ریشه‌ها با قطر ۱.۰ تا ۵.۰ سانتی‌متر و طول ۵ تا ۳۰ سانتی‌متر انتخاب شدند و شامل قلمه‌های نرم نیمه‌چوبی و چوبی بودند. قلمه‌ها بلافاصله در یک گونی نخی مرطوب قرار گرفتند تا از خشکی آنها جلوگیری شود.

برای تکثیر گیاه از هورمون IBA (Indole-3-butyric acid) در چهار غلظت مختلف (پی‌پی‌ام ۷۰۰، پی‌پی‌ام ۱۴۰۰، پی‌پی‌ام ۲۱۰۰) استفاده شد. قلمه‌ها در ابتدا در محلول ۱۰ درصد اتانول حاوی هورمون IBA به مدت ۱۰ ثانیه قرار گرفتند و سپس در گلدان‌های حاوی مخلوط پرلیت و کوکوپیت به نسبت مساوی کاشته شدند. برای تیمارهای مختلف، گلدان‌ها پس از کاشت تحت پوشش کیسه پلاستیکی شفاف سوراخ‌دار قرار گرفتند تا رطوبت محیط حفظ شود. سپس، بعد از ۱۰ روز، مقدار مساوی هورمون IBA با غلظت پی‌پی‌ام ۱۰۰۰ به همه تیمارها به جز شاهد اضافه شد.

تمام گلدان‌ها به‌طور روزانه با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب آبیاری شدند و هر ماه یک‌بار با ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول قارچ‌کش (۱ گرم پودر قارچ‌کش در ۲ لیتر آب) تیمار شدند. دما در گلخانه به‌طور ثابت در ۲۶ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود و نور طبیعی به عنوان منبع نور مورد استفاده قرار گرفت. نتایج ریشه‌زنی پس از ۴ ماه اندازه‌گیری و ثبت شد.

تکثیر گیاه از شهرستان اندیمشک به‌صورت عمودی و از شهرستان فیروزآباد به‌صورت افقی انجام شد و نتایج به‌دست آمده برای هر دو نوع کاشت گزارش گردید. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای آماری SPSS مورد تجزیه واریانس قرار گرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد مقایسه گردید. نمودارها نیز با کمک برنامه Excel رسم شدند.

۳. نتایج

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از هورمون IBA تأثیر قابل توجهی بر فرآیند ریشه‌زایی قلمه‌های ریشه‌ای درخت انار شیطان دارد. در شهرستان فیروزآباد، بیشترین تعداد گلدان‌های ریشه‌دار در غلظت پی‌پی‌ام ۲۱۰۰ IBA مشاهده شد. همچنین، غلظت‌های پی‌پی‌ام ۷۰۰ و پی‌پی‌ام ۱۴۰۰ نیز منجر به تشکیل کالوس در تعدادی از گلدان‌ها شدند. در مقایسه با گروه شاهد

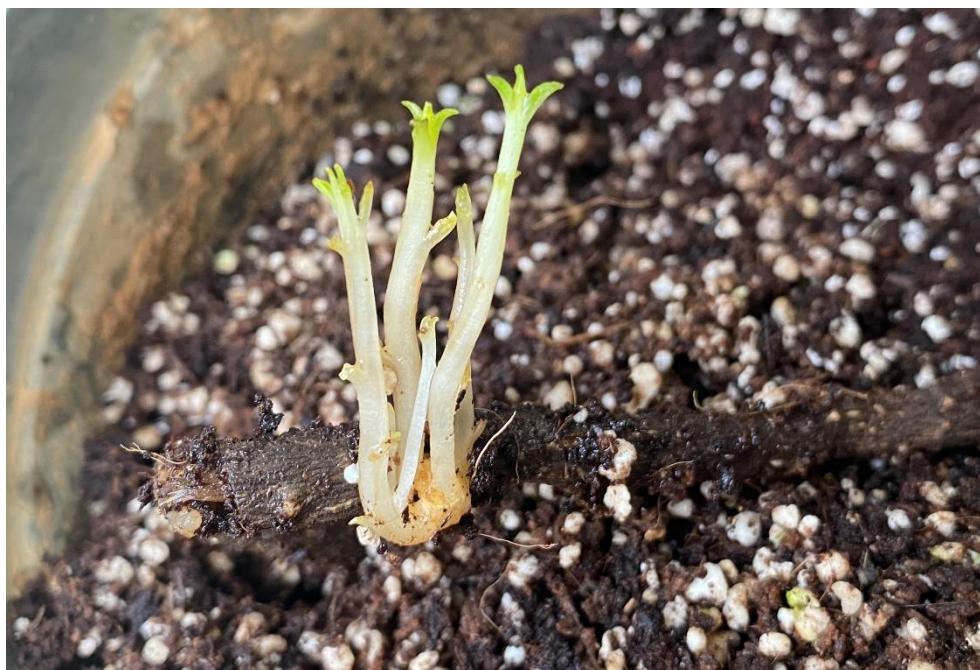
(بدون هورمون)، که تنها کالوس تشکیل شد، همان طور که در شکل ۱ مشاهده می شود استفاده از هورمون IBA به طور چشمگیری فرآیند ریشه زایی را تسریع کرد.



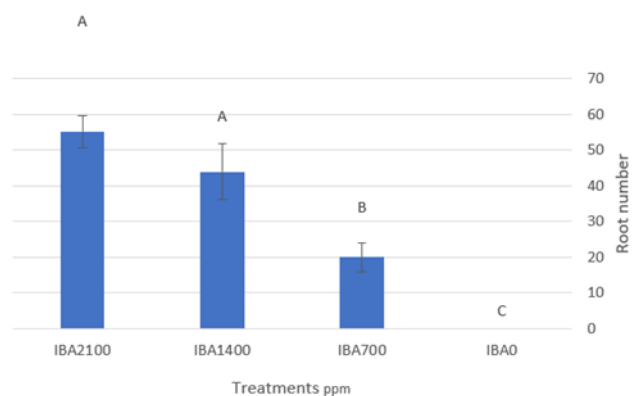
شکل ۱. رشد گیاه انار شیطان شهرستان فیروزآباد استان فارس از طریق قلمه ریشه به صورت افقی



شکل ۲. تشکیل کالوس در قلمه ریشه گیاه دارویی انار شیطان شهرستان فیروزآباد استان فارس از طریق قلمه ریشه به صورت افقی



شکل ۳. تشکیل ریشه انار شیطان شهرستان فیروزآباد استان فارس از طریق قلمه ریشه به صورت افقی



نمودار ۱. مقایسه میانگین تاثیر هورمون ایندول بوتیریک اسید بر تعداد ریشه ها در گیاه انار شیطان منطقه فیروزآباد. حروف مشابه نشان دهنده ی عدم وجود تفاوت معنی دار در سطح ۰.۰۵ است. میله های عمودی نشان دهنده ی خطای استاندارد میانگین است.

جدول ۱. گلدان های کالوس دار شده نمونه ی فیروزآباد

تیمارها	تعداد گلدان	کالوس دار
۰	۴	۱
پی پی ام ۷۰۰	۴	۲
پی پی ام ۱۴۰۰	۴	۴
پی پی ام ۲۱۰۰	۴	۳

در شهرستان اندیمشک، نتایج مشابهی به دست آمد، به طوری که غلظت‌های پی‌پی‌ام ۲۱۰۰ و پی‌پی‌ام ۱۴۰۰ از IBA بهترین نتایج را در ایجاد ریشه و کالوس به همراه داشتند که در شکل ۲ و ۳ نشان داده شد. قلمه‌های ریشه‌ای که به صورت عمودی کاشته شده بودند، نسبت به قلمه‌های افقی کمتر موفق به تولید ریشه شدند، که نشان‌دهنده اهمیت جهت‌گیری صحیح قلمه‌ها در فرآیند ریشه‌زایی است.



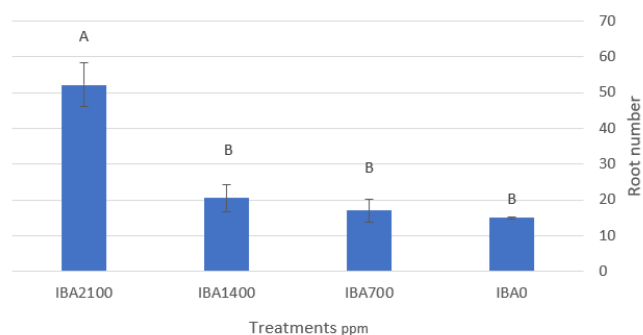
شکل ۴. تشکیل کالوس در قلمه ریشه گیاه انار شیطان شهرستان اندیمشک استان خوزستان صورت عمودی



شکل ۵. رشد گیاه انار شیطان شهرستان اندیمشک استان خوزستان از طریق قلمه ریشه به صورت عمودی



شکل ۶. رشد ریشه گیاه انار شیطان شهرستان اندیمشک استان خوزستان به صورت عمودی



نمودار ۲. مقایسه میانگین تاثیر هورمون ایندول بوتیریک اسید بر تعداد ریشه ها در گیاه انار شیطان منطقه فیروزآباد. حروف مشابه نشان دهنده ی عدم وجود تفاوت معنی دار در سطح ۰.۰۵ است. میله های عمودی نشان دهنده ی خطای استاندارد میانگین است.

جدول ۲.۲. گلدان های کالوس دار شده نمونه ی اندیمشک

تیمارها	تعداد گلدان	کالوس دار
۰	۴	۴
پی پی ام ۷۰۰	۴	۳
پی پی ام ۱۴۰۰	۴	۳
پی پی ام ۲۱۰۰	۴	۳

در شهرستان اندیمشک، نتایج مشابهی به دست آمد، به طوری که غلظت های پی پی ام ۲۱۰۰ و پی پی ام ۱۴۰۰ IBA بهترین نتایج را در ایجاد ریشه و کالوس به همراه داشتند. قلمه های ریشه ای که به صورت عمودی کاشته شده بودند، نسبت به قلمه های افقی کمتر موفق به تولید ریشه شدند، که نشان دهنده اهمیت جهت گیری صحیح قلمه ها در فرآیند ریشه زایی است.

۴. بحث و نتیجه گیری

مطالعات نشان می دهد که هورمون های اکسین، به ویژه IBA، تأثیرات مثبتی بر فرآیند ریشه زایی گیاهان دارند. در این تحقیق، استفاده از IBA در غلظت های بالاتر (پی پی ام ۲۱۰۰) باعث بهبود قابل توجه در تشکیل ریشه و کالوس شد. این یافته ها با نتایج سایر پژوهش ها در زمینه تکثیر گیاهان دارویی مشابه هم راستا است (Karami and Salehi, 2010; Kalia et al., 2014).

بررسی تکثیر گیاه دارویی انار شیطان با استفاده از تکنیک کشت اندام (قلمه زدن) نشان می دهد که قلمه زنی به عنوان یک روش مؤثر برای تکثیر این گیاه دارویی شناخته شده است. در این تحقیق، قلمه های چوبی که در فصل زمستان برداشت و با هورمون IBA تیمار شدند، بهترین نتایج ریشه زایی را ارائه دادند. در مقابل، قلمه های نرم هیچ گونه ریشه زایی نشان ندادند. بنابراین،



استفاده از قلمه‌های چوبی در فصل زمستان همراه با تیمار با هورمون‌های اکسینی مانند IBA، به‌عنوان یک روش موفق برای تکثیر درخت انار شیطان پیشنهاد می‌شود. (خالصی، ۱۳۹۶)

ریشه‌زایی گیاه انار شیطان از طریق قلمه‌های ریشه‌ای موفقیت زیادی دارد و تقریباً همه‌ی قلمه‌ها وارد ریشه‌زایی می‌شوند. به‌عنوان روشی مناسب برای تکثیر جایگزین قلمه‌های ساقه‌ای شود (شکرچیان، ۱۳۹۳).

همچنین، نتایج مقایسه‌ای بین روش‌های کاشت افقی و عمودی نشان داد که کاشت افقی نسبت به عمودی موفق‌تر بوده است. این امر می‌تواند به‌دلیل توزیع یکنواخت‌تر رطوبت و تغذیه در خاک و شرایط بهتر برای رشد ریشه‌ها باشد.

یکی از عواملی که در فرآیند ریشه‌زایی تأثیرگذار است، ضخامت قلمه‌ها می‌باشد. قلمه‌های چوبی و ضخیم‌تر، به‌ویژه از بخش‌های بالغ‌تر گیاهان، معمولاً نسبت به قلمه‌های نازک و سبز، موفق‌تر در ریشه‌زایی هستند. این مسئله به‌دلیل ساختار فیزیولوژیکی و متابولیکی متفاوت این قلمه‌هاست. قلمه‌های ضخیم‌تر معمولاً دارای ذخایر غذایی و هورمون‌های بیشتری هستند که در فرآیند ریشه‌زایی به‌کار می‌آید. این قلمه‌ها به‌دلیل داشتن بافت‌های سلولی مستحکم‌تر، قادر به مقابله با شرایط محیطی سخت‌تر بوده و رطوبت و مواد مغذی را به‌طور بهتری نگه‌داری می‌کنند. در مطالعه حاضر، قلمه‌های ریشه‌ای ضخیم‌تر و چوبی که از درختان بالغ برداشت شده بودند، نتایج بهتری در زمینه ریشه‌زایی نشان دادند. این قلمه‌ها به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر IBA، مانند پی‌پی‌ام ۲۱۰۰، موفق‌تر در تولید ریشه و کالوس بودند. این یافته‌ها با نتایج مطالعات قبلی هم‌خوانی دارد که نشان داده‌اند قلمه‌های چوبی، به‌ویژه در گیاهان دارویی و درختان با رشد کند، از توانایی بیشتری برای توسعه ریشه برخوردارند (Zhao et al., 2012).

همچنین، قلمه‌های ضخیم‌تر می‌توانند به‌عنوان منابع بهتری برای انتقال هورمون‌ها و مواد مغذی عمل کنند و در نتیجه فرآیند ریشه‌زایی سریع‌تر و کارآمدتر صورت می‌گیرد. در مقابل، قلمه‌های نازک‌تر و سبز، که بیشتر به برگ و ساقه‌های جوان تعلق دارند، ممکن است به‌دلیل نداشتن ذخایر کافی و حساسیت بالاتر به شرایط محیطی، ریشه‌زایی ضعیف‌تری داشته باشند (Hartmann et al., 2011).

نتیجه‌گیری این که قلمه‌های ضخیم‌تر و چوبی، با توجه به دارا بودن بافت‌های قوی‌تر و ذخایر بیشتر، می‌توانند در فرآیند ریشه‌زایی نسبت به قلمه‌های نازک‌تر برتری داشته باشند. این موضوع به‌ویژه در برنامه‌های تکثیر گیاهان دارویی مانند گیاه انار شیطان که نیاز به احیای جمعیت و تولید انبوه دارند، از اهمیت بالایی برخوردار است.

با توجه به نتایج این مطالعه، استفاده از هورمون IBA به‌ویژه در غلظت‌های پی‌پی‌ام ۲۱۰۰ می‌تواند به‌عنوان یک روش مؤثر برای تکثیر گیاه *Tecomella undulata* از طریق قلمه ریشه در شرایط گلخانه‌ای پیشنهاد شود. علاوه بر این، روش کاشت افقی نیز به‌عنوان یک روش کارآمد برای بهبود ریشه‌زایی معرفی می‌شود. این یافته‌ها می‌توانند به‌عنوان مبنای عملی برای تکثیر و احیای جمعیت‌های گیاهان دارویی در معرض خطر مانند انار شیطان در ایران و سایر مناطق خشک و بیابانی مورد استفاده قرار گیرند.



منابع

- پالاش، م.، روحی مقدم، ع.، احمدپور، ا. ۱۳۹۲. اهمیت زادآوری مصنوعی گونه‌های در خطر انقراض از جمله درخت انار شیطان در ایران. زیست‌شناسی گیاهی، ۱۰(۲): ۴۵-۶۰.
- خالصی، ع.ر.، ۱۳۹۶. بررسی تکثیر گیاه دارویی انار شیطان (*Tecomella undulata*) با استفاده از تکنیک کشت اندام (قلمه زدن). مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری، ۶(۳): ۱۴-۲۰.
- شکرچیان، ا. ۱۳۹۳. استقرار گونه انار شیطان به روش تکثیر غیرجنسی. دومین همایش سراسری کشاورزی و منابع طبیعی پایدار. صادقی، س. م.، سرطوی، ک.، مزارعی، ج.، جلیلی، و هادی. ۱۴۰۱. رویشگاه‌های انار شیطان (*Tecomella undulata* (Sam.) Seem در جنوب ایران و عوامل تهدید آنها. طبیعت ایران، ۷(۵): ۱۰۱-۱۱۵.
- Hartmann, H. T., and Kester, D. E. (1959). Plant propagation: principles and practices
- Jeyaprabakaran, G., and Rajendran, K. (2020). Medicinal trees from home gardens of urban areas in Madurai district of Tamil Nadu, Southern India. *Asian Journal of Ethnobiology*, 3(1).
- Kalia, R. K., Rai, M. K., Sharma, R., and Bhatt, R. K. (2014). Understanding *Tecomella undulata*: an endangered pharmaceutically important timber species of hot arid regions. *Genetic resources and crop evolution*, 61: 1397-1421.
- Srinivas, A. N., Suresh, D., Suvarna, D., Pathak, P., Giri, S., Suman, and Kumar, D. P. (2023). Unraveling the potential role of *Tecomella undulata* in experimental NASH. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4): 3244.
- Zhao, X., Zheng, H., Li, S., Yang, C., Jiang, J., & Liu, G. (2014). The rooting of poplar cuttings: a review. *New Forests*, 45: 21-34.

اثر آپیزنین بر بیان پروتئین $TNF-\alpha$ در بیضه موش های تیمار شده با کادمیوم

سیده فاطمه میررجبی^۱، فرشته میرمحمدرضایی^{۱*}، محمد کریمیان^۲

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران (fereshteh.mmrezaei@gmail.com)

^۲گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران (mdkarimian@gmail.com)

چکیده

مقدمه: سموم محیطی می توانند باعث بیماری های مختلفی از جمله ناباروری شوند. کادمیوم یکی از سمی ترین فلزات است که عملکرد بیولوژیکی مفید شناخته شده ای ندارد و یک خطر عمده برای سلامت عمومی، به ویژه در سمیت تولید مثلی محسوب می شود. هدف این مطالعه بررسی اثرات محافظتی آپیزنین بر بیان پروتئین $TNF-\alpha$ در بافت بیضه موش های آزمایشگاهی مواجهه شده با کادمیوم بود.

مواد و روش ها: در این پژوهش ۴۸ موش نر به ۶ گروه تقسیم شدند: گروه گروه شم، گروه تیمار شده با کادمیوم، و گروه های تیمار شده با دوزهای متوسط و بالای آپیزنین به صورت منفرد یا ترکیبی با کادمیوم. تزریقات به صورت درون صفاقی به مدت ۱۵ روز انجام شد. پس از تیمار، بیان پروتئین $TNF-\alpha$ در بافت بیضه بررسی شد.

نتایج: نتایج نشان داد کادمیوم به طور معناداری بیان پروتئین $TNF-\alpha$ در گروه کادمیوم افزایش می یابد. با این حال، تیمار با آپیزنین، در هر دو دوز پایین و بالا، بطور معنی داری بیان این پروتئین را تعدیل می کند.

نتیجه گیری: یافته های ما تأثیر التهابی کادمیوم بر بافت بیضه و اثرات محافظتی آپیزنین را تأیید کرد. این مطالعه پتانسیل آپیزنین را به عنوان یک ترکیب حفاظتی برای کاهش اثرات سمی کادمیوم نشان می دهد. تحقیقات بیشتر برای تأیید این نتایج و تعمیم آن به انسان توصیه می شود.

واژگان کلیدی: آپیزنین، بیضه، التهاب، کادمیم، موش



۱. مقدمه

کادمیم یکی از آلاینده های مهم است که اثر سوء بر باروری دارد و یک ماده سمی در بیضه پستانداران است (Siu *et al.*, 2009). شواهد نشان می دهد که مواجهه محیطی با کادمیوم با ناباروری مردان و کیفیت پایین منی در انسان همراه است (Pant *et al.*, 2003). بر اساس چندین مطالعه، ارتباط منفی معنی داری بین سطح کادمیم خون و کیفیت مایع منی مشاهده شد (Xu *et al.*, 2003). حتی سطح کم تجمع کادمیوم در مایع منی ممکن است با کاهش کیفیت اسپرم به ناباروری مردان کمک کند (Pant *et al.*, 2003). طی مطالعات انجام شده، کادمیوم باعث القای آپوپتوز سلول زاینده در بیضه ها می شود (Ozawa *et al.*, 2002) و اکسیداسیون و التهاب را در کبد و بیضه موش ها ایجاد می کند (Wu *et al.*, 2007). علاوه بر این، آسیب اکسیداتیو DNA در اسپرم انسان با غلظت کادمیم در پلاسما منی مرتبط می باشد (Xu *et al.*, 2003). مکانیسم های اصلی اثر سمی کادمیوم در سلول ها شامل کاهش پتانسیل آنتی اکسیدانی و استرس اکسیداتیو است، و تصور می شود آسیب ثانویه ناشی از قرار گرفتن در معرض حاد کادمیوم باعث فعال شدن تعداد زیادی از واسطه های التهابی و سیتوتوکسیک به ویژه تولید $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ می شود (de Freitas *et al.*, 2012).

بسیاری از تحقیقات نشان داده اند که بیضه های پستانداران نسبت به کادمیوم بسیار حساس هستند که باعث مسمومیت در اندام های تناسلی مرد، به ویژه بیضه ها و پارامترهای اسپرم می گردد. این بخشهای تولید مثلی به دلیل تقسیم سلولی فعال و متابولیسم شان بیشتر در معرض آسیب می باشند (Kumar *et al.*, 2019; Pollack *et al.*, 2014).

التهاب نقش مهمی در بیماری های مختلف دارد. در طی یک پاسخ التهابی، واسطه ها، مانند سیتوکین های پیش التهابی، از جمله اینترلوکین 1 ($IL-1$)، فاکتور نکروز تومور (TNF)، اینترفرون گاما (INF)، $IL-6$ ، $IL-12$ ، $IL-18$ و فاکتور تحریک کننده گرانولوسیت-ماکروفاژ کلنی-آزاد می شوند. این پاسخ بر علیه سیتوکین های ضد التهابی مانند $IL-4$ ، $IL-10$ ، $IL-13$ ، $IFN-a$ و فاکتور رشد تبدیل کننده عمل می کند. عامل هسته ای- κB ($NF-\kappa B$)، فاکتور رونویسی، همچنین با تنظیم بیان ژن های مختلف کدکننده سیتوکین های پیش التهابی، مولکول های چسبندگی، کموکاین ها، فاکتورهای رشد و آنزیم های القایی مانند سیکلواکسیژناز-2 ($COX-2$)، نقش مهمی در پاسخ التهابی ایفا می کند (Hanada and Yoshimura, 2002). نیتریک اکسید سنتاز القایی ($iNOS$) و $COX-2$ هر دو تولید مقادیر زیادی از واسطه های التهابی را تحریک می کنند. التهاب در درجه اول یک پاسخ محافظتی است اما التهاب مزمن و کنترل نشده برای بافت ها مضر می باشد (Gil, 2002).

از آنجایی که به علت گستردگی وجود کادمیم در محیط زیست موجودات و اثرات سوء آن بر بیشتر ارگانهای حیاتی بدن و همچنین سیستم تولید مثلی، استفاده از مکمل ها یا مواد غذایی و بطور کلی ترکیباتی که دارای مواد آنتی اکسیدان هستند که می توانند بدن را در برابر آسیب کادمیم حفاظت کنند امری انکار ناپذیر است. به نظر می رسد یکی از ترکیبات موجود آپی ژنین می باشد که به عنوان یک فلاونوئید و آنتی اکسیدان می تواند بدن را در برابر فلز سنگین کادمیم و اثرات نامطلوب آن حفاظت کند (Genchi *et al.*, 2020).

یکی از مواد موثره ای که در حفاظت از سیستم تولیدمثل مردان نقش دارد، آپیزنین (AP) می باشد. آپیزنین ($4', AP$ ، 5, 7-trihydroxy flavonoid) یک فلاونوئید رژیمی فراوان است و به طور گسترده در میوه ها و سبزیجات وجود



دارد (Duarte, S.; 2013). غنی ترین منابع غذایی AP شامل کرفس، جعفری، بابونه، انگور، اسفناج، کنگر فرنگی و پونه کوهی به شکل خشک شده است. طبق گزارشات، جعفری خشک حاوی بالاترین غلظت AP (۴۵۰۳۵ میکروگرم بر گرم) است. گل های خشک شده بابونه حاوی ۳۰۰۰ تا ۵۰۰۰ میکروگرم بر گرم و دانه های کرفس حاوی ۷۸۶.۵ میکروگرم در گرم AP است در حالی که کرفس چینی حاوی ۲۴۰.۲ میکروگرم بر گرم AP است. اسفناج انگور حاوی ۶۲۲ میکروگرم در گرم AP و میوه های معمولی مانند گریپ فروت، پرتقال، نوشیدنی های تهیه شده از گیاهان، سبزیجاتی مانند پیاز، بابونه، جعفری و غیره، جوانه گندم، چای و چاشنی های مختلف همگی حاوی مقدار زیادی AP هستند. گل های خشک گیاه بابونه، *Matricaria chamomilla* نیز منبع AP می باشند که در چای های گیاهی استفاده می شود (Shankar et al., 2017). هدف این مطالعه بررسی اثرات محافظتی آپژنین بر بیان پروتئین $TNF-\alpha$ در بافت بیضه موش های آزمایشگاهی مواجهه شده با کادمیوم بود.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. حیوانات آزمایشگاهی و تیمارها

در این مطالعه تعداد ۴۸ سر موش نر کوچک آزمایشگاهی با محدوده وزنی ۲۰-۲۵ از انستیتو پاستور آمل خریداری و به اتاق مخصوص حیوانات در گروه زیست شناسی دانشگاه مازندران انتقال داده شد. موش های کوچک آزمایشگاهی جهت سازگاری با محیط به مدت یک هفته در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد در دوره تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. موش ها به ۶ گروه: ۱. گروه شم، ۲. گروه تیمار شده با کادمیوم، ۳ و ۴. گروه تیمار شده با دوز متوسط و بالا آپی ژنین، ۵. گروه کادمیوم تیمار شده با دوز متوسط آپی ژنین ۶. گروه کادمیوم تیمار شده با دوز بالای آپی ژنین تقسیم شدند. (در گروه های کادمیوم و آپی ژنین، موش ها ابتدا کادمیوم را به صورت درون صفاقی دریافت می کنند و پس از گذشت ۲ ساعت، با تزریق آپی ژنین تیمار میشوند). همه تزریقات به صورت درون صفاقی به مدت ۱۵ روز بود. پس از اتمام ۱۵ روز تیمار ابتدا موش ها با کلروفورم بیهوش و بیضه ها جهت بررسی بیان پروتئین $TNF-\alpha$ جدا شدند و در فرمالدهید ۱۰٪ و جهت آنالیزهای بافتی فیکس شد.

۲-۲. پروسه بافتی و قالب گیری

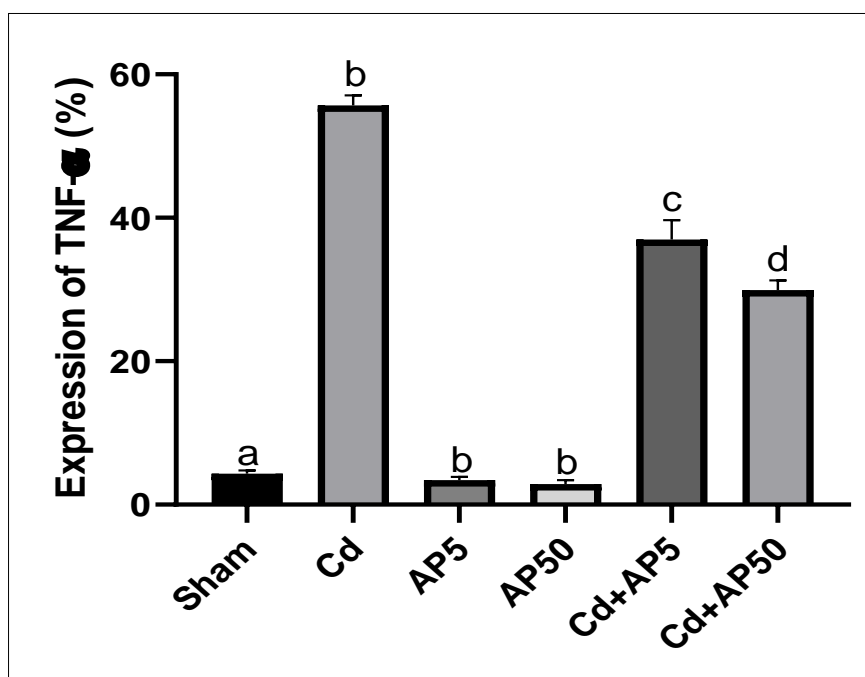
به طور کلی به منظور نگهداری سلول ها و بافتهای بدن در حالتی مشابه و نزدیک به حالت زنده آنها، عمل ثبوت انجام میگیرد. پس از جدا کردن نمونه از بدن موجود زنده بلافاصله به مدت ۷۲-۲۴ ساعت در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار می گیرد. به دلیل وجود درصد زیادی آب در بافت، پارافین به داخل بافت ها نفوذ نمیکند در نتیجه باید آبگیری با الکل اتیلیک انجام شود. آبگیری با الکل اتانول به صورت زیر از درجات پایین شروع شده تا به الکل مطلق برسد. وجود الکل در پارافین ایجاد اشکال میکند پس بهتر است الکل را با ترکیبی از محیط خارج گردد که از یک طرف با الکل و از طرف دیگر با پارافین واکنش دهد و حلال همدیگر باشند که برای این منظور از محلولی بنام زایلول استفاده گردید. پس از زایلول برای سخت شدن و آماده سازی بافت برای قالب گیری و برش بافتی از پارافین استفاده می شود.

۲-۳. بررسی بیان پروتئین $TNF-\alpha$ با استفاده از ایمنوهیستوشیمی

اسلایدها پس از دی‌پارافینه شدن و هیدراته‌سازی، با استفاده از آنتی‌بادی اولیه اختصاصی $TNF-\alpha$ انکوبه شدند. سپس، رنگ‌آمیزی با کیت ایمنوهیستوشیمی اختصاصی انجام شد و نمونه‌ها زیر میکروسکوپ فلورسنت بررسی شدند. شدت رنگ‌آمیزی برای ارزیابی میزان بیان $TNF-\alpha$ به صورت نیمه کمی تحلیل شد.

۳. نتایج

نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که کادمیوم به طور معناداری باعث افزایش بیان پروتئین $TNF-\alpha$ در گروه تحت تیمار با کادمیوم می‌شود، که این افزایش نشان‌دهنده ایجاد التهاب ناشی از سمیت کادمیوم است. با این حال، تیمار با آپیزنین در هر دو دوز پایین و بالا (۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) منجر به کاهش معنی‌دار بیان این پروتئین شد. این کاهش نشان‌دهنده اثرات ضدالتهابی آپیزنین در مهار پاسخ التهابی ناشی از کادمیوم است. مقایسه بین دو دوز آپیزنین نیز نشان داد که دوز بالاتر تاثیر بیشتری در کاهش بیان $TNF-\alpha$ دارد، اگرچه هر دو دوز اثرات محافظتی قابل توجهی نشان دادند (شکل ۱).



شکل ۱. نتایج حاصل از ایمنوهیستوشیمی

۴. بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد کادمیوم به طور معناداری بیان پروتئین $TNF-\alpha$ در گروه کادمیوم افزایش می‌یابد. با این حال، تیمار با آپیزنین، در هر دو دوز پایین و بالا (۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، بطور معنی‌داری بیان این پروتئین را تعدیل می‌کند. این اثر



محافظتی به دلیل خواص ضدالتهابی آپیزنین است که می تواند بیان ژن TNF را تعدیل کند. مطالعات نیز به نقش آپیزنین در حفظ هموستاز سلولی از طریق کاهش گونه های فعال اکسیژن و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی اشاره کرده اند. علاوه بر این، تأثیر وابسته به دوز آپیزنین نشان داد که غلظت های بالاتر این ترکیب اثرات محافظتی بیشتری دارند. این نتایج ظرفیت بالای آپیزنین در کاهش آسیب های ناشی از کادمیوم را نشان می دهد. برای بررسی دقیق تر، پیشنهاد می شود از روش های مولکولی پیشرفته تر مانند آنالیز بیان ژن و سنجش های پروتئینی استفاده شود. همچنین، برای تعمیم این یافته ها به انسان، انجام مطالعات متناسب در مدل های انسانی ضروری است. به طور کلی، این تحقیق نشان می دهد که آپیزنین می تواند به عنوان یک ترکیب بالقوه در کاهش اثرات سمی کادمیوم و حفاظت از سلامت تولیدمثل در برابر این آلاینده محیطی مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

- de Freitas, M. L., Dalmolin, L., Oliveira, L. P., da Rosa Moreira, L., Roman, S. S., Soares, F. A. A., ... & Brandão, R. (2012). Effects of butane-2, 3-dione thiosemicarbazone oxime on testicular damage induced by cadmium in mice. *The Journal of toxicological sciences*, 37(5): 899-910.
- Genchi, G., Sinicropi, M. S., Lauria, G., Carocci, A., & Catalano, A. (2020). The effects of cadmium toxicity. *International journal of environmental research and public health*, 17(11): 3782.
- Gil, A. (2002). Polyunsaturated fatty acids and inflammatory diseases. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 56(8): 388-396.
- Hanada, T., & Yoshimura, A. (2002). Regulation of cytokine signaling and inflammation. *Cytokine & growth factor reviews*, 13(4-5): 413-421.
- Kumar, S., & Sharma, A. (2019). Cadmium toxicity: effects on human reproduction and fertility. *Reviews on environmental health*, 34(4): 327-338.
- Ozawa, N., Goda, N., Makino, N., Yamaguchi, T., Yoshimura, Y., & Suematsu, M. (2002). Leydig cell-derived heme oxygenase-1 regulates apoptosis of premeiotic germ cells in response to stress. *The Journal of clinical investigation*, 109(4): 457-467.
- Pant, N., Upadhyay, G., Pandey, S., Mathur, N., Saxena, D. K., & Srivastava, S. P. (2003). Lead and cadmium concentration in the seminal plasma of men in the general population: correlation with sperm quality. *Reproductive toxicology*, 17(4): 447-450.
- Pollack, A. Z., Ranasinghe, S., Sjaarda, L. A., & Mumford, S. L. (2014). Cadmium and reproductive health in women: a systematic review of the epidemiologic evidence. *Current environmental health reports*, 1:172-184.
- Shankar, E., Goel, A., Gupta, K., & Gupta, S. (2017). Plant flavone apigenin: an emerging anticancer agent. *Current pharmacology reports*, 3: 423-446.
- Siu, E. R., Mruk, D. D., Porto, C. S., & Cheng, C. Y. (2009). Cadmium-induced testicular injury. *Toxicology and applied pharmacology*, 238(3): 240-249.
- Wu, X., Lu, Z., Chen, J., Wang, J., & Huang, F. (2007). Hepatic c-fos expression is independent of oxidative stress and inflammation induced by acute cadmium exposure in rats. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 51(3): 258-263.
- Xu, D. X., Shen, H. M., Zhu, Q. X., Chua, L., Wang, Q. N., Chia, S. E., & Ong, C. N. (2003). The associations among semen quality, oxidative DNA damage in human spermatozoa and concentrations of cadmium, lead and selenium in seminal plasma. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 534(1-2): 155-163.



ارزیابی ارتباط بین پلی آمین ها و تنش سرب در بهبود عملکرد گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)

افسانه مظاهری اسدی^۱، سروناز بی غم سوستانی^{۲*}، منیره رنجبر^۱

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان

^{۲*} گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس (bigamsarvenaz@yahoo.com)

چکیده

ارزیابی تأثیر پوترسین و اسپرمیدین بصورت محلول پاشی (محلول ۱ میلی مولار) (نیترات سرب ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) و بر تنش سرب با ارزیابی ویژگی های فیزیولوژیکی، گیاه بادرنجبویه انجام شد، طراحی آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج تجزیه و تحلیل تیمارها نشان داد که گیاه بادرنجبویه می تواند تحت تأثیر پوترسین و اسپرمیدین اثرات سوء حاصل از تنش سرب بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه را کاهش داده و آنها را افزایش دهد. قابل ذکر است که پوترسین و اسپرمیدین نقش بسزایی در افزایش طول گیاه داشتند، همچنین بیشترین ارتباط را با پلی فنل اکسیداز، وزن تر و خشک نشان داد، همچنین تیمارهای سرب ۱۰۰۰ میکرومولار+پوترسین، سرب ۵۰۰ میکرومولار+پوترسین، سرب ۱۰۰۰ میکرومولار+اسپرمیدین، سرب ۵۰۰ میکرومولار+اسپرمیدین ارتباط مستقیم و قوی با طول گیاه، وزن تر، وزن خشک نشان دادند. درواقع گیاه بادرنجبویه در مواجهه با سرب می تواند مقاوم باشد و پیل آمین های تیمار شده در مقاوم شدن گیاه به سرب اثر گذار بود که درواقع به دلیل حفظ پایداری غشاء است.

واژگان کلیدی: آلاینده، پلی آمین، تنش محیطی، فلز سنگین، گیاه دارویی.



۱. مقدمه

آلودگی فلزات به یک مشکل زیست محیطی برجسته در سراسر جهان تبدیل شده است. در میان فلزات سنگین، سرب (Pb) یکی از خطرناک ترین آلاینده های محیط زیست است و آلودگی سرب در هوا، آب و خاک کشاورزی به دلیل تأثیر آن بر سلامت انسان و محیط زیست، یک نگرانی اکولوژیکی است (Raj and Das., 2023). اگرچه یک ماده مغذی ضروری برای گیاهان نیست، بخش بزرگی از سرب به راحتی توسط گیاهان از خاک جذب می شود و در ریشه ها جمع می شود در حالی که تنها بخش کوچکی به سمت بالا به قسمت های هوایی گیاه منتقل می شود (Collin et al., 2022). قرار گرفتن در معرض سرب بر رشد و پارامترهای فیزیولوژیکی تأثیر می گذارد و منجر به کاهش درصد جوانه زنی، طول و توده خشک ریشه و اندام هوایی، اختلال در تغذیه معدنی و کاهش تقسیم سلولی می شود (Dalyan et al., 2020). در بیشتر مطالعات، سرب به عنوان تحریک کننده استرس اکسیداتیو از طریق تولید بیش از حد گونه های فعال اکسیژن (ROS) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) شناخته شده است که به نوبه خود بر روی لیپیدهای غیر اشباع در غشای سلولی اثر می گذارد و در نهایت منجر به پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب به غشای سلولی می شود (Nowicka et al., 2023). گیاهان در معرض طیف وسیعی از آلاینده ها، به ویژه فلزات سنگین هستند. با این حال، آنها در واکنش خود به آلودگی فلزات سنگین متفاوت هستند. به عنوان مثال، در حالی که برخی به سرب حساس هستند، برخی دیگر نسبت به این فلز سنگین تحمل نشان می دهند و می توانند مقادیر قابل توجهی از سرب را مصرف کنند کرده اند. مسدود کردن ورود فلزات سنگین به داخل سلول از طریق حذف یا اتصال آنها به دیواره سلولی اولین مکانیسم اصلی سم زدایی است و این یک مکانیسم مهم برای آلودگی سرب است (Pasricha et al., 2021).

پلی آمین ها (PAs) پلی کاتیون های محلول در آب در همه جا هستند. آنها نقش حیاتی در تنظیم فیزیولوژی و رشد گیاه و همچنین مدیریت استرس (Özmen et al., 2022) و محرک زیستی گیاهی (Talaat., 2023) را بر عهده دارند. در تمام سلول های زنده، پلی فل های اصلی به صورت دی آمین پوترسین (Put)، تریامین اسپرمیدین (Spd) و تترامین اسپرمین (Spm) یافت می شوند. آنها دارای بار مثبت هستند و می توانند به مولکول های باردار مخالف مانند DNA، RNA، آدنوزین تری فسفات (ATP)، پروتئین ها و فسفولیپیدها متصل شوند (Shah et al., 2022; Ali et al., 2020). پلی آمین ها همچنین در فرآیندهای تنظیمی نقش دارند، به عنوان مثال، رشد گیاه، تقسیم سلول، تمایز سلولی، گلدهی، رشد جنین، ایمنی پیری، همانندسازی DNA، تنظیم ژن و سنتز اسید نوکلئیک (Asija et al., 2023). علاوه بر این، پلی فل ها می توانند گونه های فعال اکسیژن (ROS) (Majumdar and Kar., 2023) را از بین ببرند و نقش های حیاتی را در تنظیم پاسخ دفاعی گیاه به سمیت فلزات/فلانوئیدهای مختلف ایفا کنند (Raychaudhuri et al., 2021).

بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) یکی از اعضای خانواده Lamiaceae است که به طور گسترده از غرب اروپا (Ivanišová et al., 2020) تا نواحی غربی و مرکزی ایران پراکنده است. برگ های این گیاه نازک و کرکی است (Faraji et al., 2021). گل ها سفید یا صورتی با خوشه های کوچک هستند که در تابستان تشکیل می شوند (Esmaeilzadeh., 2021). (Salestani et al., 2021).



امروزه عصاره بادرنجبویه به طور گسترده در زمینه های مختلف مانند پزشکی، صنایع غذایی و همچنین تولید عطر و لوازم آرایشی استفاده می شود (Ullah and Hassan., 2022). عصاره بادرنجبویه دارای خواص دارویی مختلفی از جمله ضد ویروسی، ضد التهابی (Abu-shanab et al., 2006؛ Bagdat and Cosge, 2006) و اثرات آنتی اکسیدانی (Parham et al., 2020) است. مشخص است که بیشتر این اثرات مربوط به ماده فعال آن، رزمارینیک اسید است (Chai et al., 2023). این گیاه به دلیل خواص دارویی که دارد به طور گسترده در سراسر جهان مورد استفاده قرار می گیرد. با این حال، اطلاعات کمی در مورد مقاومت و اثرات سوء سرب وجود دارد. با در نظر گرفتن این پیشینه، ما فرض کردیم که پلی آمین ها ممکن است اثرات سمی ناشی از سرب را در *Melissa officinalis* L. بهبود بخشد. هدف کار حاضر بررسی نقش پلی آمین ها در کاهش استرس سرب در *Melissa officinalis* L. است.

۲. مواد و روش

۲-۱. کشت بذر و تیماردهی

بذر گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)، از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد و در گلدان هایی با محتوای یکسان کوکوپیت و پرلیت کاشته شد. هر روز گلدان های حاوی بذر با آب مقطر طی ۳ نوبت آبیاری شدند. این روند تا جوانه زنی بذر ادامه یافت، سپس محلول پاشی هوگلند روزانه یک مرتبه انجام شد. هنگامی که گیاه به مرحله دو برگچه ای رسید به مدت ۱ ماه و به صورت یک روز در میان تیمار توام غلظت های نترات سرب ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرو مولار و پلی آمین ها (محلول ۱ میلی مولار پوترسین، محلول ۱ میلی مولار اسپرمیدین) انجام شد و در روزهای دیگر محلول پاشی هوگلند به همراه آب مقطر انجام شد.

۲-۲. تعیین طول گیاه

پس اتمام تیمار دهی، به طور تصادفی از هر گلدان ۵ تا گیاه برداشته و طول آنها با خط کش اندازه گیری شدند، سپس اعداد بدست آمده با هم جمع و میانگین اعداد محاسبه شد (Shao et al., 2023).

۲-۳. محاسبه وزن تر و خشک گیاه

۲-۳-۱. وزن تر گیاه

به طور تصادفی تعدادی گیاه از هر گلدان برداشته شد سپس بخش هوایی از بخش زیرزمینی جدا گردید. برای محاسبه وزن تر بخش های هوایی جدا شده، وزن گردید (Pacheco et al., 2023).



۲-۳-۲. وزن خشک گیاه

پس از محاسبه وزن تر، گیاهان را داخل فویل گذاشته درحالی که سطح آن‌ها باز است فویل های حاوی گیاهان داخل آون با دمای ۶۰ الی ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت پس از خشک شدن وزن آنها تعیین شد (Shao et al., 2023).

۲-۴. تهیه عصاره آنزیمی

جهت تهیه عصاره آنزیمی ابتدا ۰/۲ گرم از اندام های هوایی گیاه به مدت ۱ روز در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد منجمد شد. سپس ۰/۱ گرم بافت منجمد به همراه ۱/۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات در هاون چینی سائیده شد، سپس به اپندورف منتقل شد و توسط سانتریوفوژ یخچال دار به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با دور ۱۵۰۰ قرار گرفت در پایان جهت سنجش آنزیم از محلول رویی استفاده شد (Kar and Mishra., 1976; Karakus et al., 2023).

۲-۵. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز و پلی فنل اکسیداز

۲۰۰ میکرولیتر از عصاره برداشته داخل لوله آزمایش ریخته و بعد ۲/۸ میلی لیتر از بافر پتاسیم فسفات را به عصاره اضافه و ۳۰۰ میکرو لیتر آب اکسیژنه ۳٪ بلافاصله اضافه و داخل دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۳۰ نانومتر قرار گرفت فعالیت آنزیم بر حسب واحد جذب تعیین شد. محلول بلانک شامل ۲/۸ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات به همراه ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود (Rady et al., 2022; Maehly and Chance., 1954).

۲-۶. سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

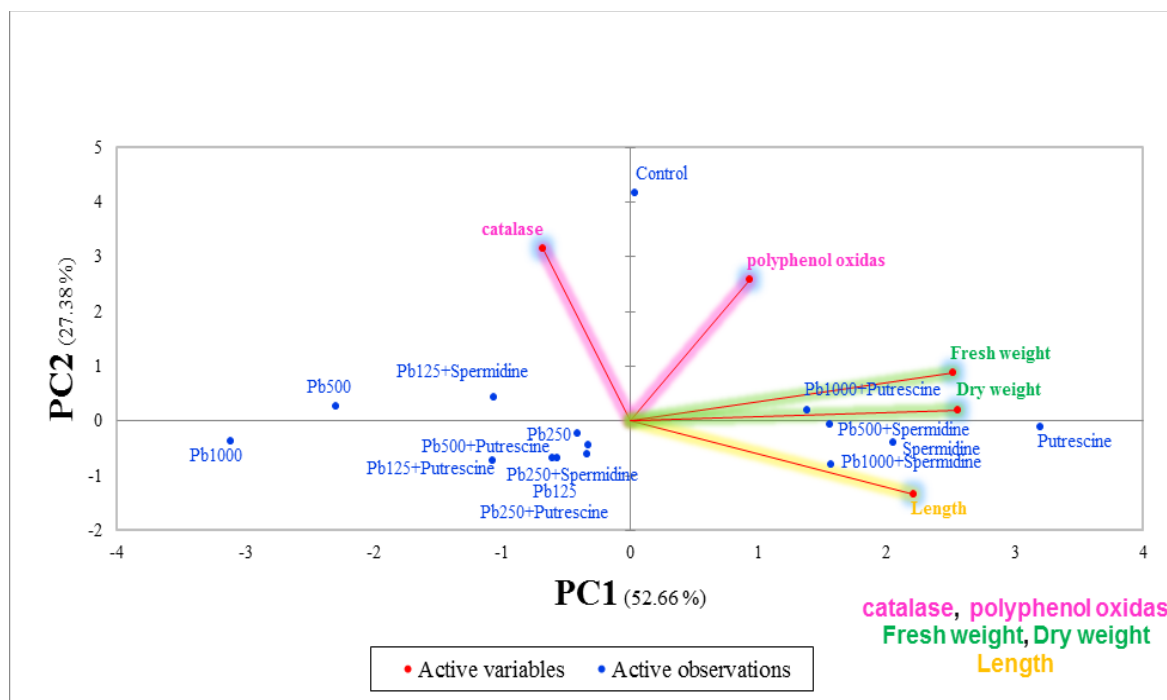
ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی برداشته به آن ۲/۸ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات اضافه شد، ۱۰۰ میکرو لیتر از پیروگالول ۱۰ میلی مولار را اضافه کرده و بلافاصله در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۴۲۰ نانومتر میزان جذب سنجش شد. محلول بلانک شامل ۲/۸ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات به همراه ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود (Rady et al., 2023, Taneja and Sachar., 1974).

۲-۷. آنالیز آماری

این آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد پس از جمع آوری داده ها آنها را از طریق آزمون کلموگروف اسمیرنوف ارزیابی کرده و با توجه به نرمال بودن داده ها از آزمون های پارامتریک جهت آنالیز آماری بهره بردیم. تمام داده ها در اکسل ۲۰۱۹، در نرم افزارهای R، XLSTAT آنالیز شد قابل ذکر است مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن انجام شد.

۳. نتایج

طرح مؤلفه اصلی دو بعدی جداسازی پانزده تیمار مختلف را در چهار ربع بای پلات به تصویر می کشد. طرح نشان می دهد که تیمارهای اسپرمیدین و پوترسین بیشترین ارتباط را با پلی فنل اکسیداز، وزن تر و خشک نشان داد، همچنین تیمارهای سرب ۱۰۰ میکرومولار+پوترسین، سرب ۵۰۰ میکرومولار +پوترسین، سرب ۱۰۰ میکرومولار+اسپرمیدین، سرب ۵۰۰ میکرومولار +اسپرمیدین ارتباط مستقیم و قوی با طول گیاه، وزن تر، وزن خشک نشان دادند. این تیمارها با فعالیت آنزیم کاتالاز ارتباط مستقیم و اندک نشان دادند، بیشترین ارتباط آنزیم کاتالاز با تیمارهای سرب ۵۰۰ میکرومولار، کنترل (شاهد)، سرب ۱۲۵ میکرومولار + پوترسین، سرب ۱۲۵ میکرومولار+اسپرمیدین نشان داد (شکل ۱).



شکل ۱. تجزیه و تحلیل مؤلفه های اصلی (PCA) بر اساس تیمارهای مختلف پوترسین و اسپرمیدین در *Melissa officinalis* L. در بین تیمارها

نتایج نشان می دهد که تیمارهای پوترسین و اسپرمیدین نقش بسزایی در افزایش طول گیاه داشتند همچنین مشاهده شد که تیمارهای سرب منجر به کاهش طول گیاه، وزن تر، خشک، آنزیم های کاتالاز و پلی فنل اکسیداز می شود و در تیمارهای توام با پوترسین و اسپرمیدین افزایش طول و بهبود عملکرد گیاه را برآورد کردیم البته قابل ذکر است تغییرات آنزیم کاتالاز معنی دار نبوده که می تواند مقام بودن گیاه به فلز سنگین را نشان دهد به طور کل هر دو نوع پلی آمین می توانند باعث افزایش فعالیت این آنزیم باشند. استفاده از پوترسین با غلظت ۱ میلی مولار نسبت به اسپرمیدین با غلظت ۱ میلی مولار تأثیر بیشتری بر افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گذاشته است. مقایسه فعالیت این آنزیم در دو تیمار نشان می دهد که استفاده از پوترسین نسبت به اسپرمیدین در همان غلظت تنش بیشتری بر گیاه وارد کرده است. پوترسین با غلظت ۱ میلی مولار باعث افزایش قابل توجهی در میزان فعالیت



آنزیم پلی فنل اکسیداز در گیاه *Melissa officinalis* L. شده در حالیکه استفاده از اسپرمیدین با غلظت ۱ میلی مولار باعث کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نسبت به شاهد شده است (جدول ۱).

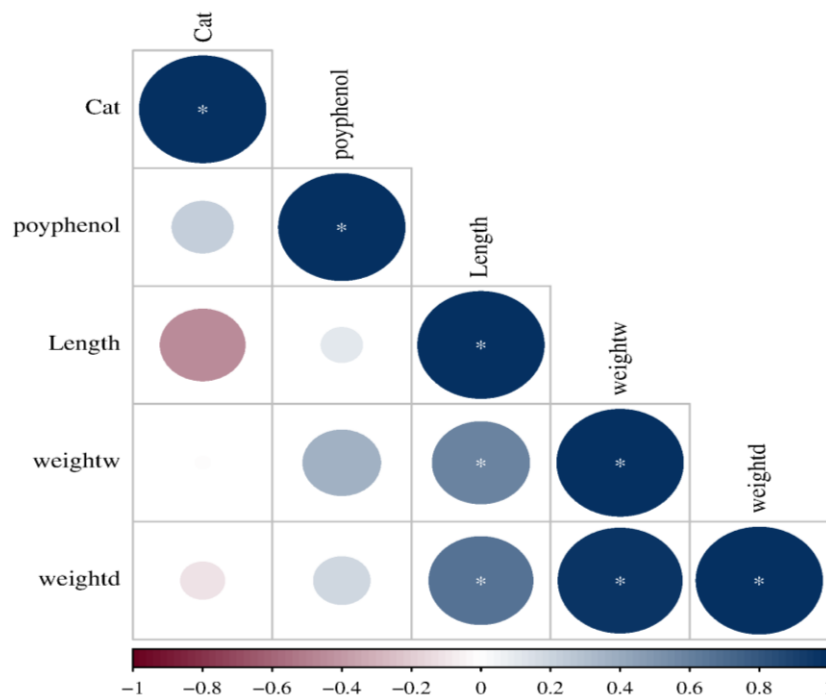
جدول ۱ نتایج توصیفی تیمارها و فاکتورهای سنجش شده در این مطالعه

گروه‌ها	وزن خشک	وزن تر	طول گیاه	پلی فنل اکسیداز	کاتالاز
کنترل	۰/۰±۰۰۶۶/۰۱۱۱ ^{de}	۱/۰±۰۹۵۰۷/۱۶۰۱ ^c	۳/۰±۰۶۱۳/۱۸۱۴ ^{gh}	±۵۵۲/۰۰/۰۴۸۳ ^a	۰/۰±۰۸۴۳/۰۰۶۵ ^a
پوترسین	۱/۰±۰۱۴۱/۰۱۶۷ ^a	۲/۰±۰۷۶۷۰/۱۷۲۵ ^a	۵/۰±۰۵۴۰/۱۵۸۷ ^a	۰/۰±۰۳۴۳/۰۰۴۷۶ ^b	۰/۰±۰۱۴۰/۰۰۱۰ ^{gh}
اسپرمیدین	۱/۰±۰۱۳۴/۰۱۶۹ ^a	۲/۰±۰۲۳۸۷/۱۳۶ ^b	۵/۰±۰۴۶۰/۲۶۰ ^{ab}	۰/۰±۰۱۴۰/۰۰۲۶۷ ^e	۰/۰±۰۳۹۰/۰۰۴۷ ^c
سرب ۱۲۵	۰/۰±۰۵۵۵/۰۱۰ ^f	۱/۰±۰۳۸۳۷/۱۶۵۲ ^{de}	۳/۰±۰۹۰۶/۲۱۹۳ ^g	۰/۰±۰۲۰۷/۰۰۶۱۴ ^{de}	۰/۰±۰۱۵۱/۰۰۱۰ ^{gh}
سرب ۲۵۰	۰/۰±۰۷۲۵۳/۰۱۹۷ ^d	۱/۰±۰۴۸۳۳/۱۳۸۴ ^d	۳/۰±۰۶۵۳/۲۰۵۲ ^{gh}	۰/۰±۰۲۰۴/۰۰۸۳ ^{de}	def ۰/۰±۰۲۲۷/۰۰۲۰
سرب ۵۰۰	۰/۰±۰۳۱۲۷/۰۰۹۹ ^h	۰/۰±۰۶۶۶/۱۸۳۱ ^h	۳/۰±۰۴۰۶/۲۴۱۱ ^{hk}	۰/۰±۰۲۰۳/۰۰۳۷ ^{de}	۰/۰±۰۴۲۰/۰۰۵۲ ^c
سرب ۱۰۰۰	۰/۰±۰۱۴۸۰/۰۰۳۹۱ ^k	۰/۰±۰۳۰۷۰/۱۳۷۳ ^k	۳/۰±۰۲۳۳/۲۶۶۳ ^k	۰/۰±۰۱۵۰/۰۰۴۳۲ ^{de}	۰/۰±۰۳۴۳/۰۰۷۰ ^{cd}
سرب ۱۲۵ + اسپرمیدین	۰/۰±۰۵۳۹۳/۰۱۷۰ ^f	۱/۰±۰۱۲۳۳/۱۳۹۰ ^{ef}	۴/۰±۰۳۲۶/۲۳۰ ^f	۰/۰±۰۱۴۹/۰۰۵۹۶ ^{de}	۰/۰±۰۵۹۳/۰۰۴۵ ^b
سرب ۲۵۰ + اسپرمیدین	۰/۰±۰۶۳۵۳/۰۰۳۸۳ ^e	۱/۰±۰۳۵۴/۰۱۴۳۲ ^{de}	۴/۰±۰۴۸۰/۱۷۴۳ ^{ef}	۰/۰±۰۱۵۹/۰۰۱۳۰ ^{de}	۰/۰±۰۳۴۰/۰۰۸۷ ^{cd}
سرب ۵۰۰ + اسپرمیدین	۰/۰±۰۹۳۵۳/۰۰۳۱۳ ^b	۱/۰±۰۸۶۵۰/۱۹۷۸ ^c	۵/۰±۰۱۳۰/۰۰۹۸۶ ^{cd}	۰/۰±۰۳۳۵/۰۰۴۲۱ ^b	efg ۰/۰±۰۱۹۳/۰۰۱۵
سرب ۱۰۰۰ + اسپرمیدین	۰/۰±۰۸۹۰۴/۰۰۶۶۶ ^h	۱/۰±۰۹۰۹۳/۱۸۰۲ ^c	۵/۰±۰۳۸۰/۲۶۲۳ ^{abc}	۰/۰±۰۲۳۴/۰۰۱۴۸ ^{cd}	efg ۰/۰±۰۱۸۳/۰۰۸۵
سرب ۱۲۵ + پوترسین	۰/۰±۰۳۳۰۷/۰۰۱۱۰ ^g	۰/۰±۰۷۱۲/۱۶۷۱ ^{gh}	۴/۰±۰۸۲۰/۲۳۰ ^{de}	۰/۰±۰۲۳۵/۰۰۳۴۹ ^{cd}	۰/۰±۰۲۶۰/۰۰۰۳ ^{de}
سرب ۲۵۰ + پوترسین	۰/۰±۰۴۰۹۷/۰۰۵۲۹ ^g	۰/۰±۰۸۶۱۷/۱۴۸۲ ^{fgh}	۴/۰±۰۸۲۶/۲۷۳۰ ^{de}	۰/۰±۰۳۰۱/۰۰۲۵۱ ^{bc}	fgh ۰/۰±۰۱۶۳/۰۰۴۱
سرب ۵۰۰ + پوترسین	۰/۰±۰۴۲۵۳/۰۰۲۲۰ ^c	۰/۰±۰۹۶۸۲/۱۱۳۲ ^{fg}	۴/۰±۰۸۵۳/۱۸۰۳ ^{de}	۰/۰±۰۳۳۳/۰۰۶۶۹ ^b	۰/۰±۰۱۳۰/۰۰۰۳ ^h
سرب ۱۰۰۰ + پوترسین	۰/۰±۰۸۳۸۳/۰۰۲۹۳ ^{bcd}	۱/۰±۰۷۷۴/۱۱۵۴ ^c	۵/۰±۰۱۴۵/۰۰۱۴۰ ^{bcd}	۰/۰±۰۲۶۱/۰۰۲۸۵ ^b	۰/۰±۰۲۴۷/۰۰۰۲ ^{ef}

حروف غیر یکسان نشان‌دهنده معناداری بین تیمارها می‌باشد ($P < 0/05$) و حروف یکسان نشان‌دهنده عدم معناداری بین تیمارها می‌باشد ($P > 0/05$).

۳-۱. ارزیابی همبستگی پیرسون در تیمارهای مختلف

همبستگی پیرسون نشان داده شد که چگونه ویژگی‌های مختلف مورد مطالعه با یکدیگر مرتبط هستند (شکل ۲). در شکل رنگ‌های همبستگی بین مثبت قوی ($R=1$) و منفی قوی (قرمز تیره $R=-1$) را نشان می‌دهد (شکل ۲).



شکل ۲ همبستگی‌های منفی بارنگ قرمز و همبستگی‌های مثبت بارنگ آبی نشان داده شده‌اند. ضرایب همبستگی هم با اندازه دایره و هم با شدت رنگ همبستگی دارند.

۴. بحث و نتیجه گیری

سرب یک فلز سنگین سمی است که اثرات نامطلوبی بر مورفولوژی و رشد گیاهان می‌گذارد و باعث مهار فعالیت آنزیم‌ها می‌شود. علاوه بر این، استرس سرب معمولاً با اختلال در رشد و نمو گیاه، کاهش تولید کلروفیل، به هم ریختگی تیلاکوئید و استرس اکسیداتیو مرتبط است. نشان داده شد که قرار گرفتن در معرض سطوح سمی سرب باعث کاهش سطح نسبت Put و Put/Spm متصل به تیلاکوئید در کلروپلاست‌های برگ جو، همراه با کاهش قابل توجه تعداد تیلاکوئیدها می‌شود (Legocka et al., 2015). در این مطالعه، (Legocka و همکاران، ۲۰۱۵) گزارش دادند که پلی آمین‌های مرتبط با تیلاکوئید می‌توانند پاسخ دستگاه فتوسنتزی را در طول تنش سرب تنظیم کنند. (Taie و همکاران، ۲۰۱۹) یک همبستگی مثبت بین پلی آمین‌ها با خیساندن بذر یا محلول پاشی و تحمل گیاهان گندم به سرب پیدا کرد. با توجه به نتایج آنها، مناسب ترین روش پرایمینگ بذر با ۱ mM Put بود که در آن بهترین نتایج حاصل شد. به طور کلی، تیمار با پلی آمین‌ها رشد گیاه را تحت سمیت فلزی تحریک کرد و به وضعیت ردوکس بهتر سلول‌ها کمک کرد. علاوه بر این، تکه تکه شدن DNA ناشی از سرب توسط تیمارهای اعمال شده، همراه با کاهش جذب سرب خنثی شد. یک کار قبلی نیز با *T. aestivum* همچنین گزارش دادند که هر سه پلی آمین‌ها اصلی (Spm, Spd و Put) می‌توانند ابزار امیدوارکننده‌ای برای کاهش سمیت سرب در محصولات باشند و از حفظ هموستاز ردوکس سلولی و مهار جذب فلز حمایت کنند؛ و انباشت (Rady et al., 2016).

اثر بهبود بخش پلی آمین‌ها بر روی فلزات سنگین با القای سنتز پروتئین‌های خاص را می‌توان به نقش پلی آمین‌ها در افزایش تحمل گیاهان بادرنجبویه به فلزات سنگین نسبت داد (Abdulmajeed et al., 2022). نتایج تجربی نشان می‌دهد که تیمار



خارجی پلی آمین ها نقش مهمی در افزایش تحمل گیاهان بادرنجبویه در اندام هوایی در مقایسه با مقادیر کنترل متناظر آنها دارد. این اثرترمیم کننده ناشی از کاربرد برونزا از پلی آمین ها ممکن است به دلیل آن باشد: (۱) افزایش تولید فیتوکلانتین ها به ویژه در ریشه. (۲) افزایش دیواره سلولی و ذخیره واکوئولی این فلزات سنگین. (۳) افزایش سم زدایی فلزات سنگین با افزایش تجمع این فلزات در تریکوم های برگ و دمگل گیاهان گندم (Riyazuddin et al., 2021)؛ و (۴) تحت این تنش ها به عنوان یک آنتی اکسیدان کارآمد و پاک کننده رادیکال های آزاد عمل کرده و ترشحات ریشه را در خاک افزایش می دهد (Abdulmajeed et al., 2022).

در مطالعه حاضر گزارش دادیم که کاربرد پلی آمین ها خارجی اثرات نامطلوب تنش سرب بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه بادرنجبویه را کاهش داده و آنها را افزایش داد. این افزایش در تولید عملکرد توسط پلی آمین ها ممکن است به دلیل افزایش طول عمر اندام هوایی (برگ ها) باشد (Kaur et al., 2023; Rady et al., 2021). پلی آمین ها نقش بسیار مهمی در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی (مربوط به کیفیت عملکرد) مانند رشد اندام تولید مثل، غده زایی، شروع گل و رشد و رسیدن میوه دارند (Nandy et al., 2022).

فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم پلی فنل اکسیداز در تیمارهای پوترسین و اسپرمیدین افزایش نشان داد؛ اما افزایش در رابطه با تیمار کاتالاز معنادار نبود پلی آمین ها به عنوان مولکول های شبه هورمونی در این گیاه پارامترهای رشد و فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم پلی فنل اکسیداز و سایر مسیرهای فیزیولوژی را تحت تأثیر قرار می دهد از اینرو نتایج تیمار توام پلی آمین ها با سرب جهت تعدیل اثرات سرب تغییراتی را در طول و وزن خشک و تر گیاه نشان داد. همچنین، پلی فنل اکسیداز در تیمار توام افزایش یافت. به طور کلی نتایج نشان داد که پلی آمین ها نقش کاهش دهنده در اثرات سوء گیاه بادرنجبویه را کاهش دهد نکته قابل ذکر معنادار بودن همبستگی طول گیاه در سایر تیمارها بود که نشان دهنده مقاوم بودن نسبی این گیاه نسبت به استرس سرب در گیاه بود.

منابع

- Abdulmajeed, A.M., Alharbi, B.M., Alharby, H.F., Abualresh, A.M., Badawy, G.A., Semida, W.M. and Rady, M.M., 2022. Simultaneous action of silymarin and dopamine enhances defense mechanisms related to antioxidants, polyamine metabolic enzymes, and tolerance to cadmium stress in *Phaseolus vulgaris*. *Plants*, 11(22):3069.
- Abdulmajeed, A.M., Alharbi, B.M., Alharby, H.F., Abualresh, A.M., Badawy, G.A., Semida, W.M. and Rady, M.M., 2022. Simultaneous action of silymarin and dopamine enhances defense mechanisms related to antioxidants, polyamine metabolic enzymes, and tolerance to cadmium stress in *Phaseolus vulgaris*. *Plants*, 11(22):3069.
- Ali, R., Hassan, S., Shah, D., Sajjad, N., & Bhat, E. A. 2020. Role of polyamines in mitigating abiotic stress. Protective chemical agents in the amelioration of plant abiotic stress: biochemical and molecular perspectives, 291-305.
- Asija, S., Seth, T., Umar, S., & Gupta, R. 2023. Polyamines and their crosstalk with phytohormones in the regulation of plant defense responses. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(8): 5224-5246.
- Collin, S., Baskar, A., Geevarghese, D. M., Ali, M. N. V. S., Bahubali, P., Choudhary, R., ... & Swamiappan, S. 2022. Bioaccumulation of lead (Pb) and its effects in plants: A review. *Journal of Hazardous Materials Letters*, 100064.
- Dalyan, E., Yüzbaşıoğlu, E., & Akpınar, I. 2020. Physiological and biochemical changes in plant growth and different plant enzymes in response to lead stress. *Lead in plants and the environment*, 129-147.



- Ediriweera, A. N., Karunarathna, S. C., Yapa, P. N., Schaefer, D. A., Ranasinghe, A. K., Suwannarach, N., & Xu, J. 2022. Ectomycorrhizal mushrooms as a natural bio-indicator for assessment of heavy metal pollution. *Agronomy*, 12(5): 1041.
- Esmaeilzadeh-Salestani, K., Riahi-Madvar, A., Maziyar, M. A., Khaleghdoust, B., & Loit, E. 2021. Copper ion induced production of rosmarinic acid in lemon balm (*Melissa officinalis* L.) seedlings. *Сельскохозяйственная биология*, 56(3): 578-590.
- Faraji, P., Araj-Khodaei, M., Ghaffari, M., & Dolatabadi, J. E. N. (2021). Anticancer effects of *Melissa officinalis*: A traditional medicine. *Pharmaceutical Sciences*, 28(3): 355-364.
- Ivanišová, E., Kačániová, M., Savitskaya, T. A., & Grinshpan, D. D. 2021. Medicinal herbs: Important source of bioactive compounds for food industry. *Herbs and Spices—New Processing Technologies*.
- Kar, M. and Mishra, D., 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant physiology*, 57(2): pp.315-319.
- Karakus, Y. Y., Yildirim, B., & Acemi, A. 2021. Characterization of polyphenol oxidase from fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds as a promising source. *International Journal of Biological Macromolecules*, 170: 261-271.
- Kaur, Y. and Das, N., 2023. Roles of polyamines in growth and development of the Solanaceous crops under normal and stressful conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(8): pp.4989-5010.
- Legocka, J., Sobieszczuk-Nowicka, E., Wojtyła, L., & Samardakiewicz, S. 2015. Lead-stress induced changes in the content of free, thylakoid- and chromatinbound polyamines, photosynthetic parameters and ultrastructure in greening barley leaves. *Journal of Plant Physiology* 186–187, 15–24.
- Maehly, A. and Chance, B., 1954. Catalases and peroxidases. *Methods Biochem Anal*, 1, pp.357-424.
- Majumdar, A., & Kar, R. K. 2023. Polyamines and Their Metabolism Play Pivotal role in ROS-mediated Regulation of Early Root Growth in *Vigna Radiata* (L.) Wilczek. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-14.
- Nandy, S., Das, T., Tudu, C. K., Mishra, T., Ghorai, M., Gadekar, V. S., ... & Dey, A. 2022. Unravelling the multi-faceted regulatory role of polyamines in plant biotechnology, transgenics and secondary metabolomics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(3): 905-929.
- Nowicka, B., Hoque, T. S., Khatun, S. M., Naim, J., Hasan, A. K., & Hossain, M. A. 2023. Heavy-Metal-Induced Reactive Oxygen Species and Methylglyoxal Formation and Detoxification in Crop Plants: Modulation of Tolerance by Exogenous Chemical Compounds. *Heavy Metal Toxicity and Tolerance in Plants: A Biological, Omics, and Genetic Engineering Approach*, 461-492.
- Özmen, S., Tabur, S., Öney-Birol, S., & Özmen, S. 2022. The effect of exogenous spermine application on some biochemical and molecular properties in *hordeum vulgare* l. under both normal and drought stress. *Biologia*, 77(1): 193-202.
- Pacheco, D., Cotas, J., Pereira, L., & Bahcevandziev, K. 2023. A Possible Synergistic Approach: Case Study of Saccharina latissima Extract and Nitrifying Bacteria in Lettuce. *Journal of Marine Science and Engineering*, 11(9): 1645.
- Parham, S., Kharazi, A. Z., Bakhsheshi-Rad, H. R., Nur, H., Ismail, A. F., Sharif, S., ... & Berto, F. (2020). Antioxidant, antimicrobial and antiviral properties of herbal materials. *Antioxidants*, 9(12): 1309.
- Pasricha, S., Mathur, V., Garg, A., Lenka, S., Verma, K., & Agarwal, S. 2021. Molecular mechanisms underlying heavy metal uptake, translocation and tolerance in hyperaccumulators-an analysis: Heavy metal tolerance in hyperaccumulators. *Environmental Challenges*, 4, 100197.
- Rady, M.M., El-Yazal, M.A.S., Taie, H.A. and Ahmed, S.M., 2016. Response of wheat growth and productivity to exogenous polyamines under lead stress. *Journal of crop science and biotechnology*, 19, pp.363-371.
- RADY, M.M., EL-YAZAL, M.A.S., TAIE, H.A. and AHMED, S.M., 2021. Physiological and biochemical responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants to polyamines under lead stress. *Innovare Journal of Agricultural Sciences*, pp.1-10.
- Raj, K., & Das, A. P. 2023. Lead pollution: Impact on environment and human health and approach for a sustainable solution. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*.



- Riyazuddin, R., Bela, K., Poór, P., Szepesi, Á., Horváth, E., Rigó, G., ... & Csiszár, J. (2022). Crosstalk between the Arabidopsis glutathione peroxidase-like 5 Isoenzyme (AtGPXL5) and ethylene. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(10): 5749.
- Shah, A. A., Riaz, L., Siddiqui, M. H., Nazar, R., Ahmed, S., Yasin, N. A., ... & Chaudhry, O. 2022. Spermine-mediated polyamine metabolism enhances arsenic-stress tolerance in *Phaseolus vulgaris* by expression of zinc-finger proteins related genes and modulation of mineral nutrient homeostasis and antioxidative system. *Environmental Pollution*, 300, 118941.
- Shao, Z., Mwakidoshi, E. R., Muindi, E. M., Soratto, R. P., Ranjan, S., Padhan, S. R., ... & Gitari, H. I. 2023. Synthetic fertilizer application coupled with bioslurry optimizes potato (*Solanum tuberosum*) growth and yield. *Agronomy*, 13(8): 2162.
- Taie, H.A.A., Seif El-Yazal, M.A., Ahmed, S.M.A., & Rady, M.M. 2019. Polyamines modulate growth, antioxidant activity, and genomic DNA in heavy metal-stressed *wheat* plant. *Environmental Science and Pollution Research*, 26: 22338–22350.
- Talaat, N. B. 2023. Role of phytohormones in regulating abiotic stresses in *wheat*. In *Abiotic Stresses in Wheat* (pp. 111-130). Academic Press.
- Taneja, S.R. and Sachar, R.C., 1974. Induction of polyphenol oxidase in germinating *wheat* seeds. *Phytochemistry*, 13(12), pp.2695-2702.
- Ullah, M. A., & Hassan, A. (2022). Medicinal benefits of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) for human health. *World*, 1(01): 028-033.
- Yaashikaa, P. R., Kumar, P. S., Jeevanantham, S., & Saravanan, R. 2022. A review on bioremediation approach for heavy metal detoxification and accumulation in plants. *Environmental Pollution*, 301, 119035.



اثر عصاره آبی گیاه ختمی (*A. officinalis* L.) بر روی سلول های سرطانی پستان از طریق تغییر پتانسیل ردوکس

زهرا بهرام بیگی^۱، جواد محمدنژاد ارواق^۲، هانیه جعفری^{۱*}، فاطمه داوودی دهقانی^۳

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی علوم و تحقیقات، تهران. (hanieh.jafary@yahoo.com)

^۲ گروه نانوبیوتکنولوژی و بیومیمتیک، دانشکده مهندسی زیستی، دانشگاه تهران، تهران. (mohamadnejad@ut.ac.ir)

^۳ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران.

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان چالش عمده بهداشت جهانی است و نیاز به کشف عوامل درمانی جدید دارد. گیاه ختمی نوعی گیاه دارویی با ترکیبات فعال زیستی متنوع بوده و دارای خواص ضد سرطانی بالقوه است. این مطالعه به بررسی اثرات عصاره آبی گیاه ختمی بر زنده ماندن و تعادل ردوکس در سلول های سرطان پستان MCF-7 می پردازد.

روش ها: سلول های MCF-7 با غلظت های مختلف عصاره های آبی گیاه ختمی تیمار شدند. سمیت سلولی با استفاده از MTT و سنجش جذب قرمز خنثی ارزیابی شد. پتانسیل ردوکس از طریق ترشح اکسید نیتریک (NO)، محتوای گلو تاتیون احیاء شده (GSH) و سنجش فعالیت کاتالاز مورد ارزیابی قرار گرفت. مقادیر IC₅₀ نیز برای عصاره آبی تعیین شد.

یافته ها: عصاره آبی به طور معنی داری ($p < 0.0001$) زنده ماندن سلول های MCF-7 را به صورت وابسته به دوز کاهش داد و میزان IC₅₀ عصاره آبی ۳۴۸ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد. این عصاره به طور قابل توجهی آزادسازی NO را افزایش داد و سطوح GSH را کاهش داد، که نشان دهنده افزایش استرس اکسیداتیو است. فعالیت کاتالاز تحت تأثیر عصاره آبی قرار نگرفت ($p < 0.05$).

نتیجه گیری: عصاره آبی گیاه ختمی اثرات سیتوتوکسیک و اکسیدانی را بر روی سلول های MCF-7 نشان داد که احتمالاً به دلیل توانایی آن در تعدیل هومئوستاز ردوکس است. این یافته ها پتانسیل عصاره آبی گیاه ختمی به ویژه عصاره آبی آن را به عنوان یک کاندید امیدوارکننده برای درمان سرطان پستان برجسته می کند. مطالعات بیشتری برای جداسازی و شناسایی ترکیبات فعال و روشن ساختن مکانیسم های مولکولی آنها مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: پتانسیل ردوکس، سرطان پستان، سمیت سلولی، عصاره آبی گیاه ختمی.



۱. مقدمه

سرطان پستان یکی از چالش های بهداشت عمومی است که زنان را در سطح جهان تحت تاثیر قرار می دهد. این سرطان شایع ترین سرطان تشخیص داده شده است و دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در بین زنان در سراسر جهان است (Bray et al., 2018). انجمن سرطان آمریکا نشان داد که در سال ۲۰۲۴، تقریباً ۳۱۰۷۲۰ مورد جدید سرطان سینه مهاجم در زنان در ایالات متحده تشخیص داده شده است (Siegel et al., 2024). بروز سرطان سینه از نظر جغرافیایی متفاوت است و نرخ بالاتری در کشورهای غربی در مقایسه با کشورهای شرقی گزارش شده است. با این حال، شیوع سرطان سینه در کشورهای با درآمد کم و متوسط به سرعت در حال افزایش است که به تغییرات سبک زندگی، افزایش امید به زندگی و اتخاذ عادات غذایی غربی نسبت داده می شود (Bray et al., 2018). تحقیقات نشان می دهد که عوامل مختلفی در افزایش خطر ابتلا به سرطان سینه نقش دارند، از جمله عوامل جمعیت شناختی مانند سن، نژاد، وضعیت اجتماعی و اقتصادی، و همچنین استعدادهای ژنتیکی مانند جهش های BRCA را می توان اشاره کرد. تأثیرات هورمونی، از جمله سن قاعدگی، باروری، سن اولین بارداری و شیوه های شیردهی، در کنار عوامل سبک زندگی مانند رژیم غذایی، فعالیت بدنی، مصرف الکل و مصرف دخانیات نیز با افزایش خطر این بیماری مرتبط هستند (Lukasiewicz et al., 2021).

گیاه ختمی (*Althaea officinalis L.*) که معمولاً به عنوان گل ختمی شناخته می شود، یک گیاه علفی چند ساله است که در مناطقی از جمله آفریقا، اروپا، آسیا و روسیه یافت می شود. این گیاه در زیستگاه های متنوعی مانند سواحل دریاها، شوره زارها و مراتع مرطوب رشد می کند (Altan, 2013). در طول تاریخ، گیاهان دارویی و معطر جزء لاینفک طب سنتی بوده اند، اگرچه دانش دقیق از ترکیب آنها محدود بوده است. این گیاهان در رشته های مختلف از جمله پزشکی، داروسازی، شیمی، زیست شناسی و بیوتکنولوژی ارزش قابل توجهی دارند (Al-snafi, 2013). گیاه ختمی به دلیل کاربردهای درمانی متنوعش شناخته شده است که به عنوان مسکن درد، ضد سرفه، ادرار آور، التیام دهنده جراحت زخم و تقویت کننده سیستم ایمنی عمل می کند. بخش های مختلف گیاه از جمله ریشه، برگ و گل در سراسر جهان برای مصارف دارویی استفاده شده است (Elmastas et al., 2004). علاوه بر این، از آن به عنوان عامل ضد التهابی برای کاهش گاستریت خفیف، سوختگی پوست، نیش حشرات و زخم استفاده می شود. علاوه بر این، گیاه ختمی در صنایع غذایی کاربرد دارد (Changizi et al., 2015).

استرس اکسیداتیو عدم تعادل بین تولید رادیکال های آزاد و مخزن آنتی اکسیدانی بدن است که منجر به غلبه اکسیدان ها می شود (Burton et al., 2011). این آسیب اکسیداتیو با شرایط پاتولوژیک متعددی از جمله سرطان مرتبط است (Pham-huy la et al., 2008). ترکیبات فیتوشیمیایی متعددی مانند ترکیبات فنلی و فلاونوئیدهای جدا شده از گیاهان دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی هستند (Tungmunthum D et al., 2018). گیاه ختمی به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی و التهابی خود مشهور است (Tabarsa et al., 2017). مطالعات آزمایشگاهی نشان داده اند که عصاره گل گیاه ختمی با مهار رشد چندین سرطان از جمله سرطان سینه، ریه و پروستات دارای فعالیت ضد تکثیری است (Zhang et al., 2016). ترکیبات موجود در این گیاه، مانند کامفرول، جنیستین، اسید p-کوماریک، دایدزین و کورستین، اثرات خود را از طریق مسیرهای سیگنالینگ مانند PI3K/AKT/mTOR، MEK-ERK، PI3K-AKT/PKB و AMPK/p53 اعمال می کنند (Li Q et al., 2016).



(al., 2019). نشان داده شده است که این ترکیبات انواع تومورها از جمله تومورهای سینه، روده بزرگ، ریه، مغز و پوست را در هر دو مدل *in vitro* و *in vivo* سرکوب می کنند (Kaushik et al., 2019). بنابراین، در این مطالعه، هدف ما بررسی اثرات ضد سرطانی عصاره آبی گیاه ختمی بر روی رده سلولی سرطان پستان MCF-7، با پتانسیل ارائه یک رویکرد جدید برای درمان سرطان است.

۲. مواد و روش ها

2-1. جمع آوری گیاه

گیاه ختمی از استان تهران جمع آوری و توسط متخصص هرباریوم تایید شد. گیاهان جمع آوری شده با استفاده از پروتکل استاندارد شسته و تمیز و خشک شدند.

2-2. تهیه عصاره آبی گیاه ختمی

برای تهیه عصاره آبی، ۴۰ گرم پودر گل ختمی در ۵۰۰ میلی لیتر آب در دمای ۷۰-۸۰ درجه سانتی گراد خیسانده شد و به مدت ۲۴ ساعت در بن ماری در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. سپس، این مخلوط برای اطمینان از شفافیت صاف شده و خشک شد.

2-3. آزمون MTT

برای تعیین غلظت بهینه عصاره آبی گیاه ختمی و تعیین IC_{50} برای سلول های MCF-7، تیمارها با استفاده از غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره آبی انجام شد. سنجش MTT به دنبال پروتکل Mossman و همکاران انجام شد (Mosmann., 1983). به طور خلاصه، ۱۰^۴ سلول در هر چاهک در یک پلیت ۹۶ چاهکی کشت شد و با غلظت فوق از عصاره آبی تیمار شد. پلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد با ۵ درصد CO_2 و رطوبت ۸۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. پس از انکوباسیون، ۲۰ میکرولیتر رنگ MTT (۵ میلی گرم بر میلی لیتر) به هر چاهک اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای تسهیل تشکیل بلورهای آبی تیره (فورمازن) انکوبه شد. سپس محتویات هر چاهک دور ریخته شد و با PBS شسته شد و سپس ۲۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد. پلیت در تاریکی در دمای اتاق به مدت ۲ تا ۴ ساعت انکوبه شد تا بلورهای آبی حل شوند. در این آزمایش، سلول های تیمار نشده به عنوان کنترل مثبت، یک چاهک بدون سلول به عنوان کنترل منفی استفاده شد. جذب نوری چاهک ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت خوان (Biotek، ایالات متحده آمریکا) اندازه گیری شد. این روش در سه تکرار انجام شد و زنده ماندن سلول ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\% \text{ زنده مانی} = 100 \times (a/b)$$

'a' جذب نوری (OD) برای سلول های تیمار شده و 'b' جذب نوری سلول های تیمار نشده منهای جذب نوری چاهک خالی است.



4-2. آزمون قرمز خنثی

سنجش جذب قرمز خنثی یک روش استاندارد برای ارزیابی بقای سلول از طریق جذب رنگ در لیزوزوم است (Repetto et al., 2008). در این سنجش، سلول‌های MCF-7 با غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه ختمی تیمار شدند. پس از دوره تیمار، ۵ میکرولیتر رنگ قرمز خنثی (۵ میلی گرم بر میلی لیتر) به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد تا تشکیل کریستال‌های قرمز تسهیل شود. پس از انکوباسیون، محیط‌ها به دقت آسپیره شدند و ۱۰۰ میکرولیتر بافر حلال (اسید استیک ۵ درصد) به هر چاهک اضافه شد تا کریستال‌های قرمز حل شوند. سپس جذب با استفاده از میکروپلیت خوان Bio-Rad در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری شد. مرگ و میر سلولی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$[1 - (a/b) \times 100] \% = \text{مرگ و میر}$$

'a' برای سلول‌های تیمار شده و 'b' سلول‌های تیمار نشده منهای OD چاهک‌های خالی است.

5-2. آزمون‌های ردوکس

1-5-2. آزمون آزاد شدن اکسید نیتریک

دینگ و همکاران از این روش برای کمی سازی سطح NO آزاد شده در سلول‌های MCF-7 پس از تیمار استفاده کردند (Ding AH et al., 1950). در این مطالعه، سنجش NO در کنار سنجش گلو تاتیون احیاء شده (GSH) و کاتالاز انجام شد. به طور خلاصه، ۵ × ۱۰۵ سلول در هر چاهک یک پلین ۲۴ چاهکی کشت شد و یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس با غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی تیمار شدند. پس از ۲۴ ساعت، محیط‌ها در لوله‌های ۱.۵ میلی لیتری جدید جمع آوری شدند و سلول‌ها برای سنجش GSH و کاتالاز آماده شدند. پس از سانتریفیوژ در دور ۵۰۰g به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد، ۱۰۰ میکرولیتر از مایع رویی به یک پلیت ۹۶ چاهکی تازه منتقل شد. سپس مایع رویی با ۱۰۰ میکرولیتر از ۰.۰۴ گرم در میلی لیتر معرف Griss مخلوط شد. پلیت به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد و OD با استفاده از میکروپلیت خوان Bio-Rad در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری شد. غلظت اکسید نیتریک بر اساس منحنی استاندارد NO محاسبه شد و نتایج به صورت $\mu\text{M/ml}$ گزارش شد.

2-5-2. اندازه گیری محتوای گلو تاتیون احیاء شده (GSH)

ارزیابی سطح گلو تاتیون (GSH) با استفاده از روش Sedlak و Lindsay انجام شد (Sedlak et al., 1968). همانطور که در سنجش اکسید نیتریک (NO) توضیح داده شد، سلول‌های تحت تیمار برای تعیین کمیت GSH مورد استفاده قرار گرفتند. سلول‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد انکوبه شدند و سپس ۲۰۰ میکرولیتر از بافر لیز سرد شده به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. لیز سلولی کامل از طریق فراصوت به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه به دست آمد. لیزات به دست آمده در ۲۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و رسوب دور انداخته شد، در حالی که مایع رویی برای تعیین کمیت پروتئین از طریق روش برادفورد ذخیره شد (Kruger., 2009). مایع رویی نیز برای هر دو سنجش



GSH و کاتالاز استفاده شد. سپس اسید تری کلرواستیک (TCA، ۱۰٪) به حجم مساوی به هر میکروتیوب اضافه شد و به مدت ۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس نمونه ها در ۵۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی برای سنجش GSH و کاتالاز جمع آوری شد. برای تعیین کمیت GSH، اجزای زیر مخلوط شدند: نمونه (۲۰ میکرولیتر)، بافر لیز (۷۵ میکرولیتر)، بافر تریس (۵۵ میکرولیتر، pH ۸.۵، ۰.۰۲ مولار EDTA)، و ۵،۵'-دی تیو بیس-۲ (نیتروبنزوئیک اسید) (DTNB) (۲۵ میکرولیتر). میزان جذب با استفاده از میکروپلیت خوان Bio-Rad در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه گیری شد. سطح GSH در نمونه های تیمار شده و تیمار نشده بر حسب میکروگرم GSH در هر میلی گرم پروتئین با ضریب خاموشی مولی ۱۳۶۰۰ اندازه گیری شد.

3-5-2. اندازه گیری فعالیت کاتالاز

پس از تعیین کمیت پروتئین به روش برادفورد (Kruger., 2009)، از مایع رویی برای سنجش کاتالاز استفاده شد. برای ارزیابی فعالیت آنزیم کاتالاز، مواد زیر مخلوط شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه انکوبه شدند. نمونه (۱ μl)، بافر لیز (۵۰ μl) و ۱۵٪ پراکسید هیدروژن (۲۵ μl). سپس ۱۰۰ میکرولیتر دی کرومات پتاسیم (۰.۱ مولار، محلول در اسید استیک سرد) به نمونه ها اضافه شد و به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی گراد انکوبه شد. نمونه با حرارت دادن در آب داغ به رنگ سبز روشن در می آید. پس از آن، نمونه در دمای اتاق انکوبه شد و سپس OD در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط میکروپلیت خوان Bio-Rad تعیین شد.

3-6-2. مطالعات آماری

نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ بیان شد و تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism ۸ (La Jolla, CA, USA) انجام شد. برای ارزیابی اثرات غلظت های مختلف عصاره آبی گیاه ختمی در مقایسه با گروه کنترل، از آزمون ANOVA یک طرفه و سپس آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. تمام آزمایش ها حداقل سه بار برای تأیید پایداری و تکرارپذیری نتایج انجام شد.

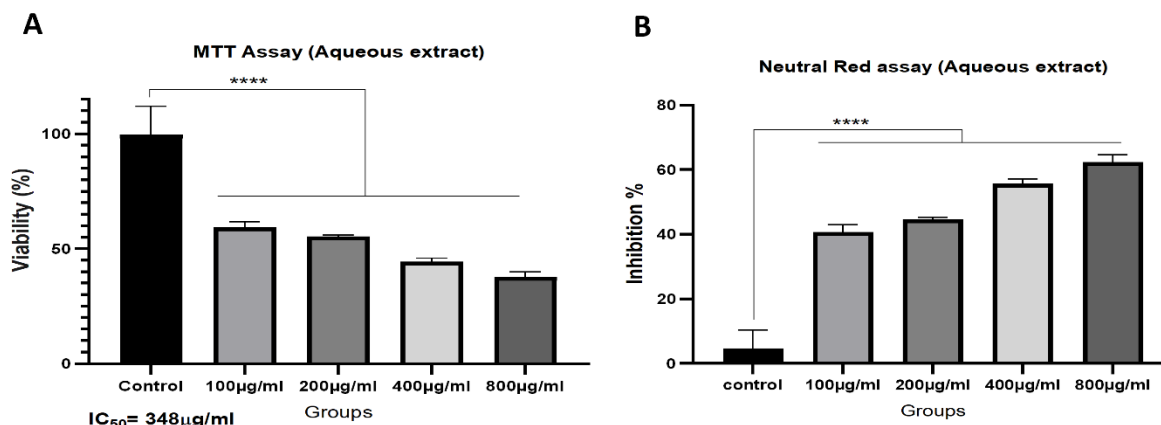
۳. نتایج

3-1. آزمون MTT

نتایج آزمون MTT نشان داد که تیمار سلول های MCF-۷ با عصاره آبی گیاه ختمی به طور قابل توجهی باعث کاهش زنده ماندن سلول های سرطانی شد. همانطور که در شکل ۱ بخش A نشان داده شده است، عصاره آبی گیاه ختمی به طور قابل توجهی ($p < 0.0001$) زنده ماندن سلول را در تمام دوزهای آزمایش شده کاهش داد. مقادیر IC_{50} محاسبه شده برای عصاره آبی ۳۴۸ میکروگرم بر میلی لیتر بود.

3-2. آزمون قرمز خشی

همانطور که در شکل ۱ بخش B داده شده است، نتایج سنجش جذب قرمز خشی، یافته های سنجش MTT را تایید می کند. نتایج نشان داد که عصاره آبی گیاه ختمی به طور قابل توجهی ($p < 0.0001$) زنده ماندن سلول MCF-7 را به صورت وابسته به دوز مهار می کند.



شکل ۱. بررسی سمیت سلولی عصاره آبی گیاه ختمی پس از تیمار با غلظت های مختلف از عصاره. (A) آزمون MTT نشان داد که تیمار با غلظت های ۱۰۰ تا ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر از عصاره بصورت معنی داری موجب کاهش زنده ماندن سلول ها شده است و نتایج تست قرمز خشی (B) نیز این نتایج را تایید می کند. **** $p < 0.001$

۳-۳. آزمون های ردوکس

3-3-1. آزمون آزاد شدن اکسید نیتریک

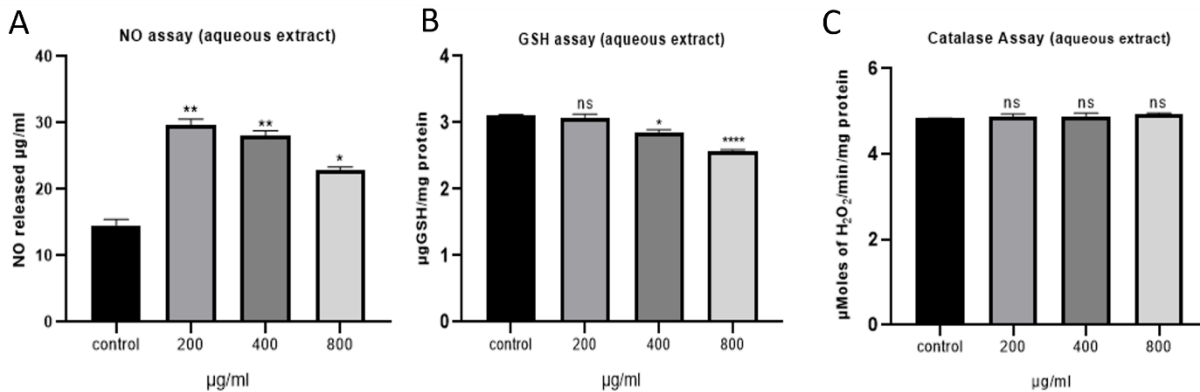
نتایج نشان داد که تیمار سلول های MCF-7 با عصاره آبی گیاه ختمی به طور قابل توجهی آزادسازی اکسید نیتریک (NO) را در محیط کشت در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد. در بین غلظت های آزمایش شده، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر اثرات بیشتری نسبت به میکروگرم بر میلی لیتر ۸۰۰ نشان دادند (شکل ۲ بخش A).

3-3-2. اندازه گیری محتوای گلوتاتیون احیاء شده (GSH)

همانطور که در شکل ۲ بخش B نشان داده شده است، تیمار با غلظت های ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره آبی گیاه ختمی به طور قابل توجهی باعث کاهش محتوای GSH در سلول های MCF-7 شد.

۳-۳-۳. اندازه گیری فعالیت کاتالاز

نتایج آزمون کاتالاز نشان داد که عصاره آبی گیاه ختمی بر فعالیت آنزیم کاتالاز تأثیری ندارد (شکل ۲ بخش C).



شکل ۲. آزمون های ردوکس در سلول MCF-7 (A) نتایج نشان داد که تیمار سلول های MCF-7 با عصاره آبی گیاه ختمی به طور قابل توجهی آزادسازی اکسید نیتریک (NO) را در محیط کشت در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد. (B) تیمار با غلظت های ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره آبی گیاه ختمی به طور قابل توجهی باعث کاهش محتوای GSH در سلول های MCF-7 شد. (C) نتایج آزمون کاتالاز نشان داد که عصاره آبی گیاه ختمی بر فعالیت آنزیم کاتالاز تام تأثیری ندارد.

۴. بحث و نتیجه گیری

این مطالعه به بررسی اثرات عصاره آبی گیاه ختمی بر پتانسیل ردوکس و زنده ماندن سلول های MCF-7 پرداخت. یافته های ما نشان داد که این عصاره اثرات قابل توجهی بر زنده ماندن و تعادل ردوکس سلولی دارد. نتایج سنجش MTT و سنجش جذب قرمز ختمی، اثرات سیتوتوکسیک عصاره آبی را بر روی سلول های MCF-7، با کاهش قابل توجه وابسته به دوز در زنده ماندن سلول تأیید کرد. مقدار IC₅₀ عصاره آبی ۳۴۸ میکروگرم بر میلی لیتر است. عصاره های آبی اغلب حاوی غلظت های بالاتری از ترکیبات آبدوست مانند فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک هستند که قبلاً گزارش شده بود که دارای خواص ضد سرطانی و پرواکسیدانی هستند (Batra P and Shrma, 2013) (Tatipamula et al., 2021) در زمینه پتانسیل ردوکس، عصاره آبی به طور قابل توجهی آزادسازی اکسید نیتریک (NO) را افزایش داد. افزایش تولید NO توسط عصاره آبی ممکن است به فعالیت ضد سرطانی آن کمک کند، زیرا NO باعث القای آپوپتوز و اختلال در عملکرد میتوکندری در سلول های سرطانی می شود (Kamm A et al., 2019). با این حال، سطوح بیش از حد NO همچنین می تواند استرس اکسیداتیو را افزایش دهد و به طور بالقوه آسیب سلولی را تشدید کند (Sadiq IZ., 2023). تیمار با عصاره آبی به طور قابل توجهی سطوح GSH را کاهش داد. GSH یک آنتی اکسیدان حیاتی است که هموستاز ردوکس سلولی را حفظ می کند. تخلیه آن توسط عصاره آبی ممکن است منعکس کننده افزایش استرس اکسیداتیو باشد که منجر به افزایش آپوپتوز در سلول های MCF-7 می شود (Marengo B et al., 2016). عصاره آبی اثر معنی داری بر فعالیت کاتالاز نداشت. کاتالاز یک آنزیم کلیدی در سم زدایی پراکسید هیدروژن، یک گونه اکسیژن فعال (ROS) است که در طی استرس اکسیداتیو تولید می شود (Ighodro O et al., 2018).



این یافته‌ها با مطالعات قبلی که پتانسیل ضد سرطانی گیاه ختمی و ترکیبات فیتوشیمیایی آن را گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد. حلال‌های آبی معمولاً ترکیبات قطبی را استخراج می‌کنند و بنابراین ترکیبات موثر در القای مرگ سلولی را در دسترس قرار داده‌اند.

عصاره آبی گیاه ختمی اثرات سیتوتوکسیک و پرواکسیدانی خوبی را روی سلول‌های MC-7 نشان داد که احتمالاً به دلیل توانایی آن در کاهش GSH و افزایش سطح NO است. این یافته‌ها نشان می‌دهد که عصاره گیاه ختمی به ویژه عصاره آبی، ممکن است به عنوان یک عامل ضد سرطانی که تعادل اکسیداسیون و احیاء را در سلول‌های سرطان سینه هدف قرار می‌دهد، پتانسیل داشته باشد. مطالعات آتی باید بر شناسایی ترکیبات زیست فعال خاص مسئول این اثرات و روشن ساختن مکانیسم‌های مولکولی زیربنایی آنها تمرکز کنند.

منابع

- Al-Snafi AE. The pharmaceutical importance of *Althaea officinalis* and *Althaea rosea*: A review. Int J Pharm Tech Res. 2013;5(3):1387-5.
- Altan A. Özel Gıdalar Teknolojisi, 3. baskı Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel Yayın No: 178. Adana; 2001.
- Batra P, Sharma AK. Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives. 3 Biotech. 2013;3:439-59.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians. 2018;68(6):394-424.
- Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. Best practice research Clinical obstetrics
- Changizi Ashtiyani S, Yarmohammadi P, Hosseini N, Salehi I, Ramazani M. The effect of *Althaea officinalis*. L root alcoholic extract on blood sugar level and lipid profiles of streptozotocin induced-diabetic rats. Iranian Journal of Endocrinology Metabolism. 2015;17(3):238-50.
- Ding AH, Nathan CF, Stuehr D. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. Comparison of activating cytokines and evidence for independent production. Journal of immunology (Baltimore, Md: 1950). 1988;141(7):2407-12.
- Elmastas M, Ozturk L, Gokce I, Erenler R, Aboul-Enein HY. Determination of antioxidant activity of marshmallow flower (*Althaea officinalis* L.). Analytical letters. 2004;37(9):1859-69.
- gynaecology. 2011;25(3):287-99.
- Ighodaro O, Akinloye O. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria journal of medicine. 2018;54(4):287-93.
- Kadhun HH, Abd AH, Al-Shammari AM. Anti-Proliferative Activity of *Althaea Officinalis* Extracts on Iraqi Breast Cancer Cell Line AMJ13. Iraqi Journal of Medical Sciences. 2021;19.(۲)
- Kamm A, Przychodzen P, Kuban-Jankowska A, Jacewicz D, Dabrowska AM, Nussberger S, et al. Nitric oxide and its derivatives in the cancer battlefield. Nitric oxide. 2019;93:102-14.
- Kaushik S, Shyam H, Agarwal S, Sharma R, Nag TC, Dwivedi AK, et al. Genistein potentiates Centchroman induced antineoplasticity in breast cancer via PI3K/Akt deactivation and ROS dependent induction of apoptosis. Life sciences. 2019;239:117073.
- Kruger NJ. The Bradford method for protein quantitation. The protein protocols handbook. 2009:17-24.
- Li Q, Wei L, Lin S, Chen Y, Lin J, Peng J. Synergistic effect of kaempferol and 5-fluorouracil on the growth of colorectal cancer cells by regulating the PI3K/Akt signaling pathway. Molecular medicine reports. 2019;20(1):728-34.



- Lukasiewicz S, Czezelewski M, Forma A, Baj J, Sitarz R, Stanisławek A. Breast cancer—epidemiology, risk factors, classification, prognostic markers, and current treatment strategies—an updated review. *Cancers*. 2021;13(17):4287.
- Marengo B, Nitti M, Furfaro AL, Colla R, Ciucis CD, Marinari UM, et al. Redox homeostasis and cellular antioxidant systems: crucial players in cancer growth and therapy. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016;2016(1):6235641.
- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*. 1983;65(1-2):55-63.
- Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*. 2008;4(2):89.
- Repetto G, Del Peso A, Zurita JL. Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. *Nature protocols*. 2008;3(7):1125-31.
- Sadiq IZ. Free radicals and oxidative stress: Signaling mechanisms, redox basis for human diseases, and cell cycle regulation. *Current Molecular Medicine*. 2023;23(1):13-35.
- Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*. 1968;25:192-205.
- Siegel RL, Giaquinto AN, Jemal A. Cancer statistics, 2024. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2024;74.(1)
- Tabarsa M, Anvari M, Joyner HS, Behnam S, Tabarsa AJ. Rheological behavior and antioxidant activity of a highly acidic gum from *Althaea officinalis* flower. *Food Hydrocolloids*. 2017;69:432-9.
- Tatipamula VB, Kukavica B. Phenolic compounds as antidiabetic, anti-inflammatory, and anticancer agents and improvement of their bioavailability by liposomes. *Cell biochemistry and function*. 2021;39(8):926-44.
- Tungmunnithum D, Thongboonyou A, Pholboon A, Yangsabai A. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines*. 2018;5(3):93.
- Zhang Y, Kong F, Zhang L, Li C, Zhang R. Modulatory effect of *Althaea officinalis* L root extract on cisplatin-induced cytotoxicity and cell proliferation in A549 human lung cancer cell line. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2016;15(12):2647-52.



بررسی اثرات کادمیم بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بنيه بذر گیاه دارویی پنیرک (*Malva sylvestris* L.)

صدیقه اسدی دولت آباد^۱، طهماسب آسمانه^{۱*}، حمیدرضا بلوچی^۲

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یاسوج، یاسوج (asemaneh@yu.ac.ir)

^۲ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج

چکیده

امروزه آلودگی فلزات سنگین در خاک‌ها، به عنوان یک مشکل عمده‌ی زیست محیطی، بر سلامت انسان، موجودات زنده، تولیدات کشاورزی و زیست‌بوم اثر دارد. یکی از فلزات سنگین موجود در طبیعت کادمیم می‌باشد که به علت سمیت بالا و حلالیت زیاد در آب، یک آلاینده قوی محسوب می‌گردد. گرچه کادمیم برای رشد گیاهان عنصری ضروری نیست، ولی به راحتی جذب گیاه شده و باعث بروز سمیت می‌شود. مقاومت و حساسیت گیاهان به کادمیم، بسته به نوع گونه گیاهی متفاوت است. گیاه پنیرک (*Malva sylvestris* L.)، گیاه دارویی ارزشمندی است که در طب سنتی ایران در درمان بسیاری از بیماری‌ها کاربرد دارد و در گستره‌ی وسیعی از زیستگاه‌ها با احتمال آلودگی کادمیم، رویش دارد. در این پژوهش، به منظور ارزیابی پاسخ‌های این گیاه به تنش کادمیم، جوانه‌زنی بذر و بنيه‌ی این گیاه تحت تیمار سطوح صفر، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر کادمیم، در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی، در اتاقک رشد، بررسی گردید. بررسی نتایج نشان داد که تیمار کادمیم، شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌ها را به طور معنی داری کاهش داد که خود نشان‌دهنده‌ی عدم مقاومت این گیاه به کادمیم در مراحل اولیه استقرار می‌باشد.

واژگان کلیدی: پنیرک، تنش کادمیم، جوانه‌زنی بذر، گیاه دارویی



۱. مقدمه

در دهه های اخیر، آلودگی خاک با فلزات سنگین به دلیل سمی بودن و تجزیه ناپذیری آن ها به یک مسئله زیست محیطی مهم تبدیل شده است (Briffa et al., 2020). کادمیم به عنوان یکی از سمی ترین فلزات سنگین، از طریق فعالیت های انسانی و صنعتی از جمله روکش کاری فلزی، تولید پلاستیک، معدنکاری، استفاده از مواد رنگی، آماده سازی آلیاژها، باتری هایی که حاوی کادمیم هستند، و نیز ورود فاضلاب های شهری و خانگی و کشاورزی، به محیط زیست وارد می شود (Kabata-pendias, 2001; Moradi et al., 2005; Jaishankar et al., 2014). جذب کادمیم توسط گیاهان می تواند منجر به تجمع آن در زنجیره غذایی انسان شود. سمیت کادمیم فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی حیاتی در گیاهان، از جمله هموستازی گونه های فعال اکسیژن (ROS)، فعالیت های آنزیمی، فتوسنتز و جذب مواد مغذی را مختل می کند و منجر به توقف رشد و کاهش زیست توده می شود. با افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن در گیاهان، باعث ایجاد تنش اکسیداتیو و کاهش رشد و عملکرد آن ها می شود (Sun et al., 2024). به عنوان مثال، در تحقیقی بر روی گیاه ریحان، تیمار کادمیم منجر به کاهش وزن خشک ریشه و ساقه، طول ریشه و ساقه، و سطح برگ شد؛ در حالی که میزان پرولین و قندهای محلول افزایش یافت (آقای و همکاران، ۱۳۹۸).

البته گونه های مختلف گیاهی در برابر آلودگی خاک با فلزات سنگین واکنش های متفاوتی را از خود نشان می دهند. برخی از گونه های گیاهی به مقدار معینی از فلزات سنگین در خاک مقاوم بوده، توانایی جذب و تثبیت آنها در بافت های درونی خود را دارند (Arduini et al., 1994). جلوگیری از جذب کادمیم توسط ریشه های گیاه می تواند یک استراتژی مهم در به حداقل رساندن اثرات سوء زیستی این عنصر باشد (Kolelia et al., 2004).

سازوکارهایی که منجر به مقاومت در برابر فلزات سنگین می شوند را می توان به سازوکار اجتنابی و سازوکار تحمل تقسیم کرد. اجتناب، منجر به محدودیت های جذب کادمیم می شود. سازوکار تحمل گیاه، شامل جمع آوری و ذخیره ی کادمیم از طریق پیوند آن با آمینواسیدها، پروتئین ها و پپتیدها می شود (Pál et al., 2006). از دیگر سازوکارهایی که گیاهان جهت سازگاری با آسیب ناشی از کادمیم به کار می برند استفاده از برخی مولکول های تنشی از قبیل؛ اسید سالیسیلیک، اسید جاسمونیک، اسید نیتريت و اتیلن است. تمامی این مواد، به وسیله ی تیمار کادمیم القا می شوند که نشان می دهد در کار واکنش به سمیت کادمیم شرکت (Popova et al., 2012). برخی از گیاهان، در خاک های آلوده به کادمیم، زنده مانده، رشد کرده و بالغ می شوند. این گیاهان قابلیت مقاومت بالایی در بافت ها و ارگان های سلولی شان نشان می دهند. از سازوکارهای مقابله با سمیت کادمیم می توان به جذب و توزیع کادمیم نام برد، روشی که با عنوان "بیش انباشتگری" تعریف شده است. از طرف دیگر برخی از گیاهان، آنتی اکسیدان ها را افزایش داده تا از نابودی سلول ها و بافت ها جلوگیری کنند (Rascio and Navari-Izzo, 2011). اثرات کادمیم بر روی جوانه زنی جوانه زنی و بنیه بذر، بسته به دوز کادمیم، خواص محیط، گونه ها و ژنوتیپ های گیاهی و مرحله نمو گیاه، متفاوت است (Marcia et al., 2023).

پنیرک گیاهی است علفی، متعلق به خانواده ی Malvaceae، که ازدیاد آن از طریق بذر صورت می گیرد و ارزش غذایی و دارویی بالایی دارد. این گیاه در سراسر مناطق معتدل، نیمه حاره ای و حاره ای آفریقا، آسیا و اروپا گسترش یافته است. برخی



از گونه‌های پنیرک به طور معمول به عنوان غذا مصرف می‌شود (Celka and Ddrapikowska, 2008). از پنیرک در پزشکی سنتی در تسکین درد و التهاب، التیام زخم و بهبود اختلالات کلیوی و عوارض پوستی و در مقابله با میکروارگانیزم‌های مختلف از جمله ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها استفاده شده است و بخش‌های هوایی آن دارای ارزش غذایی و علوفه‌ای هستند. ترکیبات اصلی گیاه پنیرک، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می‌باشند و حضور مالوین، دلفینیدین، مالویدین، بتاکاروتن، سیانین، تانن‌ها، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، موسیلاژ و به ویژه آنتی اکسیدان‌ها در این گیاه، عامل خواص ضد اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد ویروسی و ضد دردی و اثر بر بهبود التهاب است که در تحقیقات آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (شکراللهی و حشمتی، ۱۳۹۵). از آنجایی که این گیاه با پراکنش گسترده در محیط‌هایی با احتمال آلاینده‌گی بالا با فلزات سنگین از جمله کادمیم رشد می‌کند، در مطالعه حاضر، پاسخ‌های اولین مراحل چرخه زندگی این گیاه به تنش کادمیم مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. جمع‌آوری بذر گیاه پنیرک

نمونه‌های بذری گیاه پنیرک طبق روش‌های استاندارد انجمن بین‌المللی بذر (ISTA, 2011)، از رویشگاه‌های طبیعی یاسوج (طول جغرافیایی: ۵۱ درجه و ۵۶ دقیقه و عرض جغرافیایی: ۳۰ درجه و ۷۱ دقیقه و ارتفاع از سطح دریا ۱۸۷۰ متر)، بابا میدان (طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۹ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۱۶ دقیقه و ارتفاع از سطح دریا ۱۰۰۰ متر) در استان کهگیلویه و بویراحمد و اصفهان (طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۶۵ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۶۳ دقیقه و ارتفاع از سطح دریا ۱۵۷۰ متر) در اواخر بهار تا اوایل تابستان جمع‌آوری گردید. پس از خشک کردن، بوجاری، و حذف بذور پوک، از این بذور جهت انجام تحقیق استفاده گردید.

۲-۲. جوانه‌زنی

ابتدا بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شدند. سپس ۲ بار با آب مقطر شستشو داده شدند. جهت جوانه‌زنی بر روی کاغذ صافی در پتری‌دیش‌های با قطر ۱۰ سانتی‌متر قرار داده شدند. سپس با بررسی منابع علمی مختلف، غلظت‌های صفر، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر کادمیم انتخاب و تیمار گردیدند. سطوح مختلف تیمار، غلظت‌های مختلف کادمیم بوده که به ترتیب معادل غلظت‌های صفر، ۳۴، ۶۸، ۱۳۷ و ۲۴۷ میلی گرم بر لیتر سولفات کادمیم می‌باشد. پتری-دیش‌ها در دستگاه ژرمیناتور مدل JALTEB، در شرایط محیطی: رطوبت نزدیک به ۹۰ درصد، تناوب نوری (۸ ساعت نور و ۱۶ ساعت تاریکی) و دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

در آزمایش مورد اشاره تعداد بذوری که جوانه زده و ایجاد گیاهچه سالم نمودند، به طور مرتب در طول مدت ۱۵ روز آزمایش، شمارش گردیدند. با استفاده از رابطه: $GP = \frac{Ni}{S} \times 100$ درصد جوانه‌زنی محاسبه گردید که در این رابطه: Ni آزمایش، شمارش گردیدند. با استفاده از رابطه: $SG = \sum \frac{ni}{Di}$ سرعت جوانه‌زنی از رابطه: $SG = \sum \frac{ni}{Di}$ محاسبه شد. در این رابطه



ni، تعداد بذره‌های جوانه زده در روزهای شمارش، و Di، تعداد روز پس از شروع آزمایش می‌باشد. شاخص بنیه بذر (VI) نیز، با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (ISTA, 2011):

$$VI = (\text{mm}) \times \text{میانگین طول گیاهچه} / 100$$

همچنین در پایان آزمایش، طول گیاهچه و وزن تر نیز محاسبه گردید. کلیه عملیات آزمایشگاهی در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی و آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور غلظت کادمیم و جمعیت بدر انجام شد. آزمایش در سه تکرار و هر تکرار شامل ۵۰ عدد بذر هر یک از جمعیت‌ها، انجام گرفت. آنالیز آماری داده‌ها که دارای توزیع نرمال بودند با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گردید، از آنالیز واریانس چند راهه برای بررسی معنی دار بودن اثر عوامل و اثر متقابل آنها و از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد برای مقایسه میانگین اثرات معنی دار استفاده شد.

۳. نتایج

جدول ۱، تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر شاخص‌های جوانه‌زنی جمعیت‌های (یاسوج، بابا میدان و اصفهان) گیاه پنیرک را نشان می‌دهد.

جدول ۱- آنالیز واریانس اثر پنج سطح کادمیم (صفر، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ میلی گرم بر لیتر)، برای درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، وزن تر گیاهچه، طول گیاهچه و شاخص بنیه سه جمعیت بذری گیاه پنیرک (*Malva sylvestris* L.).

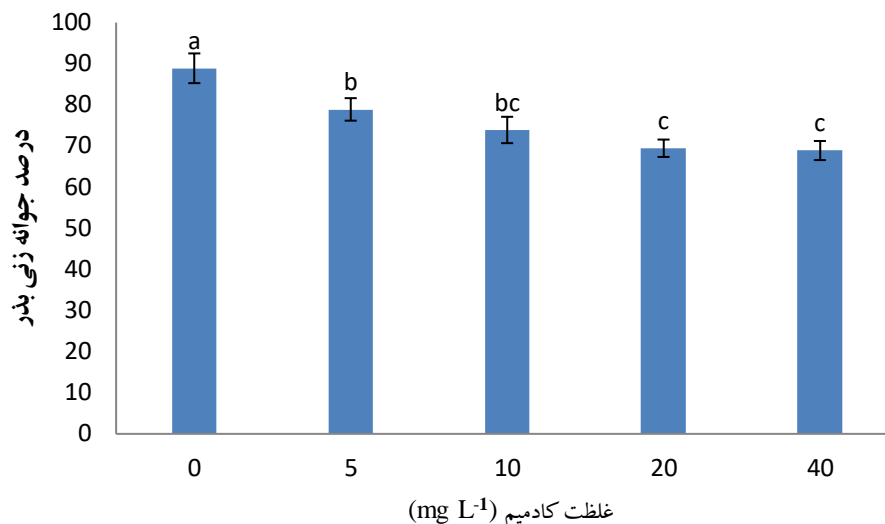
میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	وزن تروزی تر گیاهچه	طول گیاهچه	شاخص بنیه
تیمار (غلظت سولفات کادمیم)	۴	۶۱۳/۱**	۴۵/۱**	۰/۰۶۳*	۳۳۸۹/۹**	۲۷۴۵/۱**
جمعیت	۲	۴۰۱/۷**	۴۳/۸**	۰/۰۸۲*	۱۳۸/۷ ^{ns}	۱۷۸/۰۳ ^{ns}
تیمار X جمعیت	۸	۲۷۱/۲ ^{ns}	۲۱/۶ ^{ns}	۰/۰۳۸ ^{ns}	۱۰۱۵/۸ ^{ns}	۸۶۸/۹ ^{ns}
خطا	۴۴	۵۲/۸	۳/۲۰۵	۰/۰۱۴	۲۷/۰۲	۴۳/۹

* و ** به ترتیب در سطح ۵ و ۱ درصد معنی دار و ^{ns} غیر معنی دار می‌باشد.

مطابق جدول ۱، اثر تیمار کادمیم بر همه‌ی شاخص‌های ذکر شده در بالا، معنی دار بوده در صورتیکه اثر جمعیت فقط بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر و وزن تر گیاهچه‌ی پنیرک اثر معنی داری داشت. علاوه بر این، اثر متقابل جمعیت و تیمار برای تمامی شاخص‌ها نیز، معنی دار نمی‌باشد. بنابراین، در ادامه (نمودارهای ۱ تا ۸)، مقایسه تفکیکی اثرات معنی دار به عمل آمده است.

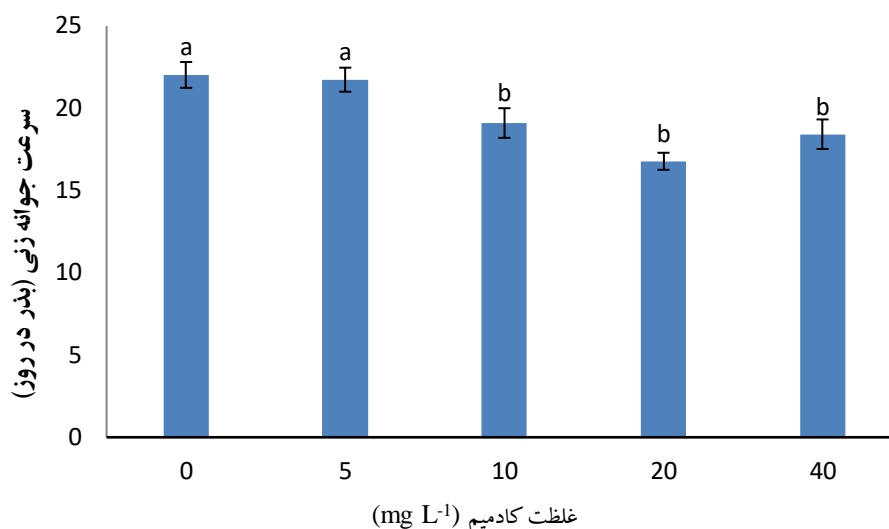


بر طبق شکل ۱، که اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر درصد جوانه‌زنی بذر گیاه پنیرک را نشان می‌دهد، افزایش میزان کادمیم موجب کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذر این گیاه (۱۱ تا ۲۲ درصد) نسبت به شاهد گردیده است. با بررسی این اثر مشاهده می‌شود که کم‌ترین و بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی بذر (۸۹ و ۶۹ درصد)، به ترتیب در سطوح صفر و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم بدست آمد. هم‌چنین بین اثر برخی از سطوح مختلف تیمار نیز، اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید.



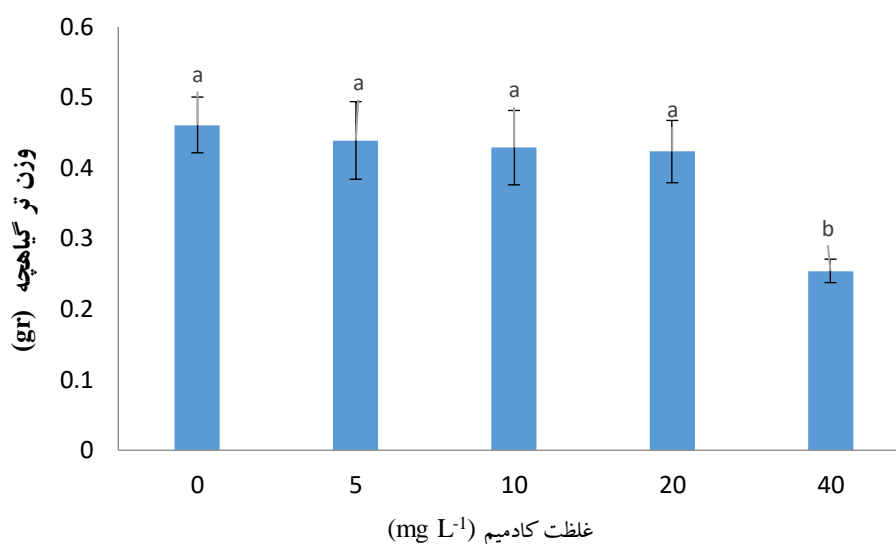
شکل ۱- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر میانگین درصد جوانه‌زنی بذر گیاه پنیرک (*Malva sylvestris* L.). هر عدد میانگین ۳ تکرار \pm SE می‌باشد، حروف غیرمشترک نشان می‌دهد اثر تیمارهای مختلف بر درصد جوانه‌زنی بذر براساس آزمون دانکن معنی‌دار می‌باشد ($P \leq 0.05$).

مطابق شکل ۲ که اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر میانگین سرعت جوانه‌زنی بذر گیاه پنیرک را نشان می‌دهد، سطح ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم و بالاتر بر خلاف سطح ۵ این تیمار، موجب کاهش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی بذر این گیاه (تا حدود ۲۴ درصد) نسبت به شاهد گردیده است. هم‌چنین بین اثر سطوح ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیم بر این شاخص بذر، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نگردید.



شکل ۲- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر میانگین سرعت جوانه‌زنی بذر گیاه پنیرک (*Malva sylvestris* L.). هر عدد میانگین ۳ تکرار \pm SE می‌باشد. حروف غیر مشترک نشان می‌دهد که اثر تیمارهای مختلف بر این شاخص بذر، براساس آزمون دانکن معنی‌دار می‌باشد ($P \leq 0.05$).

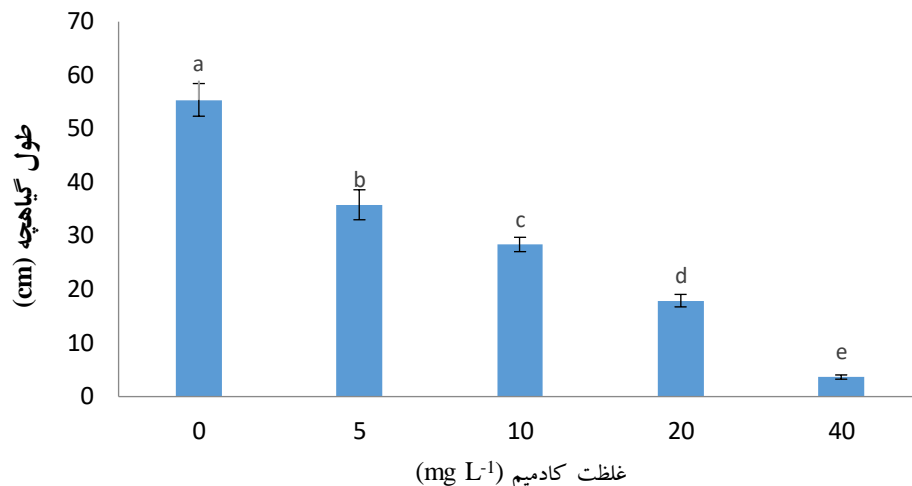
مطابق شکل ۳ که اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر وزن تر گیاهچه‌ی پنیرک را نشان می‌دهد، غلظت ۴۰ میلی گرم بر لیتر کادمیم موجب کاهش معنی‌دار وزن تر این گیاهچه‌ها (حدود ۴۵ درصد) نسبت به شاهد گردیده است. اثر سطوح پایین تر این تیمار (۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر لیتر کادمیم)، بر این شاخص معنی‌دار نمی‌باشد.



شکل ۳- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر میانگین وزن تر گیاهچه‌ی پنیرک (*Malva sylvestris* L.). هر عدد میانگین ۳ تکرار \pm SE می‌باشد. حروف غیر مشترک نشان می‌دهد که اثر تیمارهای مختلف بر وزن تر گیاهچه بر اساس آزمون دانکن معنی‌دار می‌باشد ($P \leq 0.05$).

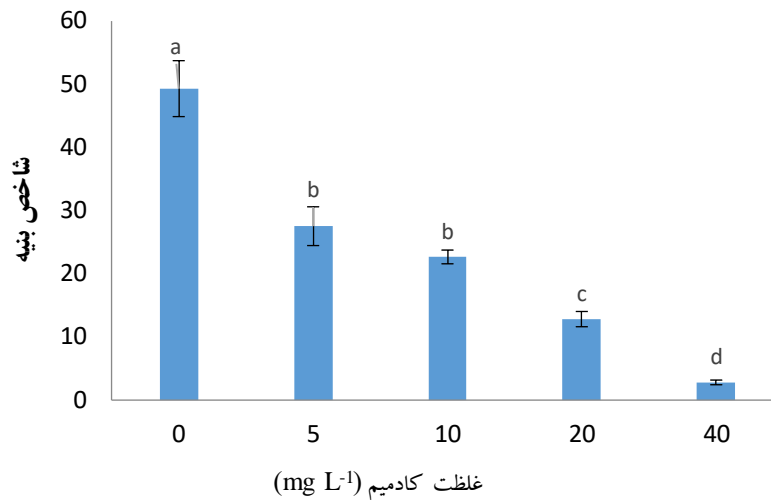


بر طبق شکل ۴ که اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر طول گیاهچه‌های پنیرک را نشان می‌دهد، افزایش میزان کادمیم موجب کاهش معنی‌دار طول گیاهچه (از حدود ۳۵ تا ۹۳ درصد) نسبت به شاهد گردید. با بررسی این اثر مشاهده می‌شود که غلظت‌های ۵ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر کادمیم به ترتیب، باعث کم‌ترین و بیش‌ترین کاهش طول گیاهچه پنیرک در قیاس با شاهد شده‌اند. هم‌چنین بین اثر سطوح مختلف تیمار بر این شاخص نیز، در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید.



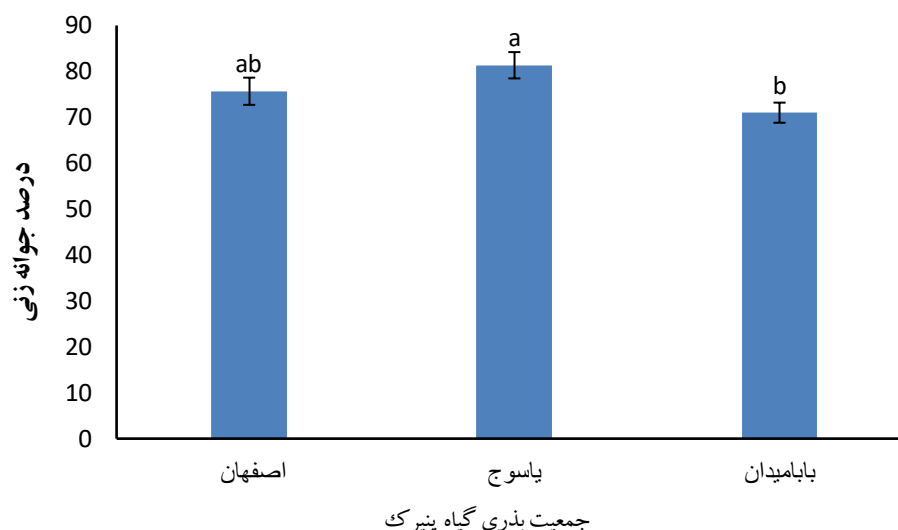
شکل ۴- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر میانگین طول گیاهچه‌ی پنیرک (*Malva sylvestris* L.). هر عدد میانگین ۳ تکرار \pm SE می‌باشد، حروف غیر مشترک نشان می‌دهد اثر تیمارهای مختلف بر طول گیاهچه بر اساس آزمون دانکن معنی‌دار می‌باشد ($P \leq 0.05$).

مطابق شکل ۵، که اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر شاخص بنیه‌ی بذر گیاه پنیرک را نشان می‌دهد، افزایش میزان کادمیم موجب کاهش معنی‌دار شاخص بنیه‌ی (از حدود ۴۴ تا ۹۴ درصد) نسبت به شاهد گردیده است. با بررسی این اثر مشاهده می‌شود که غلظت‌های ۵ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر کادمیم به ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین اثرگذاری را بر کاهش شاخص بنیه‌ی بذر این گیاه داشته است. هم‌چنین بین اثر سطوح مختلف تیمار، به جز سطوح ۱۰ و ۵ میلی گرم بر لیتر کادمیم بر این شاخص نیز، اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد مشاهده گردید.



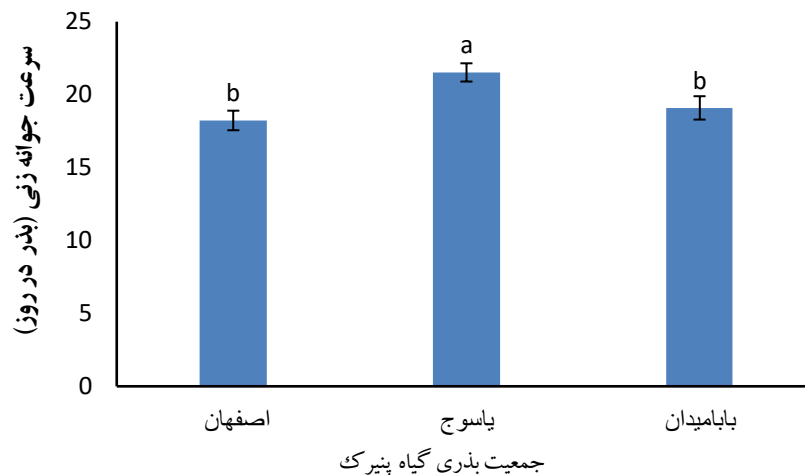
شکل ۵- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر میانگین شاخص بینه‌ی بذر گیاه پنیرک (*Malva sylvestris* L.). هر عدد میانگین ۳ تکرار \pm SE می‌باشد، حروف غیرمشترک نشان می‌دهد اثر تیمارهای مختلف بر شاخص بینه بر اساس آزمون دانکن معنی‌دار می‌باشد ($P \leq 0.05$).

بر طبق شکل ۶، میانگین درصد جوانه‌زنی جمعیت‌های یاسوج و بابا میدان در سطح آماری ۵ درصد، دارای اختلاف معنی‌دار بوده، درحالی‌که این شاخص دو جمعیت فوق با جمعیت بذری اصفهان، فاقد اختلاف معنی‌دار است. جمعیت‌های یاسوج و بابا میدان به ترتیب، بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی بذر (۸۱/۳ و ۷۱) را دارا بودند.



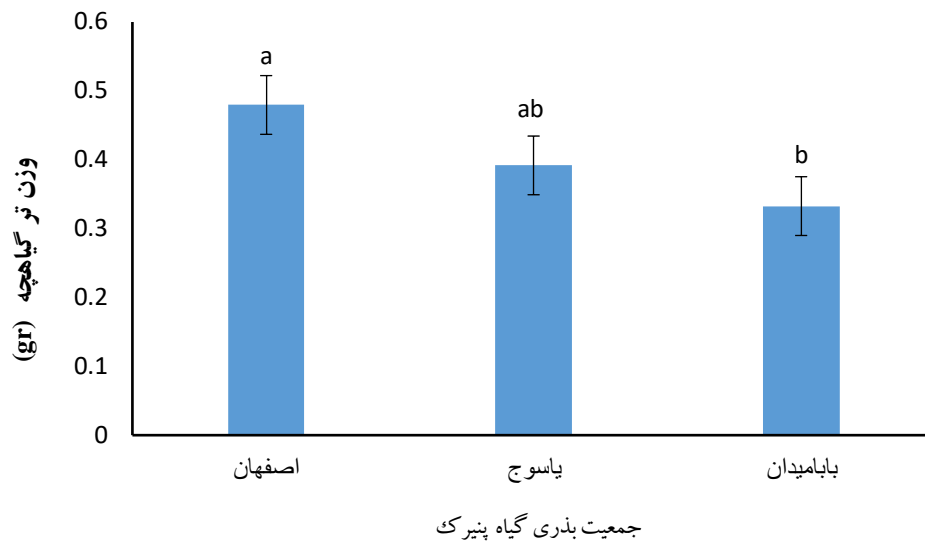
شکل ۶- مقایسه اثر جمعیت بر میانگین درصد جوانه‌زنی بذر پنیرک (*Malva sylvestris* L.). هر عدد میانگین ۹ تکرار \pm SE می‌باشد، حروف غیرمشترک نشان دهنده اثر جمعیت‌های مختلف بر درصد جوانه‌زنی بر اساس آزمون دانکن معنی‌دار می‌باشد ($P \leq 0.05$).

بر طبق شکل ۷، میانگین سرعت جوانه زنی در جمعیت های اصفهان و یاسوج و همچنین یاسوج و بابا میدان در سطح آماری ۵ درصد، دارای اختلاف معنی دار بوده، در حالیکه شاخص مورد نظر در دو جمعیت بذری اصفهان و بابا میدان، فاقد اختلاف معنی دار است. همچنین، بیشترین و کمترین سرعت جوانه زنی بذر (۲۱/۵ و ۱۸/۲) به ترتیب در جمعیت های یاسوج و اصفهان قابل مشاهده می باشد.



شکل ۷- مقایسه اثر جمعیت بر میانگین سرعت جوانه زنی بذر پنیرک (*Malva sylvestris* L.). هر عدد میانگین ۹ تکرار \pm SE می باشد، حروف غیرمشترک نشان دهنده اثر جمعیت های مختلف بر سرعت جوانه زنی براساس آزمون دانکن معنی دار می باشد ($P \leq 0.05$).

بر طبق شکل ۸، میانگین وزن تر گیاهچه پنیرک در جمعیت های اصفهان و بابا میدان در سطح آماری ۵ درصد، دارای اختلاف معنی دار بوده، در حالیکه شاخص فوق در جمعیت های بذری اصفهان و یاسوج و همچنین یاسوج و بابا میدان، فاقد اختلاف معنی دار در سطح آماری مورد نظر می باشد. جمعیت های بذری اصفهان و بابا میدان به ترتیب، بیشترین و کمترین وزن تر گیاهچه بذری (۰/۴۸ و ۰/۳۳) را دارا می باشند.



شکل ۸- مقایسه اثر جمعیت بر میانگین وزن تر گیاهچه پنیرک (*Malva sylvestris* L.). هر عدد میانگین ۹ تکرار \pm SE می باشد، حروف غیر مشترک نشان دهنده اثر جمعیت های مختلف بر وزن تر بر اساس آزمون دانکن معنی دار می باشد ($P \leq 0.05$).

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش غلظت کادمیم باعث کاهش صفات جوانه زنی از جمله طول گیاهچه، شاخص بنیه بذر، سرعت جوانه زنی و درصد جوانه زنی و بنیه گیاهچه گردید. نتایج فوق را می توان با شواهد و مدارک ذیل تایید و یا تفسیر کرد:

مشابه نتایج این تحقیق، یعنی کاهش وزن زی توده ناشی از وجود غلظت بالای کادمیم در محیط ریشه، از طرف برخی محققین دیگر نیز گزارش شده است (Jiang et al., 2004; Shenker et al., 2001). در بررسی تأثیر سطوح مختلف کادمیم بر گیاه *Phyllanthus amarus* نشان داده شد که کادمیم باعث کاهش چشم گیر در وزن و طول گیاه گردید (Rai et al., 2005). کاهش رشد یکی از اولین اثرات کادمیم بر گیاهان است. اختلال در رشد می تواند به دلایلی مانند کاهش آب سلول و کشسانی دیواره سلول باشد (Costa and Spitz, 1997). اختلال در تعادل آبی گیاه به دلیل کاهش جذب عناصر غذایی ضروری مانند منیزیم، آهن، کلسیم و پتاسیم ایجاد می شود (Gussarsson et al., 1996). کاهش رشد ممکن است به طور کلی به علت کاهش فعالیت میتوزی و یا مهار طولی شدن سلول ها باشد (Shah et al., 2008). همچنین کادمیم در سلول ها از طریق تأثیر بر دیواره های سلولی و تیغه میانی و افزایش پیوند عرضی بین ترکیبات دیواره سلولی باعث مهار گسترش سلولی می شود (Hassan et al., 2006). کاهش وزن خشک در حضور کادمیم ناشی از کاهش جذب آب و کاهش جذب عناصر (Faizan et al., 2011). کاهش انتقال عناصر غذایی به اندام هوایی نسبت به ریشه می باشد (Gouia et al., 2001). شاخص بنیه یکی از ویژگی های تعیین کننده کیفیت بذر می باشد که آلودگی به کادمیم آن را کاهش می دهد. شاخص بنیه روی کیفیت بذرها از طریق جوانه زنی نهایی و طول گیاهچه تأثیر می گذارد. بذرهایی که دارای شاخص بنیه بالاتری هستند، تنش های محیطی



را بهتر تحمل می کنند. هم چنین علاوه بر داشتن درصد جوانه زنی بالا، گیاهچه های قوی و عادی تولید می کنند (ربیعی و بیات، ۱۳۸۸). یک دلیل برای کاهش رشد گیاهچه ها در اثر تیمار با فلزات سنگین که در این تحقیق نیز بارز بود، می تواند در نتیجه کاهش سلول های مریستمی در ناحیه غشای سلولی و برخی آنزیم ها در کوتیلدون و آندوسپرم باشد. در شرایط طبیعی سلول ها فعال شده و شروع به تجزیه ی ذخایر غذایی می کنند. این غذا به فرم محلول تبدیل شده و به واسطه آنزیم آمیلاز، که نشاسته را به قند تبدیل می کند و عمل پروتئازی بر روی پروتئین ها دارد، به ریشه های اولیه و نوک ریشه ها منتقل می شود. بنابراین وقتی فعالیت آنزیم های هیدرولیتیک به واسطه عناصر سنگین تحت تأثیر قرار می گیرند غذا به ریشه های اولیه و اندام هوایی نمی رسد و در نتیجه طول گیاهچه ها را تحت تأثیر قرار می دهند (Kabir et al., 2008).

تفاوت شاخص های جوانه زنی جمعیت های مختلف گیاه پنیرک در پژوهش حاضر، می تواند ناشی از تفاوت در توده های بذری آنها باشد. این تفاوت ممکن است بخاطر تشکیل بذرها در شرایط محیطی مختلف باشد. به نظر می رسد، رشد گونه های گیاهی با ژنوم مشابه در شرایط محیطی مختلف، باعث شده که پتانسیل های بذری شان با هم متفاوت باشد. شرایط اقلیمی و خاکی، می تواند بر ویژگی های بذری از جمله میزان ذخیره بذر، رطوبت بذر و وزن هزاردانه اثر داشته باشد. با توجه به نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت های مختلف کادمیم بر جوانه زنی سه جمعیت گیاه پنیرک، می توان دریافت که واکنش شاخص های جوانه زنی (درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی و شاخص بنيه بذر) و رشد اولیه گیاهچه ها به کاربرد کادمیم منفی بوده که خود نشان دهنده ی عدم مقاومت گیاه پنیرک در مراحل اولیه استقرار گیاه در حضور کادمیم می باشد.

منابع

- آقائی، ک.، راه خسروانی، ب.، مغاللو، ل.، و قطبی راوندی، ع. ۱۳۹۸. بررسی اثر تجمع کادمیم بر برخی ویژگی های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.). فرآیند و کارکرد گیاهی، ۸ (۳۳): ۱۰۷-۱۲۲
- ربیعی، ب.، و بیات، م. ۱۳۸۸. بررسی شاخص های جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه ارقام کلزا، با استفاده از آزمون های بنيه بذر. مجله علوم گیاهان زراعی ایران، ۴: ۹۳-۱۰۴.
- عبداللهی، ش.، و حشمتی، غ. ۱۳۹۵. مروری بر جنبه های مختلف گیاه دارویی پنیرک (*Malva sylvestris*) و یافته های تحقیقات نوین. نشریه دانشکده علوم پزشکی نیشابور. ۱۰: ۸-۱۰

- Arduini, I., Godbold, D. A., and Onnis, A. (1994). Cadmium and Copper change root growth and morphology of *Pinus pinea* and *Pinus pinaster* seedling. *Physiologia Plantarum*, 92: 675-680.
- Briffa, J., Sinagra, E. and Blundell, R. (2020). Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, 6(9): e04691. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04691>
- Celka, Z., and Drapikowska, M. (2008). Relics of cultivation in Central Europ, *Malva alcea* L. as an example. *Vegetation History and Archaeobotany*, 17: 251-255.
- Costa, G., and Spitz, E., (1997). Influence of cadmium on soluble carbohydrates, free amino acids, protein content of in vitro cultured *Lupinus Albus*. *Plant Science.*, 128: 131-140
- Faizan, S., Kausar, S., and Perveen, R. (2011). Varietal differences for cadmium-induced seedling mortality, foliar toxicity symptoms, plant growth, proline and nitrate reductase activity in chickpea (*Cicer arietinum* L). *Biology and Medicine*, 3(2): 196-206
- Gouia, H., Ghorbal, M. H., and Meyer, C. (2001). Effect of cadmium on activity of nitrat reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. *Plant Physiology*, 38: 629-638.



- Gussarsson, M., Asp, H., Adalsteinsson, S., and Jensen, P. (1996). Enhancement of cadmium effects on growth and nutrient composition of birch (*Betula Pendula*) by buthionine sulfoximine (BSO). *Journal of Botany*, 47: 211-215.
- Hassan, M. J., Zhu, Z., Ahmad, B., and Mahmood, Q. (2006). Influence of cadmium toxicity on rice genotypes as affected by zinc, sulfur and nitrogen fertilizers. *Caspian Journal Environment Science*, 4(1): 1-8.
- ISTA (2011). *International Rules for Seed Testing*. International Seed Testing Assemblage, Bassersdorf, Switzerland.
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B.B., and Beeregowda, K.N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7(2): 60-72.
- Jiang, X. J., Luo, Y. M., Liu, Q., Liu, S. L., and Zhao, Q. G. (2004). Effects of cadmium on nutrient uptake and translocation by Indian Mustard. *Environment Geochemistry and Health*, 26: 319-324.
- Kabata-Pendias, A. (2001). *Trace elements in soils and plants*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Kabir, M., Iqbal, M. Z., Shafiq, M., and Farooqi, Z. R. (2008). Reduction in germination and seedling growth of the *Spesial populnea* L. caused by lead and cadmium treatments. *Pakistan Journal Botany*, 40: 2419-2426.
- Kolelia, N., Ekerb, S., Cakmak, I. (2004). Effect of zinc fertilization on cadmium toxicity in durum and bread wheat grown in zinc-deficient soil. *Environment Pollution*, 131: 453- 459.
- Moradi, A., Abbaspour, K., C., and Afyuni, M. (2005). Modelling field-scale cadmium transport below the root zone of a sewage sludge amended soil in an arid region in Central Iran. *Journal of Contaminant Hydrology*, 79: 187–206.
- Rai, V. S., Khatoon, S., Bisht, S., and Mehrotra, S. (2005). Effect of cadmium on growth, ultramorphology of leaf and secondary metabolites of *phylanthus amarus* schum and thonn. pharmacognosy and Ethnopharmacology Division, National Botanical Research Institute, 61(11): 1644-1650.
- Rascio, N., and Navari-Izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science.*, 180: 169–181.
- Shah, F. R. N., Ahmad, K. R., Masood, and Zahid, D. M., (2008). The influence of cadmium and chromium on the biomass production of shisham (*Dalbergia sissoo* ROXB.) seedlings. *Pakistan Journal Botany*, 40(4): 1341-1348.
- Shenker, M., Fan, T. W. M., and Crowley, D. E. (2001). Phytosiderophores influence on cadmium mobilization and uptake by wheat and barley plants. *Journal of Environment Quality*, 30: 2091-2098.
- Soni, S., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Sharma, P. (2024). Mitigating cadmium accumulation and toxicity in plants: The promising role of nanoparticles. *Science of The Total Environment*, 912: 168826. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168826>



ارزیابی ریسک گسترش آلودگی صنعتی بر روی گیاهان دارویی با استفاده از رویکرد اکولوژی انسانی

فائزه حسین زاده^{۱*}، سید محمود هاشمی^۱

^۱ گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، گیلان. (faezehhosseinzadeh3@gmail.com)

چکیده

این مقاله به بررسی خطرات گسترش آلودگی های صنعتی و تأثیر آن بر گیاهان دارویی با رویکرد اکولوژی انسانی می پردازد. گیاهان دارویی به عنوان بخشی حیاتی از اکوسیستم و فرهنگ جوامع محلی، نقش مهمی در سلامت انسان و اقتصاد منطقه ای ایفا می کنند. آلودگی های ناشی از فعالیت های صنعتی به عنوان یک گام مهم در حفظ محیط زیست در نظر گرفته شده و بر سلامت گیاهان و اکوسیستم ها تأثیرات منفی دارد. با توجه به اهمیت حضور گیاهان دارویی در طب سنتی و صنعت، ارزیابی اثرات آلودگی های صنعتی بر آن ها ضروری است. تحقیقات بر روی برگ و ریشه های گیاهان دارویی نشان داده است که این آلودگی علاوه بر کاهش تنوع زیستی، منجر به کاهش دسترسی جوامع به منابع دارویی و افزایش خطرات سلامتی شده است. در نهایت، راهکارهایی مبتنی بر مشارکت جامعه و سیاست گذاری یکپارچه برای کاهش ریسک ارائه شده است به طور کلی، این تحقیق ضرورت تدابیر حفاظتی برای کاهش تأثیرات منفی آلودگی های صنعتی بر گیاهان دارویی و حفظ پایدار این منابع را نشان می دهد. این مطالعه بر ضرورت ادغام دو رویکرد اکولوژی کاربردی (احیای اکوسیستم ها) و اکولوژی انسانی (توانمندسازی جوامع) در برنامه ریزی کلان ملی تأکید می کند. هدف اصلی این تحقیق، ارزیابی ریسک گسترش آلودگی های صنعتی بر روی گیاهان دارویی با استفاده از رویکرد اکولوژی انسانی است.

واژگان کلیدی: آلودگی صنعتی، اکولوژی انسانی، عناصر سنگین، گیاهان دارویی



۱. مقدمه

گیاهان دارویی نه تنها به عنوان ذخایر ژنتیکی، بلکه به عنوان بخشی از میراث فرهنگی و اقتصادی جوامع محلی شناخته می شوند. با این حال، توسعه سریع صنایع و عدم مدیریت صحیح پسماندها، موجب انتشار آلاینده های سمی در محیط های طبیعی شده است. رویکرد اکولوژی انسانی با تمرکز بر تعاملات انسان-محیط، چارچوبی جامع برای تحلیل این چالش ارائه می دهد. (رضوی، س. و همکاران).

با افزایش فعالیت های صنعتی و توسعه اقتصادی در دهه های اخیر، آلودگی های زیست محیطی به یکی از چالش های اساسی جوامع تبدیل شده است. آلودگی ناشی از صنایع مختلف، مخصوصاً در کشورهای در حال توسعه، به تأثیرات نامطلوبی بر اکوسیستم های طبیعی و سلامت گیاهان دارویی انجامیده است. گیاهان دارویی، به عنوان منابع ارزشمند دارویی، به طور عمده تحت تأثیر عوامل آلودگی قرار دارند که می تواند منجر به کاهش کیفیت و اثر بخشی آنها گردد. گیاهان دارویی ایران با بیش از ۲۳۰۰ گونه ثبت شده، نه تنها نقش کلیدی در حفظ تنوع زیستی ایفا می کنند، بلکه منبع درآمد برای جوامع محلی و ماده اولیه صنایع داروسازی هستند. با این حال، گسترش صنایع سنگین و عدم مدیریت صحیح پساب ها و انتشار گازهای آلاینده، این منابع را در معرض خطر قرار داده است. رویکرد اکولوژی کاربردی با تمرکز بر راهکارهای عملی احیای اکوسیستم ها و اکولوژی انسانی با بررسی تأثیرات اجتماعی-اقتصادی آلودگی، چارچوبی جامع برای ارزیابی ریسک و برنامه ریزی پایدار ارائه می دهد. (خلیلی، ع. و همکاران).

ایران بر اساس شرایط اقلیمی و جغرافیایی دارای طیف وسیعی از تنوع گیاهان دارویی بوده و در گذشته منبع مصرف و استفاده از گیاهان دارویی به عنوان یک فرهنگ عامیانه باستانی بوده است.

کشور ایران دارای شرایط آب و هوایی متنوعی می باشد و دارای ۱۱ اقلیم از ۱۳ اقلیم جهانی است. این امر خود موجب تنوع رشد گیاهان مختلف از جمله گیاهان دارویی شده است با توجه به این موضوع که وضعیت آب و هوایی و نوع خاک هر منطقه حدود گونه خاص دارویی را تعیین میکند. بنابراین تنوع گیاهان دارویی کشور ایران زیاد است.

می توان گفت یکی از چالش های اساسی در صنعت گیاهان دارویی حفظ حقوق زیست محیطی و جلوگیری از آلودگی های ناشی از صنایع مخرب وابسته به آن است.

تحقیقات متعدد نشان می دهند که آلودگی های شیمیایی و فیزیکی، به ویژه ناشی از صنایع شیمیایی، نفت و گاز، و معدنی، مواد مغذی و عناصر پراکنده در خاک و آب را تحت تأثیر قرار می دهند. این تغییرات نه تنها بر تنوع زیستی بلکه بر کیفیت گیاهان دارویی نیز تأثیر می گذارد. آمارها نشان می دهند که افزایش غلظت آلاینده ها در محیط زیست به طور مستقیم بر ترکیب فیتوشیمیایی و ارزش دارویی این گونه ها نیز اثر می گذارد. گیاهان دارویی نسبت به مواد غذایی پر توقع نبوده و مطلب مهم اینکه نیاز آبی کمی دارند و از طرفی برخی از آنها در برابر شوری خاک و آلودگی زیست محیطی مقاوم هستند و دوام و عمر طولانی و سازگاری و استقامت بالایی دارند.

گروهی از گیاهان دارویی در برابر آلودگی های هوا، گرد و غبار، اشعه ماوراء بنفش و آلودگی صوتی تحمل خوبی از خود نشان می دهند. انواع رز مثل گل محمدی دی اکسید گوگرد را در اجزای خود تثبیت می کنند. اقاچیا پمدار و فندق در



کاهش شدت آلودگی صوتی بسیار موثر است و گل سرخ و داتوره فلوراید اطراف کارخانجات را جذب کرده و نسبت به آن تحمل نشان می دهند. گیاه نم‌دار (زیر فون) به اوزن متحمل است. گیاهان دارویی مانند افاقیا، اکالیپتوس، داتوره، پنجد پرزاری، اسطوخودوس، گل محمدی، کرچک (قرمز) و ختمی دارای حدود تحمل نسبتاً خوبی به شوری، خشکی و قلیایی بودن خاک هستند. و گیاه ژینکو نسبت به آلودگی هوا تحمل زیادی دارد.

آلودگی معادن یک مشکل زیست محیطی مهم است که ناشی از انتشار آلاینده ها در محیط در طول فعالیت های معدنی است. این آلاینده ها شامل فلزات سنگین، متالوئیدها، زهکشی معادن اسیدی و سایر مواد خطرناک هستند (Nkuna et al., 2022; Kalisz et al., 2022). معادن باعث آسیب های شدیدی مانند تخریب کیفیت آب، تنوع زیستی آبریان و خطرات بالقوه سلامت انسان می شود (Shu et al., 2023; Banerjee et al., 2023).

آلودگی فلزات سنگین یک نگرانی زیست محیطی مهم در سطح جهان است که اغلب در خاک و آب به دلیل فعالیت های صنعتی یافت می شود. گیاهان درمانی به دلیل ویژگی های درمانی و توانایی آنها در جذب این آلاینده ها شناخته می شوند. این مطالعه بررسی می کند که قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین چگونه ترکیب شیمیایی و اثربخشی گیاهان دارویی را در برابر سلول های سرطانی تغییر می دهد.

با این حال، گزارش های کمی در مورد تسلط گونه ها در مناطق آلوده، وضعیت آلودگی پوشش گیاهی و ارتباط بین گونه ها و آلودگی محیطی وجود دارد. بنابراین، بررسی فلزات سنگین در خاک و پوشش گیاهی سایت های آلوده در مناطق معدنی و تسلط گونه ها برای اصلاح مکان های آلوده از اهمیت عملی برخوردار است.

باطله ها و سرباره زباله های آلوده به فلزات سنگین از طریق شستشو و انتقال آب باران وارد آب های سطحی و زیرزمینی می شوند (Fei et al., 2017). هنگامی که آلاینده های فلزات سنگین وارد بدنه های آبی می شوند، بر اجزای اکوسیستم هایی که در آن توزیع شده اند تأثیر می گذارند. هنگامی که تجمع در موجودات به مقدار معینی می رسد، اختلالات فیزیولوژیکی، رکود رشد یا حتی مرگ می تواند رخ دهد که منجر به تخریب یا فروپاشی ساختار و عملکرد کل اکوسیستم آبی می شود (سان و ژو، ۲۰۰۲).

در ارزیابی ریسک و گسترش آلودگی صنعتی، تأثیرات منفی آلودگی ها بر اکوسیستم ها و به ویژه بر روی گیاهان دارویی بررسی می شود. این آلودگی ها می توانند شامل آلاینده های شیمیایی، فلزات سنگین و مواد زائد صنعتی باشند که به خاک و آب های محیط زیست نفوذ می کنند. گیاهان دارویی که به دلیل خواص درمانی و غذایی خود ارزشمند هستند، به شدت تحت تأثیر این آلودگی ها قرار می گیرند، زیرا ریشه ها و برگ های آنها قادر به جذب این مواد مضر هستند.

با توجه به اهمیت گیاهان دارویی در طب سنتی و داروسازی مدرن، درک بهتر از تأثیرات آلودگی های صنعتی به ویژه در مناطق آلوده، نیازمند بررسی های جامع تر و علمی تر است. بنابراین، این تحقیق با هدف ارزیابی تأثیر آلودگی های صنعتی بر گیاهان دارویی، به ویژه با رویکرد اکولوژی انسانی، جریان های آلودگی و نحوه تأثیر آنها بر سلامت و تنوع گیاهان دارویی را مورد بررسی قرار می دهد.



رویکرد اکولوژی انسانی به بررسی تعاملات پیچیده بین انسان و طبیعت می‌پردازد و می‌تواند به درک بهتر چگونگی تاثیر آلودگی صنعتی بر گیاهان دارویی کمک کند. با بررسی این تعاملات، می‌توان استراتژی‌هایی برای کاهش آلودگی و حفاظت از گیاهان دارویی توسعه داد. این رویکرد می‌تواند شامل حفظ تنوع زیستی، استفاده پایدار از منابع طبیعی و ارتقاء آگاهی جامعه درباره اهمیت حفاظت از محیط زیست باشد.

استفاده از رویکرد اکولوژی انسانی در مطالعه گیاهان دارویی چگونه می‌تواند به درک بهتر تعاملات بین انسان و محیط زیست کمک کند و تأثیرات آلودگی‌های صنعتی بر این گیاهان را روشن‌تر سازد. این رویکرد به تأثیرات متقابل میان انسان، گیاهان و اکوسیستم‌ها توجه می‌کند و بر ابعاد اجتماعی، فرهنگی و اقتصادی بهره‌برداری از منابع طبیعی تأکید دارد. در ادامه، چند جنبه کلیدی از کاربرد این رویکرد در مورد گیاهان دارویی مطرح می‌شود:

۱. فهم استفاده‌های محلی از گیاهان دارویی: رویکرد اکولوژی انسانی به بررسی چگونگی استفاده جوامع محلی از گیاهان دارویی و تأثیرات این استفاده‌ها بر اکوسیستم‌ها می‌پردازد. این شامل شناخت شیوه‌های سنتی و دانش بومی دربارهٔ استفاده از گیاهان مختلف برای درمان بیماری‌ها است. پژوهش در این زمینه می‌تواند به شناسایی گونه‌های در خطر و نیازمندی‌های حفاظتی کمک کند.

۲. تأثیرات اجتماعی و اقتصادی: بررسی جنبه‌های اقتصادی و اجتماعی رابطه انسان و گیاهان دارویی می‌تواند به درک بهتر تأثیرات آلودگی‌های صنعتی بر این گیاهان کمک کند. شناخت تغییرات در تقاضای بازار برای گیاهان دارویی به دلیل آلودگی، می‌تواند منجر به اقداماتی برای حفاظت از این منابع شود.

۳. آسیب‌پذیری در برابر آلودگی: رویکرد اکولوژی انسانی به اثرات آلودگی‌های صنعتی بر سلامت گیاهان دارویی و عملکرد آنها توجه می‌کند. این تأثیرات می‌تواند شامل تغییر در مواد شیمیایی موثر بر رشد گیاهان و در نهایت اثرات منفی بر سلامت انسان‌ها باشد. مطالعات به کمک این رویکرد می‌تواند به شناسایی نوع و میزان آلودگی‌های تأثیرگذار کمک کند.

۴. توسعه راهکارهای پایدار: با در نظر داشتن پیوندهای میان انسان، گیاهان دارویی و محیط زیست، این رویکرد می‌تواند به طراحی و اجرای راهکارهای پایدار برای حفاظت از گیاهان دارویی کمک کند. این شامل روش‌های کشاورزی پایدار، حفظ محیط‌های طبیعی و ارتقاء آگاهی اجتماعی درباره اهمیت حفظ گیاهان دارویی می‌شود.

۵. تجزیه و تحلیل تبادل اطلاعات: رویکرد اکولوژی انسانی می‌تواند به درک بهتر چگونگی انتقال اطلاعات و دانش از نسل به نسل در جوامع محلی کمک کند. این تبادل دانش می‌تواند در فهم استفاده صحیح از منابع طبیعی و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی مؤثر باشد.

اهداف خاص این تحقیق عبارتند از:

۱. بررسی مسیرهای ورود آلاینده‌ها به گیاهان دارویی:

محیط رشد گیاهان (خاک و آب و بهسازی‌های آلی و معدنی در خاک) دچار آلودگی شود، با جذب آلاینده‌ها خصوصیات مفید این گیاهان تبدیل به اثرات مخرب در سلامتی انسان شده و آسیب‌های جبران‌ناپذیری را در سطح جامعه به بار خواهد آورد.



۲. شناسایی آلاینده‌های صنعتی اصلی که گیاهان دارویی را تهدید می‌کنند:

آلودگی خاک‌ها و آب‌ها و به تبع آنها گیاهان، با فلزات سنگین یکی از مسائل مهم زیست محیطی است. در صورتی که این گیاهان جزو گیاهان دارویی باشند، مقادیر اضافی یون‌های فلزی، سلامت انسان‌ها را تهدید می‌کنند.

۳. ارزیابی ریسک انتقال آلاینده‌ها از گیاهان دارویی به انسان و محیط زیست: .

با توجه به افزایش استفاده از کودهای شیمیایی، سموم و آفت‌کش‌های مختلف برای افزایش عملکرد محصولات کشاورزی از یک طرف و توسعه شهرنشینی و فعالیت‌های صنعتی و همچنین مکان برداشت نامعلوم گیاهان دارویی در ایران، عدم نظارت و نبود مقررات ملی برای جمع‌آوری گیاهان طبیعی و احتمال جمع‌آوری از مکان‌های آلوده به فلزات سنگین ممکن است در مواردی این عناصر در گیاهان دارویی انباشته شوند.

۴. ارائه پیشنهادات برای کاهش ریسک آلودگی و حفاظت از گیاهان دارویی:

اقدامات نظارتی کافی و کنترل کیفیت گیاهان دارویی و محصولات فرآوری شده آنها در کشور باید انجام شود.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. چارچوب نظری

این مقاله مروری به بررسی تأثیرات آلودگی‌های صنعتی بر گیاهان دارویی می‌پردازد. چارچوب نظری این تحقیق بر پایه ادبیات موجود در زمینه آلودگی، تنوع زیستی و خواص دارویی گیاهان استوار است. نظریه‌های اکولوژیکی و اقتصادی به عنوان اساس موضوعات مورد بررسی قرار می‌گیرند و توجه خاصی به ارتباط بین سلامت محیط زیست و سلامت عمومی معطوف می‌شود.

۲-۲. روش جمع‌آوری

برای جمع‌آوری داده‌های مربوط به تأثیرات آلودگی‌های صنعتی بر گیاهان دارویی، مقالات منتشر شده در پایگاه داده بررسی شد. مقالاتی که به آلودگی صنعتی و تأثیرات آن‌ها بر گیاهان دارویی پرداخته‌اند در این بررسی گنجانده شد. این مقاله مروری به جمع‌آوری و تحلیل داده‌های مختلف در زمینه تأثیرات آلودگی‌های صنعتی بر گیاهان دارویی پرداخته و نتایج کلیدی آن به شناسایی راهکارهای عملی جهت کاهش تأثیرات منفی آلودگی‌ها و ضرورت انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه کمک خواهد کرد.

۲-۳. الگوی تحلیلی

تحلیل محتوا: روش‌های کیفی برای بررسی و تجزیه و تحلیل نتایج مطالعات مختلف استفاده گردید و یافته‌ها بر اساس تأثیرات مستقیم و غیرمستقیم آلودگی‌ها دسته‌بندی شدند.



۳. نتایج

نتایج حاصل از بررسی تأثیر آلودگی‌های صنعتی بر گیاهان دارویی می‌تواند شامل موارد زیر باشد:

۱. کاهش تنوع زیستی: آلودگی‌های صنعتی معمولاً منجر به کاهش تنوع زیستی در اکوسیستم‌های حاوی گیاهان دارویی می‌شوند. با افزایش غلظت آلاینده‌ها، برخی گونه‌ها قادر به بقا نیستند و در نتیجه، تنوع گیاهی کاهش می‌یابد.
 ۲. کاهش کیفیت گیاهان دارویی: آلودگی‌های شیمیایی مانند فلزات سنگین، سموم و مواد شیمیایی صنعتی می‌تواند ساختار شیمیایی و فیتوشیمیایی گیاهان را تغییر دهد. این تغییرات اغلب بر کیفیت دارویی گیاهان تأثیر منفی می‌گذارد و ممکن است منجر به کاهش اثر بخشی آن‌ها در درمان بیماری‌ها شود.
 ۳. تغییرات در خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک: آلودگی‌های صنعتی می‌توانند ترکیب و ساختار خاک را تغییر دهند. این تغییرات می‌تواند بر روی جذب مواد مغذی گیاهان تأثیرگذار باشد و به کاهش عملکرد و رشد گیاهان دارویی منجر شود.
 ۴. نشانگان استرس اکوسیستمی: گیاهان در مناطق آلوده معمولاً نشانگان استرس را نشان می‌دهند، نظیر زرد شدن برگ‌ها، کاهش رشد و تولید مثل و افزایش آسیب‌پذیری به بیماری‌ها و آفات. این نشانه‌ها می‌تواند به عنوان علائم نشان‌دهنده وضعیت نامناسب اکوسیستم‌های آلوده استفاده شود.
 ۵. تأثیر بر ارزش دارویی و اقتصادی: با کاهش کیفیت گیاهان دارویی و افزایش هزینه‌های درمان بیماری‌ها، تأثیرات منفی بر روی سلامت عمومی و اقتصاد جوامع مشهود است. به ویژه در جوامع محلی که به کشاورزی و برداشت گیاهان دارویی وابسته‌اند، این تأثیرات می‌تواند بسیار فاجعه‌بار باشد.
 ۶. پیشنهادات مدیریتی: بر اساس نتایج به دست آمده، نیاز به برقراری تدابیر مدیریتی و سیاسی برای کاهش اثرات منفی آلودگی‌های صنعتی بر گیاهان دارویی حس می‌شود. این پیشنهادات می‌تواند شامل اجرای قوانین سختگیرانه‌تری برای کنترل آلودگی و حمایت از پروژه‌های احیای اکوسیستم باشد.
- این نتایج نشان‌دهنده ضرورت توجه به تأثیرات محیطی در توسعه پایدار و سلامت گیاهان دارویی است.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

بررسی تأثیرات آلودگی‌های صنعتی بر گیاهان دارویی یک موضوع بسیار مهم و حائز اهمیت به‌ویژه در عصر کنونی است که رشد صنایع و توسعه اقتصادی به شدت محیط زیست را تحت تأثیر قرار داده است. نتایج تحقیقاتی که در این زمینه انجام شده‌اند، نشان می‌دهند که آلودگی‌های صنعتی نه تنها به طور مستقیم بر روی گیاهان تأثیر می‌گذارد، بلکه می‌تواند منجر به اختلال در زنجیره‌های غذایی و اکوسیستم‌های طبیعی شوند.

از یک سو، کاهش تنوع زیستی به دلیل آلودگی، فرصت‌های کمتری برای بهره‌برداری از منابع گیاهی دارویی را فراهم می‌آورد، که این موضوع به نقصان موجودی‌های طبیعی کافی در آینده منجر می‌شود. از سوی دیگر، تأثیرات منفی آلودگی بر کیفیت و مواد مؤثره موجود در گیاهان دارویی، می‌تواند به کاهش استفاده از این گیاهان در درمان بیماری‌ها و در نتیجه آسیب به سلامت عمومی منجر شود.



در نتیجه، لازم است مدیریت و برنامه ریزی های اکولوژیکی به طور جدی تری مورد توجه قرار گیرد. از جمله اقداماتی که می توان برای بهبود وضعیت گیاهان دارویی در مناطق آلوده انجام داد، شامل اعمال سیاست های حفاظتی، اجرای قوانین سختگیرانه برای کنترل آلودگی و تطبیق روش های کشاورزی پایدار می باشد. همچنین، آموزش جوامع محلی در زمینه اهمیت گیاهان دارویی و روش های احیای آنها می تواند به بهبود وضعیت فعلی کمک کند.

ارزیابی ریسک آلودگی صنعتی بر گیاهان دارویی، نیازمند تلفیق داده های اکولوژیکی و اجتماعی است. رویکرد اکولوژی انسانی با تأکید بر مشارکت جوامع محلی و عدالت محیطی، می تواند به کاهش تعارضات بین توسعه صنعتی و حفاظت از منابع طبیعی کمک کند. پیشنهاد می شود برنامه های آموزشی درباره خطرات آلاینده ها و روش های کشت پایدار در دستور کار سازمان های مرتبط قرار گیرد

در نهایت، ضرورت توجه به تحقیقات بیشتر در این زمینه احساس می شود. فهم بهتر از روابط میان آلودگی های صنعتی و گیاهان دارویی، می تواند به شناسایی راهکارهای مؤثر برای حفاظت از این منابع ارزشمند و حفظ اکوسیستم های طبیعی کمک کند. پیوند بین سلامت محیط زیست و سلامت عمومی، نیازمند همکاری بین محققان، دولت ها و جوامع محلی است تا به سمت آینده ای پایدار و عاری از آلودگی های مخرب حرکت کرد.

این پژوهش نشان می دهد که آلودگی صنعتی در ایران به یک بحران اکولوژیکی-اجتماعی تبدیل شده است که هم گیاهان دارویی و هم سلامت انسان را تهدید می کند. رویکرد ترکیبی اکولوژی کاربردی (مدیریت فنی آلودگی) و اکولوژی انسانی (مشارکت جامعه) می تواند راهکاری مؤثر برای کاهش ریسک باشد. پیشنهاد می شود: ایجاد «شبکه ملی پایش گیاهان دارویی» با همکاری وزارت بهداشت و سازمان محیط زیست و تصویب قوانین سختگیرانه تر برای کنترل انتشار آلاینده های صنعتی. این ترتیب را در ارائه مطالب مقاله رعایت کنید: عنوان، نام نویسنده (گان)، آدرس نویسنده (گان)، چکیده، واژگان کلیدی، متن اصلی مقاله (شامل شکل و جدول)، منابع، چکیده انگلیسی و واژگان کلیدی به انگلیسی. لطفا فرمت مشخص شده در این فایل را تغییر ندهید.

منابع

- اصغری، ح.، کاظمی، ق. ۱۴۰۱. زیست شناسی گیاهان دارویی در ایران. اولین کنفرانس بین المللی زیست شناسی گیاهان دارویی، قم، ایران. حاجی زاده، مهري و افتخاری، علیرضا و مششعی، سیدسروش و محمدپور، بهداد، ۱۴۰۱، بررسی تاثیر گیاهان دارویی در فضای سبز شهری بر آلودگی محیط زیست، هفتمین همایش بین المللی پژوهش های کاربردی در علوم کشاورزی، منابع طبیعی و محیط زیست، همدان، خلیلی، ع. و همکاران. (۱۴۰۰). "بررسی تجمع فلزات سنگین در گیاهان دارویی مناطق صنعتی ایران." مجله علوم محیطی رضوی، س. و همکاران. (۱۴۰۱). "تجمع فلزات سنگین در گیاهان دارویی مناطق صنعتی اصفهان." *مجله تحقیقات گیاهان دارویی ایران.* رضوی، س. و همکاران. (۱۴۰۱). "تجمع فلزات سنگین در گیاهان دارویی مناطق صنعتی اصفهان." مجله تحقیقات گیاهان دارویی ایران سازمان جنگل ها و مراتع ایران. (۱۴۰۱) گزارش ملی تنوع گیاهان دارویی سازمان محیط زیست ایران. (۱۴۰۲). گزارش ملی آلودگی صنعتی و سلامت گیاهان دارویی. سازمان محیط زیست ایران. (۱۴۰۲). گزارش ملی آلودگی صنعتی و سلامت گیاهان دارویی

وزارت صنعت، معدن و تجارت. (۱۴۰۰). آمارنامه صنایع ایران.

Akram, F., Shah, M. S., & Basheer, H. (2020). Impact of Industrial Pollution on Medicinal Plants: A Review. *Environmental Science and Pollution Research, 27*(20): 24806-24820. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09854-3>

FAO. (2019). Guidelines for Sustainable Harvesting of Medicinal Plants.

Forman, R. T. T., & Godron, M. (1986). *Landscape Ecology*. John Wiley & Sons

Investigation of arsenic contamination in soil and plants along the river of Xinzhou abandoned gold mine in Qingyuan, China Yanan Yang ¹, Weizhen Chen ¹, Dele Meng ¹, Chongjian Ma ², Huashou Li 10.1016/j.chemosphere.2024.142350

Miller, G. T. (2020). Environmental Science: Human Ecology and Sustainability. Cengage Learning.

Toxic Metals (As, Cd, Ni, Pb) Impact in the Most Common Medicinal Plant (*Mentha piperita*) Cristina Dinu ¹, Stefania Gheorghe ¹, Anda Gabriela Tenea ^{1 2}, Catalina Stoica ¹, Gabriela-Geanina Vasile ¹, Roxana Luisa Popescu ³, Ecaterina Anca Serban ¹, Luoana Florentina Pascu ¹

United Nations Environment Programme (UNEP). (2022). Guidelines for Ecological Risk Assessment.

تکوین گرده در گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) از تیره نعنائیان

معصومه ماهوت فروشها^۱، سایه جعفری مرندي^{۱*}، گلناز تجدد^۱، مریم پیوندی^۱

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، شعبه تهران شمال، تهران، ایران (s_jafari@iau-tnb.ac.ir)

چکیده

گیاه بادرشبو متعلق به تیره نعنائیان، به طور طبیعی در اروپا، سبیری و آسیای مرکزی پراکنش دارد و به علت ارزش دارویی فراوان در استان های مختلف ایران کاشته می شود. در این پژوهش، تکوین اندام زایشی نر گیاه بادرشبو به منظور مطالعه تکوین گرده مورد مطالعه قرار گرفت. گل ها و غنچه ها در مراحل مختلف نمو به منظور تهیه برش های میکروتومی با استفاده از محلول های مناسب تثبیت، نگهداری و در پارافین قالب گیری شدند. از همتاکسیلین-افوزین برای رنگ آمیزی برش ها استفاده شد. بر اساس نتایج، با وجود همزمانی نسبی تشکیل پریموردیوم پرچمی و برچه، نمو پرچم ها سریع تر از تخمک صورت می گیرد. بساک ها چهار کیسه گرده ای می باشند و لایه تاپی به شکل های مستطیلی، دوکی شکل، تک هسته ای یا بیشتر و به دو صورت ترشعی و آمیبی وجود دارند. حضور لایه ی تاپی تا آخرین مراحل تتراد، ویژگی کمتر رایجی است که در این گونه نیز علاوه بر تعداد کمی از نهاندانگان دیگر گزارش شده است. تترادهای میکروسپوری از نوع تتراهیدرال، دانه گرده شش شیاره و اکزین دارای ترئینات مشبک می باشد.

واژگان کلیدی: بادرشبو، پرچم، تکوین، گرده



۱. مقدمه

گیاه دارویی بادرشبو که در اروپا، سبیری و آسیای مرکزی به طور طبیعی پراکنش دارد، در ایران به صورت کاشته شده در استان‌های غربی و شرقی، مازندران، یزد و تهران وجود دارد (Dastmalchi et al., 2007؛ Mozaffarian, 2013). این گونه گیاهی به صورت علفی، یک‌ساله، بسیار معطر با عطر لیموی مطبوع، با گل‌هایی اغلب به رنگ آبی-ارغوانی و بسیار به ندرت آبی کمرنگ یا سفید می‌باشد (Dmitruk et al., 2018).

بادرشبو سرشار از اسانس‌های معطر، ترکیبات پلی فنولی و فلاونوئیدها مانند ژرانیال، اسید رزمارینیک و تیلانین است که خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، محافظ قلب، ضد التهابی، محافظ عصبی، آرام‌بخش، ضد سرطانی و ضد افسردگی آن را تقویت می‌کنند. این گیاه به دلیل ترکیبات فعال خود، در مقابله با باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، سرطان‌های مختلف و استرس اکسیداتیو مورد توجه پژوهش‌های دارویی قرار گرفته است (Fattahi et al., 2021؛ Nie et al., 2021؛ A'cimović et al., 2022؛ Simea et al., 2023).

در مطالعه (Cruz و همکاران، ۲۰۲۱) ژن‌هایی که به طور اختصاصی در مریستم‌های زایشی و پریموردیوم‌های اندام‌های گلی گیاه تنباکو (*Nicotiana tabacum* L.)، به عنوان گیاه مدل، بیان می‌شوند معرفی شد و به گیاهان دیگر نیز تعمیم داده شد. به طور کلی مطالعه ویژگی‌های تکوینی گیاهان مختلف از قبیل نوع بساک، کسبه‌ی گرده، نوع تخمدان، تخمک و یافته‌هایی از این دست، می‌توانند در مطالعات سیستماتیک گونه‌ها و جنس‌های خویشاوند به ویژه از نظر تکوین بساک و گرده، مفید باشند. به عنوان مثال مطالعه‌ی ویژگی‌های رویان‌شناختی دو گونه از *Clematis* بیانگر تفاوت در فرآیند تشکیل مگاسپور در آن‌ها است، که این امر نشان‌دهنده منشاء تکاملی متفاوت آن‌هاست. این یافته‌ها می‌توانند در مطالعات فیلوژنتیکی و طبقه‌بندی این جنس مفید باشند (Yang et al., 2020). بررسی زیست‌شناسی تولیدمثلی در *Ziziphus jujuba* نشان داد که مراحل تکوین گامتوفیت‌های نر و ماده با ویژگی‌های ریخت‌شناختی غنچه‌های گل همبستگی دارد. این نتایج می‌توانند در بهبود ژنتیکی و شناسایی اختلالات تولیدمثلی در این گونه مفید باشند (Shao et al., 2019). در همین راستا، تکوین ساختار زایشی نر و ماده، تکوین گرده و مراحل مختلف تشکیل جنین گیاهان تیره نعنائیان و تیره‌های خویشاوند آن توسط محققین مختلف بررسی گردیده است (Jafari Marandi et al., 2017؛ Kameli et al., 2018؛ Noroozi et al., 2022؛ Attar et al., 2018). در این تیره تکوین پرچم‌ها که بر روی نهنج به صورت برآمدگی‌هایی ایجاد می‌شوند، از الگوی رایج دولپه‌ای‌ها تبعیت می‌کند. در این تیپ نموی، لایه میانی دیواره بساک در یک ردیف وجود دارد و موقت است. این لایه معمولاً قبل از ناپدید شدن لایه تاپی متلاشی می‌شود. چهار لایه دیواره بساک شامل لایه‌های اپیدریم، اندوتسوم (مکانیکی)، میانی و تاپی (مغذی)، در مرحله آغازین تقسیمات میوزی سلول‌های مادر گرده به خوبی از هم قابل تفکیک می‌باشند. بررسی ریخت‌شناسی گرده ۲۰ گونه از ۱۶ جنس تیره نعنائیان عربستان سعودی با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی نشان داد که دانه‌های گرده دارای الگوهای متفاوتی از نظر تعداد شیارها و ساختار سطحی هستند، که این تنوع می‌تواند در رده‌بندی اعضای این تیره ارزشمند باشد (Doaigey et al., 2018).



ساختار تشریحی اندام‌های رویشی، ساختار بافت ترش‌حی و کرک‌ها و همچنین ساختار تشریحی بافت شهدزا گیاه بادرشبو توسط محققین مطالعه شده است (Dmitrul et al., 2019, 2018). اما تا کنون اطلاعاتی در زمینه تکوین گرده آن‌ها ارائه نشده است. با توجه به اهمیت مطالعات تکوینی در علوم زیستی (Shirkhani et al., 2024)، کشاورزی، زراعی و باغبانی، مطالعه تکوین این گیاه دارویی بسیار ارزشمند، می‌تواند به افزایش دانش ما و به‌نژادی این گیاه کمک کند.

۲. مواد و روش‌ها

بذر گیاه بادرشبو از شرکت پاکان بذر اصفهان (ایران) تهیه و در گلدان‌های پلاستیکی (۱۸ × ۱۵ سانتی‌متر) حاوی ۴ کیلوگرم خاک شنی-لومی کشت شدند و تحت شرایط طبیعی با میانگین دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد رشد کردند. گیاهان به مدت دو ماه در این شرایط نگهداری شدند تا به مرحله‌ی گلدهی برسند. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. غنچه و گل در سنین مختلف و در زمان مساعد گلدهی (دو ماه پس از کاشت)، جمع‌آوری گردید و از محلول FAA 70 برای تثبیت غنچه‌ها و گل‌ها استفاده شد. این محلول شامل فرمالین، اسید استیک، گلاسیال و اتانل ۷۰ درصد بود که با نسبت حجمی ۵:۵:۹۰ تهیه گردید. پس از مرحله تثبیت، نمونه‌ها در اتانل ۷۰ درصد نگهداری شد. آب‌گیری نمونه‌ها با قرار دادن آن‌ها در رقت‌های متفاوت اتانل انجام شد. نمونه‌ها در پارافین، قالب‌گیری و سپس برش‌های مناسب جهت مطالعه مراحل تکوینی تهیه شد. برای این منظور از میکروتوم DC (Cut 4040, Co., Mainz, Germany) استفاده گردید. رنگ آمیزی با همتاکسیلین-اوتوزین و بر اساس روش (Yeung, 1984) صورت گرفت. برای تهیه برش‌های میکروتومی و مطالعه اندام‌های زایشی و مریستمی، نمونه‌های تثبیت شده در محلول فرمالین، با آب جاری شسته شدند. پس از آب‌گیری تدریجی با اتانول، نمونه‌ها در تولوئن شفاف‌سازی و طی مراحل مختلف با پارافین اشباع شدند. برش‌های میکروتومی تهیه‌شده روی لام‌های شیشه‌ای منتقل و با همتاکسیلین و اوتوزین رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت، نمونه‌ها آب‌گیری، شفاف‌سازی و با چسب انتال برای مطالعه میکروسکوپی آماده شدند. برای هر مرحله تکاملی بیش از ۱۰ نمونه مورد مطالعه قرار گرفت. برای بررسی و تهیه عکس از نمونه، میکروسکوپ نوری نیکون (Nikon, Tokyo, Japan) مورد استفاده قرار گرفت.

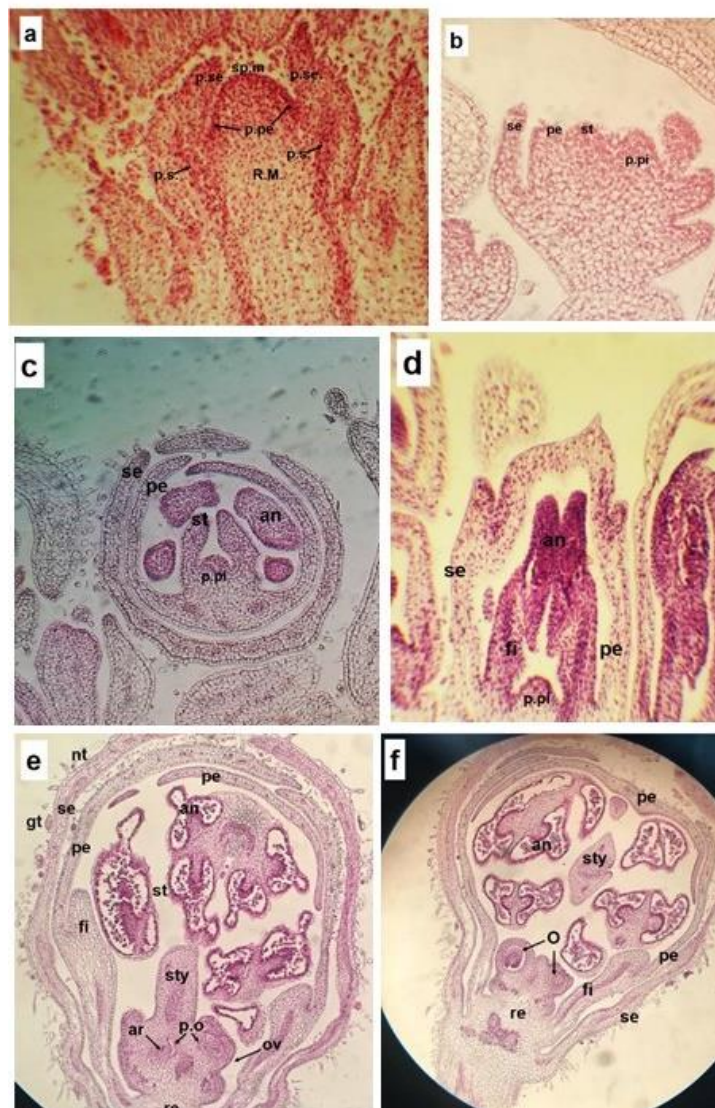
۳. نتایج

گذر از مریستم رویشی به مریستم زایشی در زمان و شرایط مناسب گلدهی، با کاهش شدید فعالیت حلقه بنیادی، تمایز مریستم منتظر و تکثیر سلولی فراوان همراه است. در این مرحله مریستم حجیم‌تر و گنبدی شکل می‌شود و سلول‌ها رنگ‌پذیری بیشتری نشان می‌دهد (شکل ۱-D). شکل ۱ (A-B) پیش مریستم هاگزا و نهنج‌زا را نشان می‌دهد که به ترتیب بر اثر تقسیمات تونیکا و کورپوس ایجاد می‌شوند، و در نهایت مسئول ایجاد اندام‌های گل می‌باشند (شکل ۱-A, B). شکل ۱ (A-C) ایجاد مریستم‌های هاگزا، شکل‌گیری پریموردیوم‌های کاسبرگی، گلبرگی، پرچمی و مادگی در مراحل مختلف تا تشکیل پرچم‌ها و بساک‌ها را نشان می‌دهد. افزایش رنگ‌پذیری در نواحی جانبی راس گنبدی شکل و زیر پریموردیوم کاسبرگ، شکل‌گیری پریموردیوم گلبرگی را نشان می‌دهد. دو جفت پرچم در این گیاه مشاهده می‌شود که جفت بالایی کمی بلندتر از جفت پایینی



می باشد (شکل C-۱). پرموردیوم مادگی در مراحل آخر تکوین مریستم زایشی ایجاد می شود. تکوین تدریجی اندام های گلی در شکل E-A و F مشاهده می شود. در برش طولی غنچه (شکل E, F-۱)، تخمدان، خامه و پرموردیوم تخمک مشاهده می شود. کاسبرگ ها و گلبرگ ها اطراف اندام های گل را محصور کرده اند. پرچم ها حجیم شده و بساک ها مراحل آخر تکوین خود را سپری می کنند، اما آزادسازی گرده های بالغ هنوز رخ نداده است. درون تخمدان ها، تخمک های در حال بلوغ به چشم می خورد و خامه به صورت ستونی در بخش میانی جوانه دیده می شود (شکل A-۱) و تخمدان ها برجسته شده، تخمک ها درون آن ایجاد می شود. در شکل F-۱، دانه های گرده بالغ در حال شکل گیری می باشد.

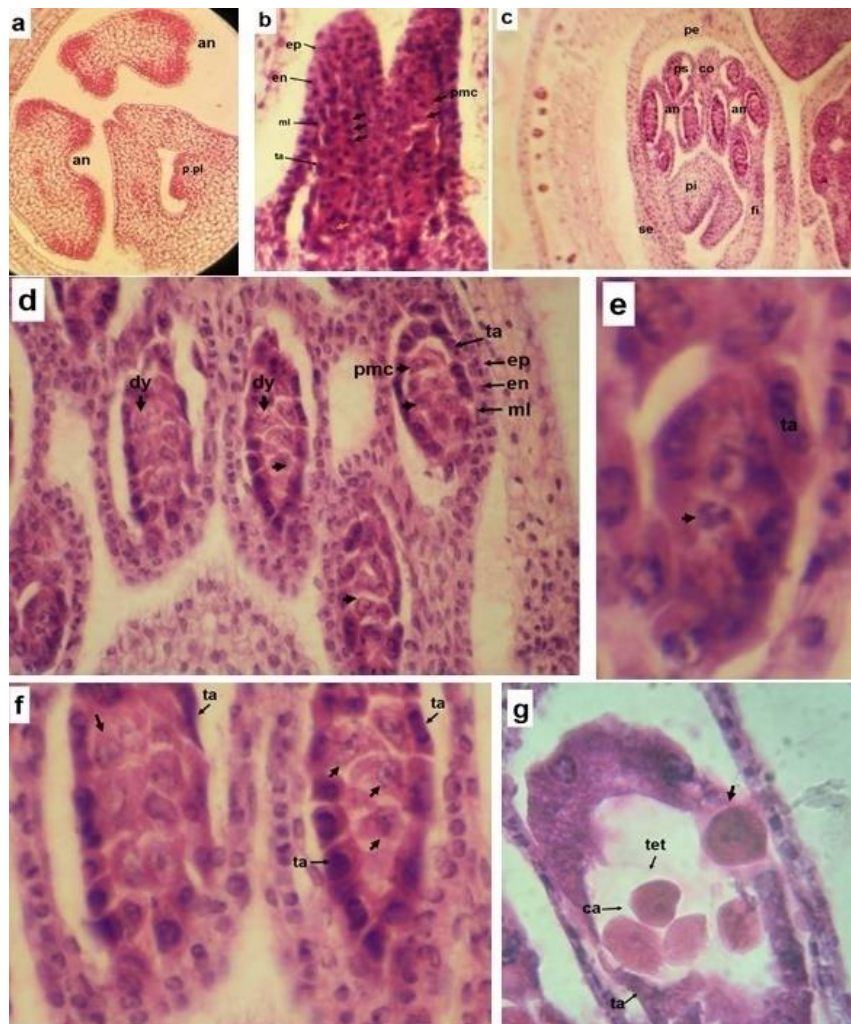
بساک ها به صورت چهار کیسه گرده ای (تتراسپورانژی) مجزا از هم و بساک های نابالغ، تخم مرغی شکل می باشند (شکل C-۱). آرکئوسپورها که از تمایز گروهی از سلول های زیراپیدرمی ایجاد می شوند، با تقسیمات مماسی خود بافت هاگزا (به سمت درون) و لایه های جداری (به سمت بیرون) را ایجاد می کنند. شکل A-۲ مراحل اولیه ی تمایز بساک و ایجاد لایه های جداری و بافت هاگزا را نشان می دهد. لایه جداری با تقسیمات خود موجب تشکیل دیواره بساک می شود. همانطور که در شکل ۲ (B, D) مشاهده می شود، چهار لایه ی دیواره ی بساک جوان به ترتیب از بیرون به درون شامل لایه های اپیدرم، لایه آندوتسیوم (مکانیکی)، میانی (موقت) و مغذی (تاپی) می باشند.



شکل ۱. مراحل تکوین مریستم زایشی بادرشبو رنگ آمیزی با هماتوکسیلین-ئاوزین. (A) برش طولی مریستم زایشی در مراحل ابتدایی شکل گیری (بزرگنمایی ۱۰)، طناب پرو کامیومی قابل مشاهده می باشد. (B) برجستگی های پریموردیوم های کاسبرگی، گلبرگی، پرچمی و مادگی (بزرگنمایی ۴۰). (C) تشکیل گلبرگ و کاسبرگ و پرچم ها، بساک های نابالغ به شکل تخم مرغی و در اندازه های مختلف قابل مشاهده می باشند (بزرگنمایی ۱۰). (D) برش طولی غنچه ای جوان، میله های پرچم، بساک نابالغ، پیوستگی گلبرگ ها و کاسبرگ ها قابل مشاهده می باشد (بزرگنمایی ۴۰). (E و F) برش طولی غنچه (بزرگنمایی ۱۰). بساک ها و گرده ها به همراه مراحل ابتدایی شکل گیری مادگی و مگاسپوروفیت.

Se: کاسبرگ؛ pe: گلبرگ؛ st: پرچم؛ p.pi: پریموردیوم مادگی؛ p.st: پریموردیوم پرچمی؛ p.se: پریموردیوم کاسبرگی؛ p.pe: پریموردیوم گلبرگی؛ sp.m: مریستم هاگرای؛ R,M: مریستم نهجی؛ an: بساک؛ fi: میله ی پرچم؛ p.o: پریموردیوم تخمک؛ re: نهج؛ sty: خامه؛ ov: تخمدان؛ o: تخمک؛ ar: آرکئوسپور؛ gt: کرک غده ای؛ nt: کرک غیر غده ای.

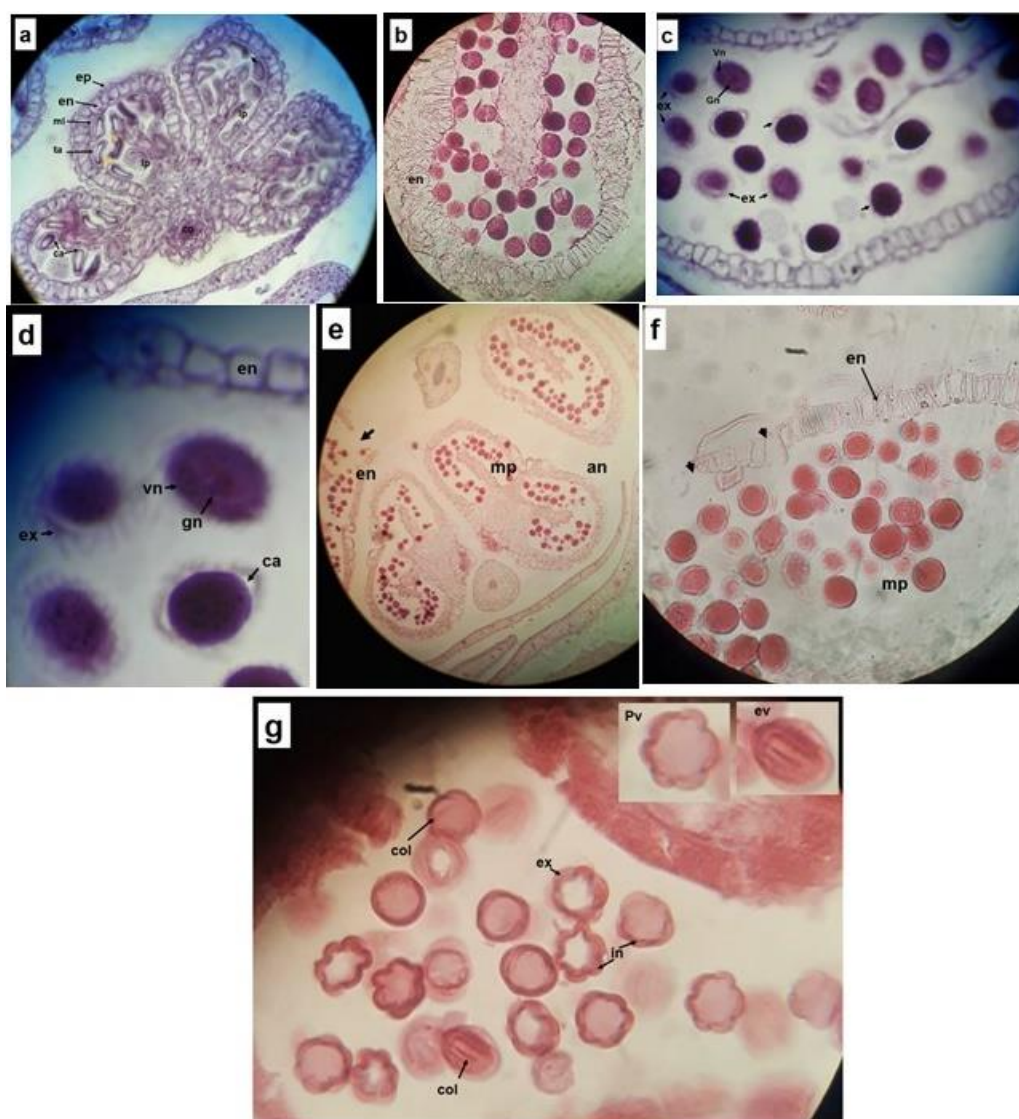
هر یک از این لایه‌ها از یک ردیف سلول تشکیل شده‌اند که طی فرآیند بلوغ کیسه‌ی گرد و شکوفایی، سرنوشت مختلفی می‌یابند. اپیدرم که در ابتدا شامل یک ردیف سلول‌های منظم مستطیلی می‌باشد، طی فرآیند بلوغ به تدریج چروکیده شده و شکل نامنظمی می‌یابد (شکل D، F-۲).



شکل ۲. مراحل تکوین بساک گیاه بادرشبو رنگ آمیزی با هئاتوکسیلین-اوتوزین. (A) برش طولی غنچه‌ی جوان که شکل‌گیری مراحل اولیه بساک، میله‌ی پرچم، تشکیل لایه‌های جدار و هاگزارا نشان می‌دهد (بزرگنمایی ۱۰). (B) برش طولی بساک جوان. دیواره‌های بساک، سلول‌های مادر گرده (بزرگنمایی ۴۰). (C) برش عرضی غنچه‌ی جوان. بساک‌ها با چهار کیسه گرد و میله‌ی پرچم به وضوح دیده می‌شوند (بزرگنمایی ۴۰). (D تا F) برش عرضی غنچه‌ی جوان (بزرگنمایی ۴۰)، مراحل مختلف تقسیمات سلول مادر گرده و شکل‌گیری دیاد، تتراد تتراهدرال. در c و f سلول‌های تایی دوهسته‌ای و بیشتر در شکل‌های مستطیلی، دوکی و غیره مشهود می‌باشند. (G) دانه گرد در حال بلوغ (بزرگنمایی ۱۰۰).

Se: کاسبرگ؛ pe: گلبرگ؛ ppi: پریموردیوم مادگی؛ an: بساک؛ fi: میله‌ی پرچم؛ ep: اپیدرم؛ en: اندوتسوم؛ ml: لایه‌ی میانی؛ ta: لایه‌ی تایی؛ PMC: سلول مادر گرده؛ ps: کیسه گرد؛ co: رابط.

لایه مکانیکی در زیر لایه اپیدرم قرار دارد و شامل یک ردیف سلول‌های مستطیلی شکل می‌باشد. دیواره سلول‌های این لایه طی بلوغ بساک و تکوین دانه‌ی گرده فیبری و ضخیم‌تر می‌شوند (شکل A-۳). لایه‌ی میانی با سلول‌های بسیار باریک و کشیده می‌باشند و در زیر لایه‌ی مکانیکی قرار دارند. این لایه همانند لایه‌ی بعدی (تاپی) طی بلوغ و تکوین دانه‌ی گرده در فرآیند تغذیه آن نقش دارد و در بساک ناپدید می‌شود (شکل D-۲ و شکل A-۳). لایه‌ی تاپی که بافت هاگرای بساک را احاطه می‌کند، سلول‌های حجیم با سیتوپلاسم غلیظ، هسته‌های بزرگ و رنگ‌پذیری بالا می‌باشند که به شکل‌های مختلفی از قبیل مستطیلی، دوکی شکل، تک‌هسته‌ای و یا بیشتر دیده می‌شوند (شکل D, E, F-۲).



شکل ۳. مراحل تکوین و تمایز دانه‌ی گیاه بادرشبو با رنگ آمیزی هماتو-کسیلین-اوتوزین. A) برش عرضی بساک بالغ (بزرگنمایی ۴۰). لایه‌ی کالوز اطراف دانه گرده هنوز قابل مشاهده می‌باشند. B) مراحل انتهایی تکوین دانه‌های گرده (بزرگنمایی ۴۰). فروپاشی لایه اندوتسیوم در برخی نقاط مشهود است. C و D) دانه‌های گرده بالغ، هسته‌های رویشی، زایشی مشاهده می‌شوند. تزئینات دیواره اکثرین به خوبی قابل رویت می‌باشند. لایه‌ی کالوز



در برخی دانه‌ها هنوز مشاهده می‌شود. E و F) دانه‌های گرده رسیده و شکوفایی بساک (بزرگنمایی ۴۰). G) دانه‌های گرده بالغ در نماهای قطبی و استوایی. شیارها به وضوح قابل مشاهده می‌باشند.

ep: اپیدرم؛ en: اندوتسیوم؛ ml: لایه میانی؛ ta: لایه تاپی؛ an: بساک؛ mp: گرده بالغ؛ ex: اگزین؛ in: انتین؛ col: شیار؛ vn: هسته رویشی؛ gn: هسته زایشی؛ ca: کالوز؛ ev: نمای استوایی؛ pv: نمای قطبی.

در برخی سلول‌ها انجام تقسیم میتوزی بدون سیتوکینز، منجر به ایجاد سلول‌های دوهسته‌ای و یا بیشتر می‌شود (شکل D, F-E, ۲). این سلول‌ها در ابتدا به صورت ترش‌چی و در مراحل انتهایی به صورت پلاسمودیومی وجود دارند. همزمان با تقسیم میوز در سلول‌های مادر گرده، این سلول‌ها نیز به صورت شعاعی گسترش می‌یابند.

سلول‌های هاگزا که در نتیجه تقسیمات آرکنوسپور به سمت درون تشکیل می‌شوند، با تقسیمات میتوزی خود به سلول‌های مادر گرده (PMC) با میکروسپورسیت تمایز می‌یابند (شکل B-۲). این سلول‌ها که در چند ردیف وجود دارند، با اندازه‌ی بزرگ و حجیم، سیتوپلاسم متراکم و هسته‌ای درشت و رنگ‌پذیری بالا قابل تشخیص می‌باشند و درون کیسه‌های گرده توسط دیواره‌ها احاطه می‌شوند. با شروع میوز، کالوز به صورت لایه‌ای ضخیم و قابل توجه در اطراف میکروسپورسیت‌ها و تتراده‌ها رویت می‌شود (شکل E, F, G-۲). سلول‌های مادر گرده طی فرآیند میکروسپورزایی پس از تقسیم میوز I و II (شکل E, F, G-۲)، در ابتدا موجب تشکیل دیاد (شکل D-۲) و سپس تتراد (شکل G-۲) می‌شوند و در نهایت میکروسپورهای آزاد را تشکیل می‌دهد. همانطور که در شکل G-۲ مشاهده می‌شود، دانه‌ی گرده در حال تغذیه از سلول‌های تاپی به وضوح قابل رویت می‌باشند. سلول‌های لایه‌ی تاپی تا ایجاد تتراد و کمی پس از آن نیز قابل مشاهده هستند. اما پس از ظاهر شدن دانه‌ی گرده‌ی بالغ به طور کامل مصرف می‌شوند و یا اثر ناچیزی از آنها باقی می‌ماند (شکل B-G-۳). در بساک بالغ هنگام شکوفایی کیسه‌ی گرده، تنها لایه‌های اپیدرم و مکانیکی باقی می‌ماند (شکل C-F-۳). این میکروسپورهای جوان رها شده، دارای سیتوپلاسم متراکم و شکل منظم می‌باشند که به تدریج با مصرف سلول‌های تاپی به عنوان منبع مغذی، واکوئل مرکزی گسترش یافته و هسته‌ی دانه گرده به کنار سلول رانده می‌شود. پس از آن میکروسپور با انجام یک تقسیم میتوز نامساوی دارای دو هسته‌ی رویشی (بزرگ) و زایشی (کوچک) می‌شود که از نظر عملکردی متفاوت از یکدیگر می‌باشند (شکل C, D-۳). هسته‌ی رویشی در رشد لوله‌ی گرده و هسته‌ی زایشی در ایجاد دو آنتروزیوئید دانه‌ی گرده بالغ نقش دارند. میکروسپورهای رها شده به شکل کروی تا بیضی می‌باشند (شکل C-G-۳). بلوغ دانه‌های گرده با احاطه میکروسپورها توسط دیواره‌ی اگزین و ایجاد تزئینات بر روی سطح آن کامل می‌گردد. از سمت داخلی نیز دیواره پکتوسلولزی انتین در مجاورت سبتوپلاسم تشکیل می‌شود (شکل C, F, G-۳). همانطور که در شکل G-۳ مشاهده می‌شود، دانه‌ی گرده بالغ شش شیاره می‌باشد که در محل شیارها، دیواره‌های انتین ضخیم‌تر هستند. دانه‌های گرده در نماهای مختلف قطبی و استوایی به اشکال کروی و بیضی قابل مشاهده می‌باشند (شکل G-۳).



۴. بحث و نتیجه گیری

هنگام ورود به فاز زایشی، دو ناحیه ی تونیکا و کورپوس مریستم رویشی که رنگ پذیری بالایی را نشان می دهند، پیش مریستم های هاگزای را ایجاد می کنند. در حالیکه پریموردیوم پرچمی در زیر کاسبرگ در حال شکل گیری می باشد، پریموردیوم گلبرگی نیز با رنگ پذیری بالا و به صورت برآمدگی های کوچک قابل تشخیص هستند. در این گونه، رشد پرچم ها و گلبرگ ها با فاصله زمانی کوتاهی از یکدیگر رخ می دهد، که مشابه الگوی گزارش شده در برخی گونه های دیگر این تیره، از جمله چند گونه از جنس مریم گلی (Kameli et al., 2018)، ریحان (Jafari Marandi et al., 2017) و مرزنجوش وحشی (Tahmasebi et al., 2016) است. نتایج نشان می دهد که دانه های گرده ی گیاه بادرشبو پیش از شکوفایی گل به بلوغ می رسند، در حالی که در این مرحله، کیسه ی رویانی در تخمک هنوز تشکیل نشده است.

چهار لایه دیواره ی بساک شامل لایه های اپیدرم، اندوتسیوم (مکانیکی)، میانی و تاپی (مغذی)، در مرحله ی آغازین تقسیمات میوزی سلول های مادر گرده به خوبی از هم قابل تفکیک می باشند. لایه میانی در گیاه بادرشبو، پس از شکل گیری تتراد و تا ایجاد گرده نابالغ وجود دارد اما پیش از تجزیه ی لایه تاپی از بین می رود. متلاشی شدن لایه ی میانی در مراحل اولیه تکوین دانه های گرده، به طور مشابهی در گیاهان تیره های دیگر نیز گزارش شده است مانند تیره ی باقلانیان (Fabaceae) (Ebenus stellata: Tanaomi et al., 2018)، که مربوط به تبعیت این تیره ها از الگوی رایج در گیاهان دولپه ای بر اساس تقسیم بندی ارائه شده توسط (Davis, 1962) است. در این تیپ نمو، لایه ی میانی دیواره ی بساک تک ردیفی و موقتی بوده و معمولاً پیش از تخریب لایه ی تاپی، از بین می رود. با این وجود متلاشی شدن این لایه، در تمامی گونه های گیاهی مشابه نمی باشد، به طوریکه در مطالعه ای که بر روی گیاه *Arabidopsis thaliana* صورت گرفته است، لایه میانی تا مراحل انتهایی دانه ی گرده بالغ باقی می ماند و قابل مشاهده می باشد (Basiri et al., 2021). بر خلاف گیاهانی مانند انبه (Jonoubi et al., 2015) که لایه ی اپیدرمی در مرحله ی بلوغ متلاشی می شود، در گیاه بادرشبو، این لایه به همراه لایه ی مکانیکی تا انتهای شکوفایی بساک ها و رسیدن دانه های گرده بالغ باقی می ماند. با این وجود، این لایه در مراحل انتهایی و شکوفایی بساک به صورت بسیار چروکیده و نامنظم بر روی لایه ی مکانیکی قرار دارد. باقی ماندن دو لایه ی اپیدرمی و مکانیکی تا انتهای شکوفایی بساک در گیاهان دیگر این تیره مانند ریحان، آویشن، مریم گلی و مرزنجوش (Tajadod et al., 2015؛ Tahmasebi et al., 2016؛ Jafari Marandi et al., 2017؛ Kameli et al., 2018) و تیره های دیگر نیز (Shao et al., 2019) گزارش شده است. رفتار تاپی در گیاهان مختلف متفاوت است. در حالیکه این لایه در اغلب گیاهان تیره ی نعنائیان و تیره های دیگر (Wang et al., 2017) تا پس از تتراد و قبل از رهاسازی آن ها قابل مشاهده می باشد، در برخی تیره ها شروع تخریب تدریجی این لایه در مرحله ی دانه ی گرده ی تک هسته ای می باشد و در مرحله ی شکل گیری دانه ی گرده ی بالغ، به طور کامل متلاشی و محو می شود (Zhou et al., 2023). در گیاه *Ebenus stellata* نیز لایه ی تاپی تا زمان آزاد شدن گرده ها از کالوز وجود دارد و در مراحل انتهایی به تدریج محو می شود (Tanaomi et al., 2018). در نهاندانگان مختلف دو نوع لایه ی تاپی ترشچی و آمیبی متداول می باشد (شیرخانی و همکاران، ۱۴۰۳). بر اساس نتایج مطالعه کنونی، لایه تاپی در گیاه بادرشبو همانند سایر اعضای این تیره از نوع ترشچی و آمیبی می باشد. لایه ی تاپی در دو نوع ترشچی و آمیبی در گیاهان دیگر تیره نعنائیان (مرزنجوش:



Arabidopsis) و برخی تیره‌های دیگر مانند کلمیان (Jafari Marandi et al., 2017؛ Tadmasebi et al., 2016؛ Basiri et al., 2021) نیز مشاهده شده است که همسو با نتایج مطالعه کنونی می‌باشد. اما وجود لایه‌ی تاپی ترش‌چی در برخی از گونه‌های گیاهی مانند *Ziziphus jojoba* (Shao et al., 2019) گزارش شده است. این در حالیست که لایه‌ی تاپی در برخی گونه‌های گیاهی تیره باقلانیان مانند *Onobrychis* sp. (Tanaomi et al., 2016)، و تیره‌ی گل میمونیان مانند گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) (Majd et al., 2014) ترش‌چی می‌باشد. در این نوع، لایه‌ی تاپی تا آخرین مرحله‌ی تکوین گرده‌ها در جدار بساک باقی می‌ماند و دانه‌های گرده برای رشد و نمو به سمت این لایه‌ها کشیده می‌شوند. بر اساس گزارش‌های پیشین، تغییر روند تکاملی در تفاوت‌های مشاهده شده در ویژگی‌های تکوینی گرده نقش دارند. به عنوان مثال در خانواده‌ی آللاه‌ایان تغییر از اندام‌های گل مرکز‌گرا به اندام‌های گل گریز از مرکز، از تاپتوم آمیبی به ترش‌چی، و دیواره‌ی بساک از نوع دولپه‌ای به تک‌لپه‌ای بیانگر تغییر روند تکاملی اعضای این تیره است (Yang et al., 2020).

از نقش‌های لایه‌ی تاپی می‌توان به تغذیه میکروسپورها، ترشح آنزیم به منظور حل کردن دیواره کالوزی تتراد اشاره کرد. همچنین این لایه به شکل‌گیری پیش‌ساخت‌های اگزین کمک می‌کند (Batygina, 2002). سلول‌های تاپی در ابتدا تک‌هسته‌ای و پس از طی تقسیمات سلولی که همگام با تقسیمات میوزی سلول‌های مادر گرده صورت می‌گیرد، می‌تواند به صورت دوهسته‌ای و یا بیشتر نیز دیده شود. سلول‌های دو هسته‌ای لایه تاپی، در گونه‌های گیاهی مختلف این تیره مانند ریحان (Jafari Marandi et al., 2017)، تیره کلمیان (Brassicaceae) مانند *Brassica jordanoffri* (Yaankova-Tsvetkova et al., 2016) و *Arabidopsis thaliana* (Basiri et al., 2021) نیز گزارش شده است. افزایش حجم لایه تاپی همراه با تمایز سلول‌های مادر گرده و شروع میوز در آن‌ها موجب جدایی سلول‌های این لایه از یکدیگر و از لایه‌ی میانی شد. پس از تشکیل دانه‌های گرده نابالغ، تجزیه این سلول‌ها شروع و در مراحل نمو و بلوغ دانه‌ی گرده به صورت سلول‌های آمیبی مصرف می‌شوند. اما در برخی موارد آثار این سلول‌ها تا قبل از شکوفایی بساک، در کنار دانه‌های گرده قابل مشاهده است. حضور لایه‌ی تاپی تا آخرین مراحل تتراد، ویژگی کمتر رایجی است که در تعداد کمی از نهاندانگان مانند تیره باقلانیان (Tanaomi et al., 2016)، برخی اعضای تیره گل میمونیان (Scrophulariaceae) (Majd et al., 2014) نیز گزارش شده است.

لایه‌ی مکانیکی که نقش مهمی تا آخرین مراحل شکوفایی بساک دارد، همگام با تشکیل و بلوغ دانه‌های گرده، فرآیند چوبی شدن را آغاز می‌کند. بافت اسپورانژی کیسه‌ی گرده از دو یا سه ردیف سلول‌های درشت مستطیلی شکل تشکیل شده است. سلول‌های هاگزای پس از گذراندن تقسیماتی به سلول‌های مادر گرده تمایز می‌یابند و با طی کردن مراحل میوز، دیاد و تتراد را تشکیل می‌دهند. تتراد در گونه‌ی مورد مطالعه از نوع تتراهیدرال می‌باشد و نوع تتراهگزال در برش‌های مورد مطالعه، مشاهده نشد. نوع تتراهیدرال در اغلب گونه‌های گیاهی این تیره رایج است و با گزارشات (Jafari Marandi و همکاران، ۲۰۱۷)، همسو می‌باشد. همچنین در تیره‌های دیگر مانند تیره‌ی کلمیان (Basiri et al., 2021؛ Yankova-Tsvekova et al., 2016) و تیره‌ی آللاه‌ایان (Ranunculaceae) (Yang et al., 2020) نیز گزارش شده است. دیوار کالوز پس از انجام تقسیم میوز I در اطراف سلول‌های مادر گرده شکل می‌گیرد که معمولاً تا اتمام میوز II و تشکیل تتراد باقی می‌ماند و در گیاه بادرشبو اطراف گرده نابالغ نیز قابل مشاهده است. دیواره کالوز همانند حفاظ، مانع برهمکنش سلول‌های مجاور می‌شود و واکوئله



شدن گرده طی مراحل انتهایی بلوغ، سبب رانده شدن هسته‌ی سلول به یک سمت می‌شود. پس از آن، هسته‌ی میکروسپور با انجام تقسیم میوز، یک هسته رویشی بزرگ و یک هسته زایشی کوچک ایجاد می‌کند که هسته‌ی زایشی طی مرحله‌ای به دو هسته‌ی آنتروزوئید تقسیم می‌شود که توسط لوله‌ی گرده به سمت تخمک حمل می‌گردد (Batyoina, 2002). شکوفایی بساک با جذب آب توسط لایه‌ی مکانیکی ضخیم شده صورت می‌گیرد. دانه‌ی گرده گیاه بادرشبو همانند سایر اعضای زیرتیره نپتوئیده، شش شیاره می‌باشد. بر اساس (Erdman, 1945)، اعضای این زیرتیره دارای دانه‌ی گرده شش شیاره و به ندرت ۸-۱۲ شیاره می‌باشند و در مرحله‌ی سه‌هسته‌ای رها می‌شوند. اگزین در این گونه از نوع مشبک و شیارها با تقارن شعاعی می‌باشند. در این راستا نتایج مشابهی نیز در گرده برخی دیگر از اعضای این زیرتیره مانند مرزنجوش وحشی گزارش شده است (Tahmasebi et al., 2016).

بر اساس نتایج مطالعه کنونی، تکوین گرده گیاه بادرشبو، مشابهت زیادی با الگوی رایج مشاهده شده در سایر اعضای تیره نشان می‌دهد. از ویژگی‌های منحصر به فرد مشاهده شده در این گونه در مقایسه با بیشتر اعضای این تیره، می‌توان به حضور لایه‌ی تاپی تا آخرین مراحل تتراد اشاره کرد. وجود تفاوت میان ویژگی‌های تکوین بساک و مراحل تکوین گرده، میان اعضای یک تیره و حتی یک جنس، ویژگی است که با مراحل تکاملی و فیلوژنتیکی آرایه‌های مختلف مرتبط است.

منابع

- A'cimovi'c, M., Šovljanski, O., Šeregelj, V. و Pezo, L., Zheljzakov, V.D., Ljuji'c, J., Tomi'c, A., Cetkovi'c, G., 'Canadanovi'c-Brunet, J., 'Miljkovi'c, A., et al. (2022). Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activity of *Dracocephalum Moldavica* L. Essential Oil and Hydrolate. *Plants*, 11: 941.
- Attar, F., Esfandani-Bozchaloyi, S., Mirtadzadini, M., Ullah, F. (2018). Taxonomic identification in the tribe Cynoglosseae (Boraginaceae) using palynological characteristics. *Flora*, 249: 97– 110
- Basiri, E., Jafari Marandi, S., Arbabian, S., Majd, A., and Malboobi, M. A. (2021) Development of male and female gametophytes and embryogenesis in the *Arabidopsis thaliana*. *Biologia*, 76(3): 853-63.
- Batygina, T. B. (2002). Plates in embryology of flowering plants: Terminology and Concepts, Vol. 1 (pp. 293-438). CRC Press.
- Cruz, J.O., San Martin, J. A., Lubini, G., Strini, E.J., Sobral, R., Pinoti, V. F., Ferreira, P. B., Thomé, V., Quiapim, A. C., Dornelas, M. C., and Pranchevicius, M. C. (2021). SCII is a direct target of AGAMOUS and WUSCHEL and is specifically expressed in the floral meristematic cells. *Frontiers in Plant Science*, 18(12): 642879.
- Dastmalchi, K., Dorman, H. D., Laakso, I., and Hiltunen, R. (2007). Chemical composition and antioxidative activity of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 40(9): 1655-63.
- Davis, G.L. (1962). Embryological studies in the compositae, I. sporogenesis, gametogenesis, and embryogeny in *Cotula australis* (less.) hook. F. *Australian Journal of Botany*, 10(1):1-2.
- Dmitruk, M., Weryszko-Chmielewska, E., and Sulborska, A. (2018). Flowering and nectar secretion in two forms of the Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.)-a plant with extraordinary apicultural potential. *Journal of Apicultural Science*, 62(1): 97.
- Dmitruk, M., Sulborska, A., Żuraw, B., Stawiarz, E. and Weryszko-Chmielewska, E. (2019). Sites of secretion of bioactive compounds in leaves of *Dracocephalum moldavica* L.: anatomical, histochemical, and essential oil study. *Brazilian Journal of Botany*, 42: 701-715.



- Doaigey, A.R., El-Zaidy, M., Alfarhan, A., Milagy, A.-E.-S., and Jacob, T. (2018). Pollen morphology of certain species of the family Lamiaceae in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Science*, 25: 354–360.
- Erdman, G. (1945) Pollen morphology and plant taxonomy IV. Labiatae, Verbenaceae and Aviceniaceae. *Svensk. Bot. Tidskr* 39: 276-85.
- Fattahi, A., Shakeri, A., Tayarani-Najaran, Z., Kharbach, M., Segers, K., Heyden, Y.V., Taghizadeh, S.F., Rahmani, H., Asili, J. (2021). UPLC–PDA-ESI–QTOF–MS/MS and GC-MS Analysis of Iranian *Dracocephalum Moldavica* L. *Food Science and Nutrition*, 9:4278–4286.
- Jafari Marandi, S., Arbabian, S., and Musavi, M. (2017). Structure and development of male and female gametophyte in *Ocimum basilicum* L. *Caryologia*, 70(2):102-11.
- Kameli, M., Majd, A., Hesamzadeh Hejazi, S. M., and Nejadstari, T. (2018). Study on pollen grain and ovule developmental properties in *Salvia verticulata* L. collected from different regions of Iran. *Journal of Developmental Biology*, 10(2): 43-56 (in Persian).
- Jonoubi, P., Majd, A., Mehrabian, S., and Rashidi, F. (2015). Investigating the structure of vegetative organs and development of generative organs in *Mangifera indica* L. *Journal of Cell and Tissue (JCT)*, 5(4): 417-427.
- Majd, A., Rangan, A., Tajadod, G., Mehrabian S., and Mizai, M. (2014). The study of reproductive organs development in *Scrophularia striata* Boiss. *Journal of Cell and Tissue (JCT)*, 5(3): 233-243. (in Persian).
- Mozaffarian, V. (2013). Identification of medicinal and aromatic plants of Iran. Tehran, Farhang Moaser. (in Persian).
- Nie, L., Li, R., Huang, J., Wang, L., Ma, M., Huang, C., Wu, T., Yan, R., and Hu, X. (2021). Abietane Diterpenoids from *Dracocephalum Moldavica* L. and Their Anti-Inflammatory Activities in Vitro. *Phytochemistry*, 184:112680.
- Noroozi, M., Ghahremaninejad, F., Bogler, D., Witherspoon, J.M., Ryan, G.L., Miller, J.S., Riahi, M. and Cohen, J.I. (2022). Parsing a plethora of pollen: the role of pollen size and shape in the evolution of Boraginaceae. *Cladistics*, 38(2):204-226.
- Simea, Ș., Ielciu, I., Hanganu, D., Niculae, M., Pall, E., Burtescu, R.F., Olah, N.K., Cenariu, M., Oniga, I., Benedec, D. and Duda, M. (2023). Evaluation of the cytotoxic, antioxidative and antimicrobial effects of *Dracocephalum moldavica* l. Cultivars. *Molecules*, 28(4):1604.
- Shao, F., Wang, S., Chen, J. and Hong, R. (2019). Megasporogenesis, microsporogenesis, and development of female and male gametophytes of *Ziziphus jujuba* Mill. 'Zhongqiusucui'. *HortScience*, 54(10):1686-1693.
- Shirkhani, Z., Chehregani Rad, A. and Mohsenzadeh, F. (2024). Developmental and systematic value of flower reproductive organs in *Artemisia annua*. *Rostaniha*, 25(1):49-68.
- Tahmasebi, S., Majd, A., Mehrafarin, A., and Jonoubi, P. (2016). Comparative study on the developmental stages of reproductive organs (ovule and pollen grains) of *Origanum vulgare* L. *Quarterly Journal of Developmental Biology*, 8(2):41-56.
- Tajadod, G., Majd, A., and Ranjbar, R. (2015). Study on development of stamen and comparison of pollen proteins *Thymus transcaucasicus* in two regions of Abali and Roodbar. *Journal of Cell and Tissue (JCT)*, 5(4):369-378.
- Tanaomi, N., Jonoubi, P., Chehregani Rad, A., Majd, A., and Ranjbar, M. (2016). Embryology of *Onobrychis persica* Sirj. and Rech. f.(Fabaceae) and its systematic implications. *Caryologia*, 69(3):256-66.
- Tanaomi, N., Jonoubi, P., Chehregani Rad, A., Majd, A., and Ranjbar, M. (2018). The study of structural and developmental characters of pollen grain, ovule and seed in *Ebenus stellata* Boiss. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, 31(2):278-291.
- Wang, L., Zhao, Y.Y., and Liu, J.X. (2017). Embryology of *Myosoton* and *Stellaria* and its taxonomic significance (Caryophyllaceae). *Phytotaxa*, 306(2): 124-134.
- Yang, Y., Sun, J., Guo, X., Wang, K., Liu, Q., and Liu, Q. (2020) Anther and ovule development of *Clematis serratifolia* (Ranunculaceae)–with new formation types in megaspore and nucellus. *Plos one* 15(10): e0240432.



- Yankova-Tsvetkova, E., Yurukova-Grancharova, P., and Vladimirov, V. (2016). On the embryology of *Brassica jordanoffii* (Brassicaceae)—an endemic species in the Bulgarian flora. *Phytologia Balcanica*, 22(2):149-53.
- Yeung, E.C. (1984). Histological and histochemical staining procedures. *Cell culture and somatic cell genetics of plants*, 1:689-697.
- Zhou, C., An, K., Zhang, X., Tong, B., Liu, D., Kong, D., and Bian, F. (2023). Sporogenesis, gametophyte development and embryogenesis in *Glehnia littoralis*. *BMC Plant Biology* 23(1): 1-13.



بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاه زیره سبز تحت تنش خشکی و محلول پاشی نانوذره سیلیکون

محمد اسماعیل عامری بافقی^۱، امیر محمد ناجی^{۲*}، حشمت امیدی^۱، امیر بستانی^۳

^۱ گروه زراعت، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران.

^{۲*} گروه اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران. (amnaji1970@yahoo.com)

^۳ گروه خاکشناسی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران.

چکیده

خشکی یکی از تنش‌های مهم محیطی است که باعث کاهش شدید عملکرد محصولات کشاورزی می‌شود. زیره سبز (*Cuminum cyminum*) به دلیل سازگاری با شرایط خشکی و نیاز آبی کم، می‌تواند به عنوان یک گزینه مطلوب در کشت‌های کم‌آب بر مورد توجه قرار گیرد. سنتز آنزیم‌های آنتی اکسیدانی زمانی که گیاهان در معرض استرس‌های اکسیداتیو قرار می‌گیرند، افزایش می‌یابد، که اهمیت آن‌ها را در سازگاری و بقای گیاهان نشان می‌دهد. تحقیقات اخیر پتانسیل نانوذرات، به ویژه نانوذرات سیلیکا را در بهبود رشد گیاهان و تحمل به تنش‌ها بررسی کرده‌اند. به منظور بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاه زیره سبز، توده اصفهان انتخاب و در مزرعه آموزشی در شهرستان آوه، استان مرکزی کشت شد. این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در شهرستان آوه اجرا شد. توده مورد استفاده در این طرح اصفهان بود. تنش خشکی در چهار سطح ۸۰ (شاهد)، ۶۰، ۴۰ و ۲۰ درصد ظرفیت زراعی و همچنین سطوح نانوذره سیلیکون (SiO_2) در ۴ سطح صفر (شاهد)، ۲، ۴ و ۶ میلی مولار بود. بیشترین مقدار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۲۰٪ و محلول پاشی ۶ میلی مولار نانوذره با مقدار ۸/۴۷ واحد بر میلی گرم پروتئین بود. این نتیجه با مقدار ۱۱/۱ واحد بر میلی گرم پروتئین برای آنزیم پراکسیداز در تنش ۶۰٪ و محلول پاشی ۶ میلی مولار به دست آمد. نتایج نشان داد محلول پاشی نانوذره سیلیکون به طور همزمان در شرایط تنش خشکی می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را به طور معنی دار افزایش دهد و به احتمال زیاد مقاومت گیاهان را در شرایط تنش بهبود بخشد.

واژگان کلیدی: آنزیم، تنش خشکی، نانوذره



۱. مقدمه

خشکی یکی از تنش های مهم محیطی است که به دلیل افزایش میزان تبخیر و تعرق یا ناکافی بودن جذب آب توسط گیاهان، باعث کاهش شدید عملکرد محصولات کشاورزی می شود (Santos et al., 2022). ایران با میانگین بارش سالانه ۲۲۰ میلی متر، به عنوان کشوری با اقلیم خشک و نیمه خشک شناخته می شود که از پراکنش نامناسب نزولات جوی نیز رنج می برد. در چنین شرایطی، انتخاب گیاهان مقاوم به خشکی و کم آبی برای اصلاح الگوی کشت و بهینه سازی مصرف آب ضروری است. یکی از گیاهان مناسب برای این منظور، زیره سبز (*Cuminum cyminum*) است که به دلیل سازگاری با شرایط خشکی و نیاز آبی کم، می تواند به عنوان یک گزینه مطلوب در کشت های کم آب بر مورد توجه قرار گیرد. زیره سبز که معمولاً به عنوان زیره شناخته می شود، یک گیاه دارویی مهم است که به دلیل خواص دارویی خود (Ghasemi et al., 2018) و کاربرد گسترده در صنایع مختلف غذایی و دارویی بسیار قابل توجه است. تحقیقات مولفه های مختلف آنتی اکسیدانی را در دانه های زیره شناسایی کرده اند و آن را به عنوان یک منبع طبیعی بالقوه آنتی اکسیدان مطرح می کنند. اسانس زیره حاوی ترکیبات فلاونوئیدی است که به فعالیت آنتی اکسیدانی آن کمک می کنند. در چارچوب گسترده تر زیست شناسی گیاهی، آنزیم های آنتی اکسیدانی نقش حیاتی در رشد گیاهان و پاسخ به تنش ها ایفا می کنند (Rajput et al., 2021). گیاهان دارای انواع آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX) هستند که به مدیریت گونه های فعال اکسیژن (ROS) و کاهش استرس اکسیداتیو کمک می کنند (Mishra et al., 2023). این آنزیم ها از سلول ها در برابر آسیب محافظت کرده و در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلفی مانند میتوز، طولی شدن سلول و پیری نقش دارند (Sun et al., 2024). سنتز این آنزیم های آنتی اکسیدانی زمانی که گیاهان در معرض استرس های اکسیداتیو قرار می گیرند، افزایش می یابد، که اهمیت آن ها را در سازگاری و بقای گیاهان نشان می دهد. تحقیقات اخیر پتانسیل نانوذرات، به ویژه نانوذرات سیلیکا را در بهبود رشد گیاهان و تحمل به تنش ها بررسی کرده اند. در زمینه فیزیولوژی تنش گیاهی، نقش آنزیم های آنتی اکسیدانی فراتر از محافظت در برابر آسیب های اکسیداتیو است. این آنزیم ها در مسیرهای سیگنال دهی گیاهی نقش داشته و در تنظیم رشد و توسعه گیاهان تحت شرایط عادی و تنش زا نقش حیاتی ایفا می کنند. به عنوان مثال، تغییر در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در مراحل مختلف رشد گیاه، مانند جوانه زنی بذر، گلدهی و رسیدن میوه، مشاهده شده است. این موضوع تعامل پیچیده بین سیستم های آنتی اکسیدانی و فرآیندهای رشد گیاهان را برجسته می کند. مطالعات نشان داده اند که نانوسیلیکا می تواند فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) را در طول نگهداری در سرما افزایش دهد و به طور بالقوه باعث بهبود حفظ محصولات کشاورزی شود. علاوه بر این، نانوذرات نقره (Ag NPs) نیز نشان داده اند که می توانند تولید ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها را در گیاهان افزایش دهند و ظرفیت آنتی اکسیدانی آن ها را بیشتر کنند (Sami et al., 2021). کاربرد فناوری نانو در کشاورزی، به ویژه استفاده از نانوذرات برای تقویت سیستم های آنتی اکسیدانی گیاهان، نشان دهنده یک مرز امیدوارکننده در بهبود محصولات کشاورزی است. علاوه بر نانوسیلیکا و نانوذرات نقره، نانومواد دیگری مانند نانوذرات اکسید روی و دی اکسید تیتانیوم نیز پتانسیل افزایش دفاع آنتی اکسیدانی گیاهان را نشان داده اند. این نانوذرات می توانند به عنوان القاکننده عمل کرده و تولید متابولیت های ثانویه را



تحریک کنند و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را افزایش دهند (Chavez et al., 2024). این رویکرد امکانات جدیدی برای بهبود مقاومت محصولات به تنش‌های محیطی و افزایش ارزش غذایی محصولات کشاورزی ارایه می‌دهد. این پژوهش با هدف بررسی اثر نانوذره سیلیکون بر میزان فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و سنجش میزان و نوع تغییرات این آنزیم‌ها در گیاه زیره سبز صورت گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

2-1. مواد گیاهی

به منظور بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاه زیره سبز، توده اصفهان انتخاب و در مزرعه آموزشی در شهرستان آوه، استان مرکزی کشت شد.

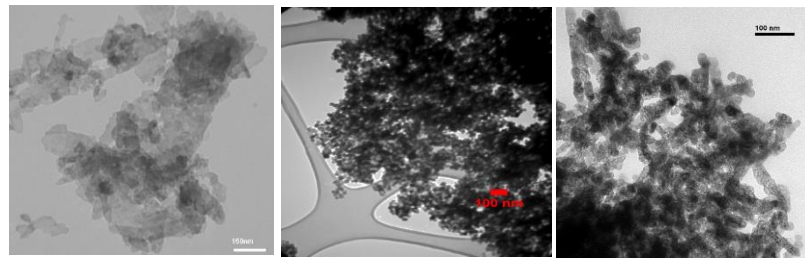
۲-۲. روش تحقیق

به منظور بررسی پاسخ‌های مورفوفیزیولوژیک توده‌ی منتخب به تیمارهای نانوذره SiO_2 و تنش خشکی، آزمایش مزرعه‌ای طی یکسال زراعی در مزرعه در شهرستان آوه به صورت کرت خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. عامل اصلی تنش خشکی در چهار سطح ۸۰ (شاهد)، ۶۰، ۴۰ و ۲۰ درصد ظرفیت زراعی در کرت‌های اصلی قرار گرفت. توده زیره سبز (*Cuminum cyminum* L) اصفهان و همچنین سطوح نانوذره سیلیکون (SiO_2) ۳۰ تا ۳۰ نانومتر - آب‌دوست، تهیه شده از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان) در ۴ سطح صفر (شاهد)، ۲، ۴ و ۶ میلی‌مولار (براتی و همکاران، ۱۳۹۵) در کرت‌های فرعی اجرا شد. در پاییز عملیات مقدماتی تهیه زمین شامل شخم عمیق پاییزی به عمق ۳۰ سانتی‌متر و عملیات تسطیح اولیه انجام گرفت. پیش از بهار با مساعد شدن شرایط محیطی، عملیات تکمیلی تهیه زمین شامل دیسک و تسطیح نهایی انجام گردید.

جدول ۱. مشخصات جغرافیایی و اقلیمی منطقه مورد مطالعه

منطقه	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا	بارندگی سالانه	میانگین دمای سالانه
آوه	۳۴/۷۹ درجه	۵۰/۴۲ درجه	۱۰۰۵ متر	۲۱۶ میلی‌متر	۱۵ درجه سانتی‌گراد

تیمار نانوذره سیلیکون به صورت محلول‌پاشی طی دو مرحله، پس از مرحله شش برگی و پیش از گلدهی، همینطور تیمار خشکی بعد از مرحله ۶ برگی و پس از استقرار کامل گیاه اجرا شد. منحنی رطوبت خاک با استفاده از روش صفحه فشاری تعیین شد. پیش از برداشت، به طور تصادفی نمونه‌برداری از برگ‌های جوان به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون ترنسفر از صورت گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ تجزیه شد. برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excell استفاده گردید.



شکل ۱. تصویر TEM نانوذره مورد استفاده در این پژوهش

قابل ذکر است که فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش چانس و ماهلی (Chance and Maehly, 1955)، فعالیت آنزیم کاتالاز به روش هندیسا و همکاران (Dhindsa et al., 1981)، فعالیت آنزیم سوپر اکسیداز دیسموتاز به روش بیچامپ و فردوویچ (Beauchamp and Fridovich, 1971) و اندازه گیری گلو تاتیون ترنسفرز به روش کارمانول (Carmagnol et al., 1981) صورت گرفت.

۳. نتایج

نتایج نشان داد اثر نانوذره سیلیکون بر تمام آنزیم‌ها معنی دار بوده است، تنش خشکی نیز تاثیر بسیار معنی داری بر فعالیت تمام آنزیم‌ها داشت، همچنین اثر متقابل خشکی و نانوذره سیلیکون نیز برای همه آنزیم‌ها معنی دار بود، که نشان دهنده هم افزایی این دو عامل است. ضریب تغییرات (CV) برای تمام آنزیم‌ها نسبتا پایین است، که نشان می دهد داده ها از دقت خوبی برخوردار هستند. به طور کلی، هم تنش خشکی و هم نانوذره سیلیکون به طور جداگانه و ترکیبی تاثیر قابل توجهی بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی دارند.

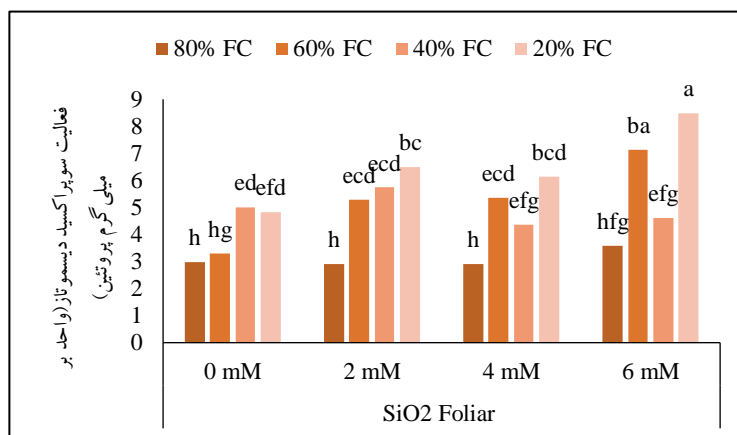
جدول ۲. تجزیه واریانس اثرات محلول پاشی نانوذره سیلیکون و سطوح خشکی بر صفات مورد آزمایش

میانگین مربعات				
منابع تغییرات	درجه آزادی	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	پراکسیداز
نانوذره سیلیکون	۳	۱/۷۸**	۸/۸۰۱*	۳۳/۰۴**
خشکی	۳	۲۵/۹۸**	۲۳/۶۰۷**	۹۳/۷۴**
خشکی × نانوذره	۹	۱/۳۵**	۲/۲۴**	۱۸/۴۸**
خطا	۲۴	۰/۲۹	۰/۶۷	۱/۲۵
ضریب تغییرات	-	۲۵/۶۱	۱۶/۶۳	۱۸/۹

*, ** به ترتیب معنی داری در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱

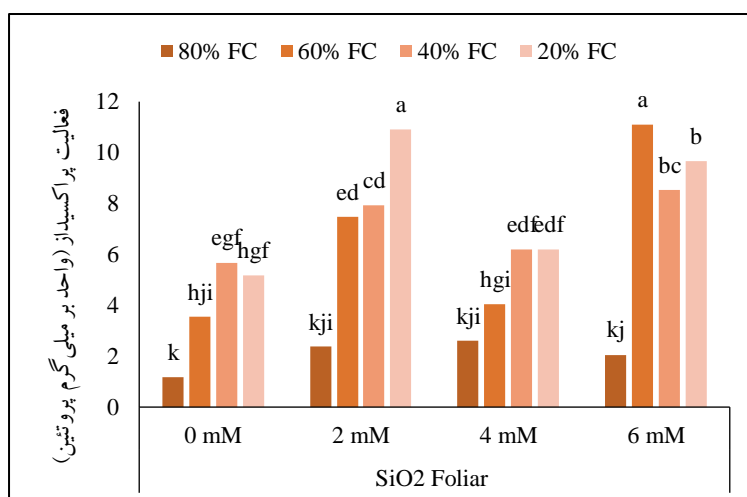


شکل ۲ مقادیر مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و نانوذره سیلیکون را نشان می‌دهد. به طور کلی تیمار بدون تنش یعنی ۸۰٪ ظرفیت زراعی و تیمار ۶۰٪ بدون محلول پاشی نانوذره به ترتیب با مقادیر ۲/۹۷، ۲/۹۲، ۳/۵۷ و ۳/۲۹ واحد بر میلی گرم پروتئین کمتری نسبت به تیمارهای دیگر نشان داد. بیشترین مقدار در تیمار ۲۰٪ و محلول پاشی ۶ میلی مولار نانوذره با مقدار ۸/۴۷ واحد بر میلی گرم پروتئین و کمترین مقدار در شرایط بدون تنش و بدون محلول پاشی نانوذره ۲/۹۱ واحد بر میلی گرم پروتئین بود.



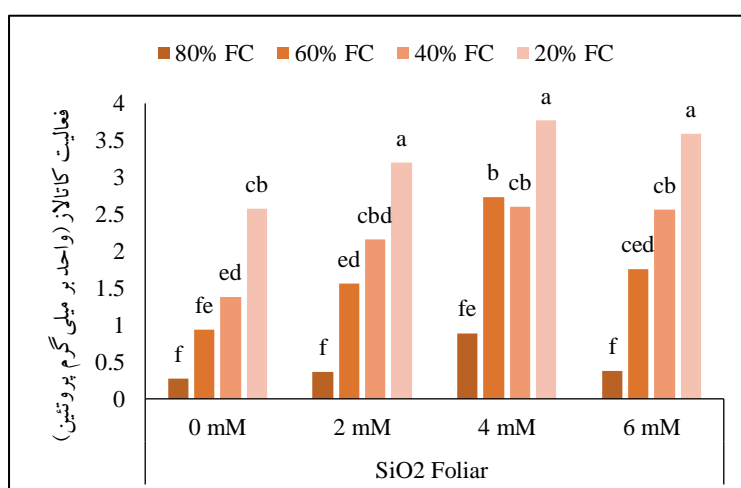
شکل ۲. نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و محلول پاشی نانوذره سیلیکون بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز

شکل ۳ مقادیر مقایسه میانگین اثر متقابل در پراکسیداز را در یک طیف گسترده نشان می‌دهد، در جایی که سطح خشکی ۸۰٪ ظرفیت زراعی و بدون محلول پاشی نانوذره با ۱/۱۸ واحد بر میلی گرم پروتئین کمترین و تیمارهای ۲۰٪ و ۶۰٪ ظرفیت زراعی با ۲ و ۶ میلی مولار محلول پاشی نانوذره به ترتیب با مقادیر ۱۰/۹۱ و ۱۱/۱ واحد بر میلی گرم پروتئین بیشترین مقادیر فعالیت آنزیم پراکسیداز را داشتند. تیمارهای ۲۰٪ و ۶۰٪ ظرفیت زراعی با ۲ و ۶ میلی مولار محلول پاشی نانوذره با یکدیگر تفاوت معنی دار نداشتند.



شکل ۳. نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و محلول پاشی نانوذره سیلیکون بر فعالیت پراکسیداز

در شکل ۴ مقادیر مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و نانوذره سیلیکون بر فعالیت آنزیم کاتالاز آورده شده است. به طور کلی با افزایش سطح تنش فعالیت کاتالاز افزایش می یابد، به طوری که بیشترین مقادیر در شرایط خشکی شدید مشاهده می شود. همچنین، با افزایش سطح غلظت محلول پاشی نانوذره از شاهد به ۶ میلی مولار، فعالیت کاتالاز در تمام سطوح تنش افزایش پیدا می کند، که نشان دهنده تاثیر مثبت نانوذره سیلیکون بر فعالیت این آنزیم است. ترکیب تنش خشکی و غلظت های بالاتر نانوذره سیلیکون به ویژه در سطح تنش ۲۰٪ و محلول پاشی ۶ میلی مولار نانوذره بیشترین فعالیت کاتالاز ۳/۷۶ واحد بر میلی گرم پروتئین را نشان می دهد. این نتایج نشان می دهد که تنش خشکی و محلول پاشی نانوذره سیلیکون به طور همزمان می توانند فعالیت کاتالاز را به طور معناداری افزایش دهند.



شکل ۴. نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و محلول پاشی نانوذره سیلیکون بر فعالیت کاتالاز



۴. بحث و نتیجه گیری

این پژوهش نشان داد که تنش خشکی و محلول پاشی نانوذره سیلیکون اثر معنی دار بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در گیاه زیره سبز دارند. با افزایش شدت تنش خشکی، فعالیت این آنزیم ها به طور قابل توجهی افزایش یافت، به طوری که بیشترین مقادیر در شرایط خشکی شدید (۲۰٪ ظرفیت زراعی) مشاهده شد. همچنین، محلول پاشی نانوذره سیلیکون به ویژه در غلظت های بالاتر (۶ میلی مولار) باعث افزایش فعالیت آنزیم ها در تمام سطوح تنش شد. ترکیب تنش خشکی و نانوذره سیلیکون بیشترین تاثیر را بر فعالیت آنزیم ها داشت، که نشان دهنده هم افزایی این دو عامل در تحریک سیستم آنتی اکسیدانی گیاه است. این نتایج تایید می کند که نانوذره سیلیکون با بهبود سیستم دفاعی گیاه، مقاومت به تنش خشکی را افزایش می دهد. استفاده از نانوذرات به دلیل جذب بهتر و کارایی بالاتر نسبت به اشکال معمولی سیلیسیم، گزینه مناسبی برای کاهش اثرات منفی تنش های محیطی است. این پژوهش اهمیت استفاده از نانوذرات سیلیکون را در مدیریت تنش خشکی و بهبود عملکرد گیاهان بر جسته می کند. در نهایت، می توان نتیجه گرفت که محلول پاشی نانوذره سیلیکون به طور همزمان در شرایط تنش خشکی می تواند فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را به طور معنی داری افزایش دهد و به احتمال زیاد مقاومت گیاهان را در شرایط تنش بهبود بخشد.

منابع

- Beauchamp, C., and I. Fridovich. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44: 276-287.
- Carmagnol, F., Sinet, P. M., Rapin, J. and Jerome, H. (1981). Glutathione S-transferase of human red blood cells assay, values in normal subjects and in two pathological circumstances: Hyperbilirubinemia and impaired renal function. *Clinica Chimica Acta*. 117(2): 209-217.
- Chance, B. and A. C. Maehly. (1995). Assay of catalase and peroxidase. New York, NY: Academic Press.
- Dhindsa, R. S., P. Plumb-Dhindsa and T. A. Thorpe. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*. 32(1): 93-101.
- Ghasemi, G., Fattahi, M., Alirezalu, A., & Ghosta, Y. (2019). Antioxidant and antifungal activities of a new chemovar of cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Food science and biotechnology*. 28: 669-677.
- Martínez-Chávez, L. A., Hernández-Ramírez, M. Y., Feregrino-Pérez, A. A., & Esquivel Escalante, K. (2024). Cutting-edge strategies to enhance bioactive compound production in plants: potential value of integration of elicitation, metabolic engineering, and green nanotechnology. *Agronomy*, 14(12): 2822.
- Mishra, N., Jiang, C., Chen, L., Paul, A., Chatterjee, A., & Shen, G. (2023). Achieving abiotic stress tolerance in plants through antioxidative defense mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1110622.
- Rajput, V. D., Harish, Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F. R., Mandzhieva, S. (2021). Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. *Biology*, 10(4): 267.
- Sami, R., Elhakem, A., Alharbi, M., Benajiba, N., Almatrafi, M., Abdelazez, A., Helal, M. (2021). Evaluation of antioxidant activities, oxidation enzymes, and quality of nano-coated button mushrooms (*Agaricus Bisporus*) during storage. *Coatings*, 11(2): 149.
- Santos, T.B., Ribas, A.F., de Souza, S.G.H., Budzinski, I.G.F., Domingues, D.S. (2022). Physiological Responses to Drought, Salinity, and Heat Stress in Plants: A Review. *Journal of Stresses*, 2: 113-135.
- Sun, Y., Xie, X., & Jiang, C. J. (2024). Antioxidant agriculture for stress-resilient crop production: field practice. *Antioxidants* 13: 164.

بهینه سازی فرآیند استخراج روغن از بادام تلخ (*Prunus amygdalus var. amara*):**بررسی تأثیر روش های مختلف و پیش تیمارها بر کیفیت و بازده****نسترن محمدی کیا^۱، طیبه مومنی^{۱،۲}، فائزه کاشانیان^{۳،۱*}**^۱ شرکت دانش بنیان ایستا صنعت وطن، قم.^۲ گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه صنعتی قم، قم.^۳ گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فنون نوین دانشگاه تهران، تهران، ایران. (Faezehkashanian1@gmail.com)**چکیده**

درخت بادام (*Prunus dulcis*) بومی منطقه مدیترانه ای است و در سراسر جهان کشت می شود. بادام تلخ که حاوی گلیکوزید آمیگدالین است، می تواند برای بدن سمی باشد، اما خواص درمانی از جمله ضدباکتریایی و آنتی اکسیدانی دارد. استخراج روغن از بادام تلخ از اهمیت بالایی برخوردار است و روش های مختلفی چون پرس سرد و حلال برای این منظور استفاده می شود. این مطالعه به بررسی راندمان استخراج روغن با استفاده از روش های پرس سرد و روش حلال، تأثیر پیش تیمارهای مختلف مانند ماکروویو، اولتراسوند و برشته کردن بر کیفیت و بازده استخراج روغن از بادام تلخ پرداخته است. نتایج نشان داد که روش حلال با بازده بالاتر نسبت به پرس سرد عمل می کند، در حالی که پیش تیمارهایی همچون اولتراسوند و ماکروویو تأثیرات متفاوتی بر میزان استخراج و کیفیت روغن دارند. علاوه بر این، روغن حاصل از بادام تلخ با پوست کیفیت بهتری نسبت به نمونه بدون پوست نشان داد. همچنین، بررسی عدد اسیدی و پراکسید روغن ها حاکی از تأثیر منفی برخی از پیش تیمارها مانند ماکروویو بر کیفیت روغن بود. این تحقیق به بهینه سازی فرآیند استخراج روغن بادام تلخ کمک می کند و نتایج آن می تواند در بهبود کیفیت و بازده تولید روغن بادام تلخ مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: استخراج روغن، بادام تلخ، پرس سرد، پیش تیمار، روش حلال.



۱. مقدمه

درخت بادام (*Prunus dulcis*) که به خانواده *Rosaceae* تعلق دارد، بومی منطقه آب و هوای مدیترانه‌ای خاورمیانه است. اما با گسترش آن توسط انسان‌ها، امروزه در سایر مناطق جهان نیز کشت می‌شود، به طوری که در اروپا، آسیا و شمال آفریقا و اخیراً در کالیفرنیا نیز پرورش داده می‌شود. ایتالیا، اسپانیا، مراکش، فرانسه، یونان و ایران از مهم‌ترین کشورهای تولیدکننده بادام هستند. درخت بادام بین ۳ تا ۸ متر ارتفاع دارد و قطر تنه آن تا ۳۰ سانتی‌متر می‌رسد. انواع مختلفی از بادام وجود دارند که به طور کلی به دو نوع اصلی تقسیم می‌شوند: بادام شیرین که دارای گل‌های سفید است و بادام تلخ که دارای گل‌های صورتی است (Rieger, 2006). بادام شیرین، میوه درختی با نام *Prunus amygdalus var. dulcis* که مقادیر بسیار کمی از فیتوشیمیایی‌های سمی دارد. در مقابل، بادام تلخ میوه درخت *Prunus amygdalus var. amara* است که حاوی مقادیر بیشتری از فیتوشیمیایی‌های سمی به نام گلیکوزید آمیگدالین می‌باشد (Chaouali et al., 2013)، به طوری که مصرف بیش از حد آن (بالتر از دوز مجاز برای انسان) می‌تواند منجر به مسمومیت و حتی مرگ شود (Ladizinsky, 1999). بادام تلخ دارای جوانه‌های صورتی و میوه‌های نسبتاً صاف‌تر و کوتاه‌تر است، در حالی که بادام شیرین دارای جوانه‌های سفید می‌باشد (Sánchez-Pérez et al., 2012). اگرچه بادام تلخ فواید زیادی برای سلامتی دارد (Chaouali et al., 2013)، اما به دلیل داشتن اسید هیدروسیانیک که عامل ایجاد طعم تلخ در آن است، می‌تواند اثرات نامطلوب و سمی برای بدن داشته باشد (Toomey et al., 2012). مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از دانه بادام تلخ یا روغن اسانسی آن می‌تواند در پیشگیری از ترک‌های پوستی در دوران بارداری مفید باشد (Timur Taşhan & Kafkasli, 2012) و به مهار رشد تومورها کمک کند (Makarević et al., 2014). علاوه بر این، عصاره دانه بادام خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی دارد (Gomaa, 2013).

روغن استخراج‌شده از بادام تلخ به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و مرطوب‌کنندگی، کاربردهای گسترده‌ای در تولید محصولات بهداشتی و درمانی دارد. بازده روغن بادام تلخ، که از دانه‌های درخت بادام از طریق فرآیند پرس استخراج می‌شود. روغن بادام تلخ رنگ زرد مایل به طلایی دارد و طعم آن تند و سوزاننده است. میوه بادام تلخ حاوی آمیگدالین و آنزیمی است که این ترکیب را به گلوکز، بنزالدئید و اسید هیدروسیانیک تجزیه می‌کند، که این امر موجب غیرقابل خوردن بودن میوه بادام تلخ می‌شود (Dorado, 2008).

امروزه، بهینه‌سازی فرآیند روغن‌گیری به منظور افزایش بازدهی استخراج، حفظ کیفیت روغن و کاهش هزینه‌های تولید، از اهمیت بالایی برخوردار است. روش‌های مختلفی همچون استخراج با حلال و پرس سرد مورد بررسی قرار گرفته‌اند. هر یک از این روش‌ها مزایا و محدودیت‌های خاص خود را دارند و انتخاب روش مناسب به عواملی همچون ترکیبات شیمیایی بادام تلخ، شرایط عملیاتی و هدف نهایی استخراج بستگی دارد.

روش‌های استخراج پرس سرد، طعم منحصر به فرد و بوی خاص «روغن‌های تخصصی» را حفظ می‌کنند. پرس سرد مکانیکی یا هیدرولیکی، تکنیکی ساده برای استخراج است که طی آن، گرمایی به دانه‌های روغنی اعمال نمی‌شود. این امر موجب تولید روغن‌های بسیار خالص، غنی از مواد مغذی و از نظر حسی مطلوب می‌شود که نیازی به تصفیه ندارند و می‌توانند



مستقیماً مصرف شوند (Willems et al., 2008). سایر روش های استخراج، مانند استخراج با حلال، نیازمند اعمال حرارت و استفاده از حلال های آلی (هگزان، نفت اتر، دی کلرومتان) هستند که منجر به افزایش بازده روغن می گردد (Gong & Pegg, 2015). پرس سرد بر ویژگی های خام روغن های آجیل تأثیر نمی گذارد، اما در مقایسه با استخراج با حلال، بازده کمتری دارد (Martínez et al., 2016).

بهینه سازی فرآیند روغن گیری از بادام تلخ با هدف افزایش بازدهی، حفظ کیفیت و کاهش هزینه ها از اهمیت بالایی برخوردار است. در این راستا، سه روش پیش تیمار ماکروویو، اولتراسوند و برشته کردن مورد بررسی قرار گرفته اند. ماکروویو با ایجاد گرمایش سریع و یکنواخت، موجب تغییر در ساختار سلولی و آزادسازی بیشتر روغن می شود. اولتراسوند از طریق پدیده کاویتاسیون، دیواره سلولی را تخریب کرده و نفوذپذیری را افزایش می دهد (Zhong et al., 2018). برشته کردن نیز با کاهش رطوبت و تغییر ساختار سلولی، استخراج روغن را تسهیل می کند (Zhang et al., 2021). هر روش مزایا و معایب خاص خود را دارد؛ ماکروویو سریع و کارآمد اما تأثیرگذار بر برخی خواص روغن (Azadmard-Damirchi et al., 2011)، اولتراسوند مؤثر اما نیازمند تجهیزات خاص و برشته کردن کم هزینه اما کاهنده برخی مواد مغذی است. در نهایت، انتخاب روش مناسب به شرایط عملیاتی و هدف نهایی استخراج بستگی دارد، اما هر سه روش می توانند به بهبود بازده و کیفیت روغن استحصالی کمک کنند. در ادامه، به مقایسه روش های استخراج روغن از جمله پرس سرد و حلال پرداخته می شود و مزایا و معایب هر یک از این روش ها مورد بحث قرار می گیرد. هدف از این مقاله، بهینه سازی استخراج روغن از بادام تلخ و انتخاب روش مناسب با توجه به شرایط و اهداف مورد نظر است.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. مواد و وسایل مورد نیاز

در این پژوهش، از بادام تلخ پوست کنده که از شهر سنندج تهیه شده است به عنوان ماده اولیه استفاده می شود. برای انجام فرآیندهای آماده سازی و استخراج روغن، از تجهیزات مختلفی بهره گرفته شد که شامل دستگاه ماکروویو (Samsung ME732K, South Korea) برای اعمال پیش تیمار حرارتی، دستگاه اولتراسوند حمامی (SONICA 2200 MH, SOLTEC Italy) جهت تیمار فراصوتی، و آون برشته کننده برای فرآیند برشته کردن بود. همچنین، استخراج روغن با استفاده از دستگاه سوکسله همراه با حلال هگزان و دستگاه پرس سرد مدل (Komet Oil Press CA59G, Germany) برای استخراج مکانیکی بدون حرارت انجام شد. تمامی این تجهیزات و مواد برای بررسی تأثیر روش های مختلف فرآوری بر ویژگی های روغن بادام تلخ به کار گرفته شدند. این آزمایش ها در آبان ماه سال ۱۴۰۳ در آزمایشگاه گیاهان دارویی قم انجام شده است.

۲-۲. روش آزمایش

بادام های پوست کنده در پیش تیمار برشته کردن در یک آون با دمای معین (۱۵۰ درجه سلسیوس) برای مدت مشخص (۱۰ دقیقه) حرارت داده شدند تا اثرات حرارتی بر ویژگی های روغن بررسی شود. برای اعمال پیش تیمار ماکروویو، نمونه ها در



یک دستگاه ماکروویو خانگی با توان مشخص (مثلاً ۶۰۰ وات) برای مدت معین (مثلاً ۱ دقیقه) قرار گرفتند. تیمار اولتراسوند به کمک دستگاه اولتراسوند حمامی (مثلاً با فرکانس ۴۰ کیلوهرتز) به مدت مشخص روی نمونه‌ها اعمال شد تا تأثیر این فرآیند بر استخراج روغن ارزیابی شود.

۲-۲-۱. استخراج روغن

- استخراج به روش حلال:

در این روش، ۱۰ گرم از نمونه پودر شده در یک دستگاه سوکسله به همراه حلال هگزان در دمای مناسب (حدود ۷۰ درجه سانتی گراد) به مدت مشخص (۶ ساعت) تحت استخراج قرار گرفت. در پایان، حلال با استفاده از تبخیر تحت خلأ حذف شده و روغن خالص به دست آمد.

- استخراج به روش پرس سرد:

در این روش، نمونه‌های بادام تلخ تحت فشار مکانیکی در دستگاه پرس سرد قرار گرفتند. سپس به بررسی کیفیت روغن بادام تلخ استخراج شده به روش پرس سرد با استفاده از دو شاخص مهم، عدد اسیدی و عدد پراکسید، می‌پردازیم. این دو شاخص نقش مهمی در تعیین کیفیت روغن‌ها دارند.

۲-۲-۲. تعیین مقدار عدد اسیدی

عدد اسیدی با روش تیتراسیون (کریک و سوایر، ۱۹۸۱) تعیین شد. ۵ گرم از نمونه روغن وزن شد و ۷۵ میلی‌لیتر الکل خنثی داغ به آن اضافه گردید و چند قطره فنوفتالین به مخلوط اضافه شد. مخلوط به شدت تکان داده شد و با محلول ۰.۱ مولار هیدروکسید سدیم (NaOH) تحت تکان دادن مداوم تیتراسیون شد، تا زمانی که رنگ صورتی به طور دائمی ظاهر شود. مقدار اسید با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\%FFA = (T \times N \times 28.2) / 10g$$

T: مقدار تیترا

N: نرمالیه

g: وزن روغن استفاده شده

۲-۲-۳. تعیین مقدار عدد پراکسید

مقدار پراکسید بر اساس روش AOAC (2010) ارزیابی شد. ۲ گرم از نمونه روغن در یک لوله وزن شد و ۱ گرم یدید پتاسیم پودری به همراه ۲۰ میلی‌لیتر از مخلوط حلال (اسید استیک گلاسیال و کلروفرم) به آن اضافه گردید. سپس این مخلوط به مدت ۳۰ ثانیه در آب جوش قرار داده شد و محتویات آن درون یک ارلن حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محلول ۵٪ یدید، با استفاده از



نشاسته به عنوان معرف، ریخته شد. یک نمونه شاهد نیز همزمان با نمونه های روغن آماده شد. مقدار پراکسید با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$(N \times 1000 \times (T - B)) / g = (\text{meq/kg})$$

T: مقدار تیتراژ

B: مقدار شاهد

N: نرمالیت

g: وزن نمونه

۳- نتایج

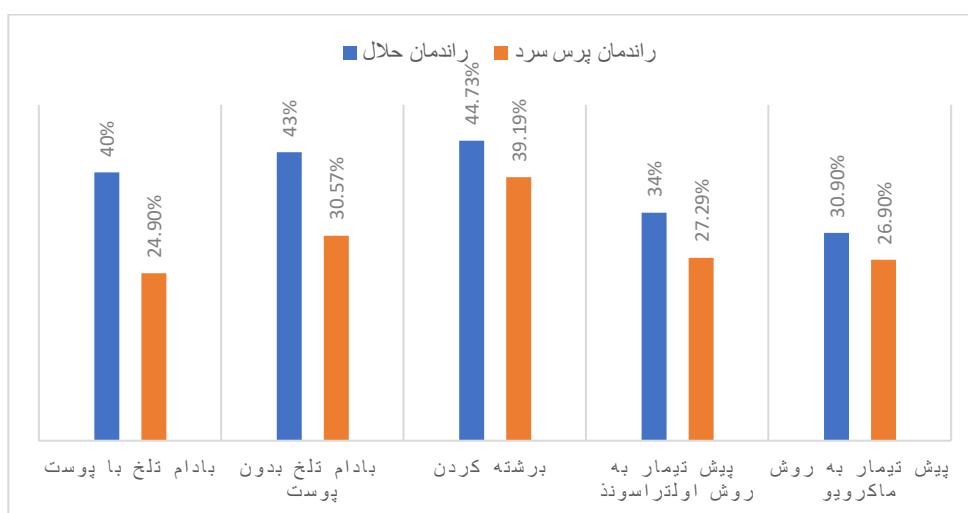
نتایج حاصل از بررسی راندمان استخراج روغن بادام تلخ با استفاده از دو روش پرس سرد و حلال در جدول و نمودار ۱ ارائه شده است. مطالعه حاضر نشان داد که بالاترین راندمان استخراج روغن با روش حلال مربوط به نمونه پودری بوجاری شده بوده که مقدار ۴۴.۷۳٪ را نشان داد، در حالی که همین نمونه در روش پرس سرد نیز بالاترین راندمان ۳۹.۱۹٪ را در بین سایر نمونه ها داشت. در مورد بادام تلخ بدون پوست، راندمان استخراج با روش پرس سرد ۲۴.۹٪ و با روش حلال ۴۰٪ ثبت شد. این مقادیر نشان می دهد که حذف پوست تأثیر قابل توجهی در میزان استخراج روغن دارد، به ویژه در روش حلال که امکان استخراج روغن بیشتری نسبت به پرس سرد فراهم می شود. از سوی دیگر، تیمارهای پیش پردازشی مانند اولتراسوند و ماکروویو تأثیر متفاوتی بر راندمان استخراج روغن داشتند. پیش تیمار اولتراسوند موجب کاهش راندمان استخراج روغن شد، به طوری که در روش پرس سرد ۲۷.۲۹٪ و در روش حلال ۳۴٪ روغن استخراج شد. در مورد تیمار ماکروویو نیز راندمان استخراج در روش پرس سرد ۲۶.۹٪ و در روش حلال ۳۰.۹٪ به دست آمد که نسبت به سایر روش ها مقدار کمتری را نشان می دهد. این نتایج نشان می دهد که روش استخراج نقش تعیین کننده ای در میزان بازدهی روغن دارد، به طوری که روش حلال در تمامی نمونه ها راندمان بالاتری نسبت به روش پرس سرد داشته است. همچنین، اعمال تیمارهای پیش پردازشی مانند اولتراسوند و ماکروویو ممکن است بسته به شرایط فرآوری تأثیر متفاوتی بر استخراج روغن داشته باشند.

در جدول و نمودار ۲ نتایج بررسی عدد اسیدی و پراکسید در نمونه های مختلف روغن بادام استخراج شده به روش پرس سرد ارائه شده است. عدد اسیدی و پراکسید از جمله شاخص های مهم در تعیین کیفیت و تازگی روغن ها و چربی ها هستند. افزایش این اعداد می تواند نشان دهنده فساد و اکسیداسیون روغن باشد (Kyari, 2008). در بررسی نمونه های مختلف بادام، بادام تلخ با پوست کمترین میزان عدد اسیدی و پراکسید را نشان داد که حاکی از کیفیت بالای آن است. پوست بادام به عنوان یک محافظ در برابر عوامل اکسید کننده عمل می کند. در مقابل، بادام تلخ بدون پوست میزان عدد اسیدی و پراکسید بالاتری داشت که نشان می دهد حذف پوست می تواند سرعت فساد و اکسیداسیون روغن را افزایش دهد. نمونه برشته شده نیز وضعیت خوبی داشت و فرآیند برشته تأثیر منفی بر کیفیت روغن نداشت. با این حال، پیش تیمار به روش اولتراسوند باعث افزایش جزئی

در این شاخص‌ها شد که احتمالاً به دلیل تأثیرات این روش بر ساختار روغن است. بیشترین میزان عدد اسیدی و پراکسید در نمونه پیش تیمار شده با روش ماکروویو مشاهده شد که نشان می‌دهد این روش تأثیر زیادی بر اکسیداسیون روغن دارد و می‌تواند منجر به کاهش کیفیت آن شود.

جدول ۱. راندمان استخراج روغن بادام تلخ با استفاده از دو روش پرس سرد و حلال

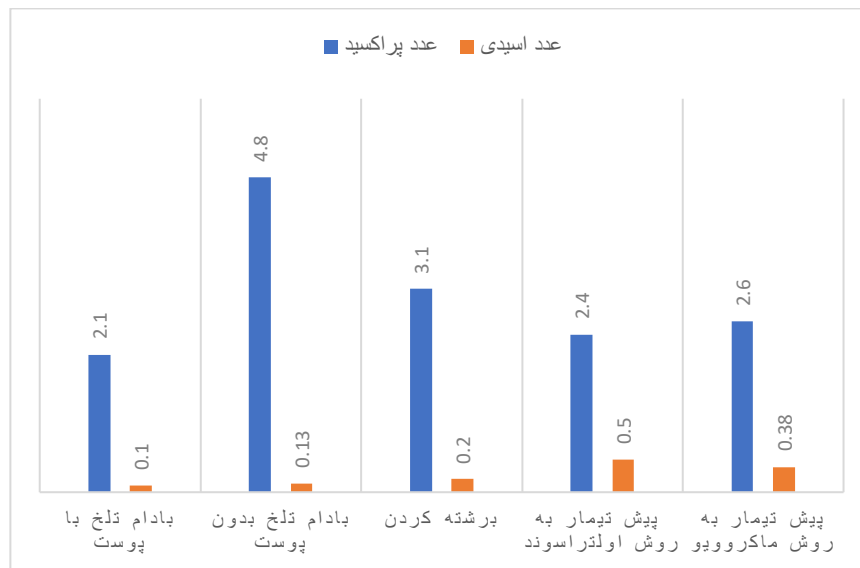
نوع نمونه	راندمان حلال	راندمان پرس سرد
بادام تلخ با پوست	۴۰٪	۲۴.۹٪
بادام تلخ بدون پوست	۴۳٪	۳۰.۵۷٪
برشته کردن	۴۴.۷۳٪	۳۹.۱۹٪
پیش تیمار اولتراسوند	۳۴٪	۲۷.۲۹٪
پیش تیمار ماکروویو	۳۰.۹٪	۲۶.۹٪



نمودار ۱: تأثیر پیش تیمار (مایکروویو، اولتراسوند، برشته کردن) بر بازده روغن بادام تلخ

جدول ۲: بررسی عدد اسیدی و پراکسید در نمونه‌های مختلف روغن بادام استخراج شده به روش پرس سرد

نوع نمونه	عدد پراکسید	عدد اسیدی
بادام تلخ با پوست	۲/۱	۰/۱
بادام تلخ بدون پوست	۴/۸	۰/۱۳
برشته کردن	۳/۱	۰/۲
پیش تیمار به روش اولتراسوند	۲/۴	۰/۵
پیش تیمار به روش ماکروویو	۲/۶	۰/۳۸



نمودار ۲: مقایسه عدد پراکسید و عدد اسیدی در در نمونه‌های مختلف روغن بادام استخراج شده به روش پرس سرد

۴- بحث و نتیجه‌گیری

در این بررسی، راندمان استخراج روغن از بادام تلخ با پوست و بدون پوست با استفاده از دو روش پرس سرد و حلال مقایسه شد (Özcan et al., 2020). نتایج نشان داد که در روش پرس سرد، حذف پوست باعث افزایش راندمان استخراج روغن از ۲۴.۹٪ به ۳۰.۵۷٪ شده است، که احتمالاً به دلیل دسترسی بهتر به بافت داخلی دانه و کاهش موانع فیزیکی در فرآیند استخراج مکانیکی است. در روش حلال نیز نمونه بدون پوست راندمان ۴۳٪ را نشان داد که کمی بیشتر از نمونه با پوست ۴۰٪ بود و می‌تواند ناشی از نفوذ بهتر حلال به بافت داخلی دانه‌ها باشد. به طور کلی، روش حلال راندمان بالاتری نسبت به پرس سرد دارد (Roncero et al., 2016) و حذف پوست در هر دو روش موجب افزایش میزان روغن استخراج شده دارد، به‌ویژه در روش پرس سرد که تأثیر آن محسوس‌تر بود.

همچنین راندمان استخراج روغن از بادام تلخ پس از پیش تیمار با روش برشته کردن، اولتراسونیک و ماکروویو با دو روش مختلف، یعنی حلال و پرس سرد مقایسه شده است. نتایج نشان داد که روش حلال با راندمان ۴۴.۷۳٪ به دلیل استفاده از حلال و فرآیند حرارتی، قادر است روغن بیشتری از بادام برشته‌شده استخراج کند، زیرا این فرآیند با ایجاد منافذ در دیواره‌های سلولی دانه‌های روغنی، بازده استخراج روغن را بهبود می‌بخشد و حرکت روغن را در طی استخراج تسهیل می‌کند (Karrar et al., 2021). همچنین، این فرآیند بر ارزش تغذیه‌ای و مطلوبیت روغن تأثیر می‌گذارد. یک فرآیند برشته کردن مناسب، استخراج بهتر ترکیبات زیست‌فعال را امکان‌پذیر می‌کند و به‌ویژه باعث افزایش محتوای کلی پلی‌فنول در روغن می‌شود (Zhang et al., 2021). در مقابل، روش پرس سرد با راندمان ۳۹.۱۹٪ دارای راندمان کمتری است که احتمالاً به دلیل محدودیت‌های این روش در فرآیند استخراج مکانیکی و دشواری در آزادسازی کامل روغن از بافت دانه‌های برشته‌شده است. بنابراین، برای استخراج روغن بیشتر از بادام برشته‌شده، روش حلال گزینه مؤثرتری است، در حالی که اگر حفظ ترکیبات طبیعی روغن اهمیت داشته باشد، روش پرس سرد انتخاب مناسبی است.



اولتراسوند به فرآیند استخراج کمک می کند و با ایجاد امواج صوتی با فرکانس بالا، شوک های مکانیکی ایجاد کرده و نفوذ بهتر مایع به بافت دانه ها را تسهیل می کند. اولتراسوند با ایجاد حباب های کاویتاسیونی، دیواره های سلولی را تخریب کرده و آزادسازی روغن را تسریع می نماید (Koubaa et al., 2016). این روش موجب افزایش انتقال جرم، کاهش دمای فرآیند، کاهش مصرف انرژی (تا ۲۵٪ بهبود بهره وری)، افزایش سرعت جریان روغن و بهبود ویژگی های فیزیکوشیمیایی آن می شود. در نتیجه، اولتراسوند نه تنها راندمان استخراج روغن را افزایش می دهد، بلکه کیفیت روغن، پایداری ترکیبات زیست فعال و کارایی فرآیند را نیز بهبود می بخشد (Thilakarathna et al., 2023). اما این تأثیرات در پرس سرد به دلیل ماهیت مکانیکی این روش محدودتر است. در روش حلال، راندمان استخراج روغن ۳۴٪ بود که بالاتر از پرس سرد است و این افزایش راندمان به دلیل استفاده از حلال است که می تواند به استخراج مؤثرتر روغن کمک کند. پیش تیمار اولتراسونیک در این روش باعث تسهیل در نفوذ حلال به بافت دانه ها می شود و استخراج روغن را بهبود می بخشد. بنابراین، روش حلال پس از پیش تیمار اولتراسونیک راندمان بالاتری نسبت به پرس سرد نشان داد، چرا که به دلیل استفاده از حلال و تسهیل فرآیند استخراج، قادر است روغن بیشتری استخراج کند.

پیش تیمار مایکروویو پتانسیلی برای ایجاد واکنش های تنش در سیستم های گیاهی یا دانه های روغنی فراهم می آورد. با استفاده از تابش مایکروویو در دانه های روغنی، می توان بازده استخراج بالاتری به دست آورد و همچنین ضریب های انتقال جرم افزایش می یابند، زیرا غشای سلولی پاره می شود. علاوه بر این، منافع دائمی به دلیل این فرآیند ایجاد می شود که اجازه می دهد روغن از دیواره های سلولی قابل نفوذ عبور کند (Uquiche et al., 2008). پیش تیمار مایکروویو در هر دو روش ممکن است باعث تسهیل نفوذ حلال به بافت دانه ها شده و استخراج روغن را بهبود بخشد. به طور کلی، روش حلال پس از پیش تیمار مایکروویو راندمان بالاتری نسبت به پرس سرد نشان داد که این امر به دلیل توانایی این روش در استخراج بیشتر روغن و استفاده از حلال است (Mazaheri et al., 2019).

در کل، روش حلال در تمامی نمونه ها و شرایط پیش تیمار به طور کلی راندمان بالاتری نسبت به پرس سرد نشان داد. این تفاوت به دلیل استفاده از حلال و توانایی حلال در استخراج بیشتر روغن است. با این حال، در روش پرس سرد، حذف پوست و پیش تیمارهایی مانند اولتراسونیک و مایکروویو نیز موجب افزایش راندمان استخراج روغن می شود، اگرچه این افزایش در مقایسه با حلال کمتر است. انتخاب روش استخراج بستگی به اولویت ها دارد: اگر هدف استخراج حداکثری روغن باشد، حلال بهترین گزینه است، اما اگر حفظ ترکیبات طبیعی روغن مد نظر باشد، پرس سرد انتخاب بهتری خواهد بود (Özcan et al., 2020).

عدد اسیدی و عدد پراکسید از شاخص های مهم در ارزیابی کیفیت و پایداری روغن هستند، عدد اسیدی، نشان دهنده میزان اسیدهای چرب آزاد موجود در روغن است. افزایش این عدد می تواند ناشی از تجزیه تری گلیسیریدها و آزاد شدن اسیدهای چرب باشد که خود می تواند به دلیل عوامل مختلفی مانند حرارت، رطوبت، و آنزیم ها رخ دهد. به طور کلی، عدد اسیدی پایین تر نشان دهنده کیفیت بهتر روغن است (Kyari, 2008). به طوری که افزایش عدد اسیدی نشان دهنده تخریب چربی ها و فعالیت آنزیمی، و افزایش عدد پراکسید بیانگر اکسیداسیون اولیه و کاهش پایداری روغن است. پراکسیدها ترکیباتی هستند که در اثر اکسیداسیون چربی ها تشکیل می شوند و می توانند باعث تغییر طعم و بوی روغن شوند. افزایش عدد پراکسید نشان دهنده پیشرفت



اکسیداسیون روغن و کاهش کیفیت آن است. در این بررسی، روغن استخراج شده از بادام تلخ با پوست دارای عدد اسیدی ۰/۱ و عدد پراکسید ۲/۱ بود که نشان دهنده کیفیت بالاتر و مقاومت بیشتر در برابر اکسیداسیون است. احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی در پوست که از ورود اکسیژن و تخریب روغن جلوگیری می کند. در مقابل، بادام تلخ بدون پوست عدد اسیدی ۰/۱۳ و عدد پراکسید ۴/۸ را نشان داد که افزایش چشمگیری نسبت به نمونه با پوست دارد، احتمالاً به دلیل افزایش فعالیت آنزیم های لیپاز و تسریع اکسیداسیون پس از حذف پوست می باشد. بنابراین، حفظ پوست بادام تلخ می تواند به بهبود کیفیت و پایداری روغن کمک کند، در حالی که حذف آن منجر به افزایش فساد روغن می شود. برای افزایش ماندگاری و کیفیت روغن استخراج شده با روش پرس سرد، توصیه می شود فرآیند استخراج در شرایط کنترل شده انجام شود و حذف پوست بادام با دقت بیشتری مدیریت گردد.

بادام تلخ برشته شده دارای عدد اسیدی ۰/۲ و عدد پراکسید ۳/۱ گزارش شده است که نشان دهنده کیفیت بالای روغن و پایداری آن در برابر اکسیداسیون است. عدد اسیدی پایین به ویژه به معنی سطح کم اسیدهای چرب آزاد در روغن است که معمولاً به دلیل فرآیند برشته کردن ملایم و عدم تخریب ساختار چربی ها اتفاق می افتد. همچنین، عدد پراکسید نسبی پایین نشان می دهد که فرآیند برشته کردن در دماهای کنترل شده به خوبی از ایجاد اکسیداسیون اولیه در روغن جلوگیری کرده است. در مجموع، این نتایج بیانگر کیفیت خوب و پایداری بالای روغن بادام تلخ برشته شده است که احتمالاً به دلیل مدیریت مناسب دما در فرایند برشته کردن بوده و خواص طبیعی روغن حفظ شده است.

بادام تلخ پس از پیش تیمار با روش اولتراسوند دارای عدد اسیدی ۰/۵ و عدد پراکسید ۲/۴ گزارش شده است. عدد اسیدی ۰/۵ نشان دهنده میزان کمی از اسیدهای چرب آزاد است که معمولاً به کیفیت خوب روغن اشاره دارد و نشان می دهد که پیش تیمار اولتراسونیک به طور مؤثر باعث آزاد شدن اسیدهای چرب نشده و تخریب کمتری ایجاد کرده است. همچنین، عدد پراکسید ۲/۴ که نسبتاً پایین است، نشان دهنده میزان کمی از اکسیداسیون اولیه روغن است و به این معنی است که اولتراسوند تأثیر زیادی بر فرآیند اکسیداسیون نداشته است. این یافته ها حاکی از آن است که پیش تیمار اولتراسونیک به طور مؤثر استخراج روغن را تسهیل کرده و در عین حال پایداری و کیفیت آن را حفظ کرده است.

در این بررسی، بادام تلخ پس از پیش تیمار با روش ماکروویو دارای عدد اسیدی ۰/۳۸ و عدد پراکسید ۲/۶ گزارش شده است. عدد اسیدی ۰/۳۸ نشان دهنده کیفیت نسبی خوب روغن است، زیرا تأثیر پیش تیمار ماکروویو بر آزادسازی اسیدهای چرب آزاد کم بوده و روغن استخراج شده از کیفیت مطلوبی برخوردار است. همچنین، عدد پراکسید ۲/۶ که نشان دهنده میزان اکسیداسیون اولیه روغن است، نشان می دهد که پیش تیمار ماکروویو تأثیر قابل توجهی بر اکسیداسیون روغن نداشته و فرآیند اکسیداسیون در حد پایینی باقی مانده است. بنابراین، می توان نتیجه گرفت که پیش تیمار ماکروویو به طور مؤثر به استخراج روغن کمک کرده و در عین حال پایداری روغن را در برابر اکسیداسیون حفظ کرده، بدون آنکه آسیب زیادی به خواص آن وارد شود.

در مجموع، بررسی ها نشان می دهند که روش پرس سرد باعث حفظ کیفیت مناسب روغن با عدد اسیدی و پراکسید نسبتاً پایین می شود. پیش تیمارهایی نظیر اولتراسونیک و ماکروویو ممکن است تغییرات اندکی در ویژگی های روغن ایجاد کنند، اما

تأثیرات آنها بر کیفیت روغن به طور کلی مثبت بوده و باعث افزایش بهره‌وری فرآیند استخراج می‌شوند، اگرچه ممکن است در برخی موارد مانند ماکروویو کمی اکسیداسیون بیشتری مشاهده شود (Koubaa et al., 2016).

نتایج این پژوهش نشان داد که روش استخراج نقش مهمی در بازده و کیفیت روغن بادام تلخ دارد، به طوری که استخراج با حلال بازده بیشتری داشت، اما پرس سرد کیفیت بالاتری از نظر شاخص‌های اسیدیته و پراکسید ارائه داد. پیش تیمارهای مختلف نیز تأثیر متفاوتی بر راندمان و کیفیت روغن داشتند؛ اولتراسوند و ماکروویو موجب افزایش استخراج شدند، اما ماکروویو با افزایش عدد پراکسید، کیفیت را کاهش داد، در حالی که برشته کردن اثر مثبتی بر هر دو عامل داشت. همچنین، مشخص شد که روغن استخراج شده از بادام تلخ با پوست کیفیت بهتری نسبت به نمونه‌های بدون پوست دارد. بر این اساس، پیشنهاد می‌شود برای بهینه‌سازی استخراج، ترکیب روش‌های مختلف و پیش تیمارها مورد بررسی قرار گیرد تا بازده و کیفیت به طور همزمان افزایش یابد. همچنین، مطالعه روش‌های نوین مانند استخراج با سیالات فوق بحرانی و تحلیل ترکیبات شیمیایی روغن‌های استخراج شده از روش‌های مختلف می‌تواند به شناخت بهتر اثرات فرآیندهای استخراج بر خواص زیستی روغن کمک کند. علاوه بر این، بررسی کاربردهای عملی روغن بادام تلخ در صنایع دارویی و آرایشی بهداشتی می‌تواند به توسعه استفاده بهینه از این محصول منجر شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی کسانی که در نگارش و تکمیل این مقاله مرا یاری کردند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنم. به ویژه از شرکت ایستا صنعت وطن که با حمایت‌های مالی، فنی و ارائه اطلاعات و منابع ضروری، نقش بسیار مهمی در پیشرفت و تکمیل این تحقیق ایفا کردند، صمیمانه قدردانی می‌کنم. این حمایت‌ها نه تنها به بهبود کیفیت تحقیق کمک شایانی کرد، بلکه زمینه‌ساز تحقق اهداف علمی و عملی آن نیز بوده است.

منابع

- Azadmard-Damirchi, S., Alirezalu, K., & Achachlouei, B. F. (2011). Microwave pretreatment of seeds to extract high quality vegetable oil. *International Journal of Nutrition and Food Engineering*, 5(9):508-511.
- Chaouali, N., Gana, I., Dorra, A., Khelifi, F., Nouioui, A., Masri, W., Belwaer, I., Ghorbel, H., & Hedhili, A. (2013). Potential toxic levels of cyanide in almonds (*Prunus amygdalus*), apricot kernels (*Prunus armeniaca*), and almond syrup. *International Scholarly Research Notices*, 2013(1), 610648.
- Dorado, M. (2008). Raw materials to produce low-cost biodiesel. *Biofuels refining and performance*, 107-147.
- Gomaa, E. Z. (2013). In vitro antioxidant, antimicrobial, and antitumor activities of bitter almond and sweet apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernels. *Food science and biotechnology*, 22: 455-463.
- Gong, Y., & Pegg, R. (2015). Tree nut oils: Properties and processing for use in food. In *Specialty oils and fats in food and nutrition* (pp. 65-86). Elsevier.
- Karrar, E., Mohamed Ahmed, I. A., Manzoor, M. F., Al-Farga, A., Wei, W., Albakry, Z., Sarpong, F., & Wang, X. (2021). Effect of roasting pretreatment on fatty acids, oxidative stability, tocopherols, and antioxidant activity of gurma seeds oil. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 34, 102022. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102022>



- Koubaa, M., Mhemdi, H., Barba, F. J., Roohinejad, S., Greiner, R., & Vorobiev, E. (2016). Oilseed treatment by ultrasounds and microwaves to improve oil yield and quality: An overview. *Food Research International*, 85: 59-66 .
- Kyari, M. (2008). Extraction and characterization of seed oil. *International Agrophysics*, 22(1): 139-142 .
- Ladizinsky, G. (1999). On the origin of almond. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46: 143-147 .
- Makarević, J., Rutz, J., Juengel, E., Kaulfuss, S., Reiter, M., Tsaor, I., Bartsch, G., Haferkamp, A., & Blaheta, R. A. (2014). Amygdalin blocks bladder cancer cell growth in vitro by diminishing cyclin A and cdk2. *PloS one*, 9(8), e105590 .
- Martínez, M. L., Fabani, M. P., Baroni, M. V., Huaman, R. N. M., Ighani, M., Maestri, D. M., Wunderlin, D., Tapia, A., & Feresin, G. E. (2016). Argentinian pistachio oil and flour: a potential novel approach of pistachio nut utilization. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 226. ۲۲۶۹-۰
- Mazaheri, Y., Torbati, M., Azadmard-Damirchi, S., & Savage, G. P. (2019). Effect of roasting and microwave pre-treatments of *Nigella sativa* L. seeds on lipase activity and the quality of the oil. *Food Chemistry*, 274: 480-486. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.001>
- Özcan, M. M., Al Juhaimi, F., Ghafoor, K., Babiker, E. E., & Özcan, M. M. (2020). Characterization of physico-chemical and bioactive properties of oils of some important almond cultivars by cold press and soxhlet extraction. *Journal of Food Science and Technology*, 57: 955-961 .
- Rieger, M. (2006). *Introduction to fruit crops*. CRC Press .
- Roncero, J., Álvarez-Ortí, M., Pardo-Giménez, A., Gómez, R., Rabadán, A., & Pardo, J. (2016). Virgin almond oil: Extraction methods and composition. *Grasas y aceites*, 67(3): e143-e143 .
- Sánchez-Pérez, R., Belmonte, F. S., Borch, J., Dicenta, F., Møller, B. L., & Jørgensen, K. (2012). Prunasin hydrolases during fruit development in sweet and bitter almonds. *Plant physiology*, 158(4): ۱۹۳۲-۱۹۱۶ .
- Thilakarathna, R., Siow, L. F., Tang, T.-K., & Lee, Y. Y. (2023). A review on application of ultrasound and ultrasound assisted technology for seed oil extraction. *Journal of Food Science and Technology*, 60(4): 1222-1236 .
- Timur Taşhan, S & Kafkasli, A. (2012). The effect of bitter almond oil and massaging on striae gravidarum in primiparaous women. *Journal of clinical nursing*, 21(11-12): 1570-1576 .
- Toomey, V. M., Nickum, E. A., & Flurer, C. L. (2012). Cyanide and amygdalin as indicators of the presence of bitter almonds in imported raw almonds. *Journal of forensic sciences*, 57(5): 1313-1317 .
- Uquiche, E., Jeréz, M., & Ortíz, J. (2008). Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (*Gevuina avellana* Mol). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4): 495-500 .
- Willems, P., Kuipers, N., & De Haan, A. (2008). Hydraulic pressing of oilseeds: Experimental determination and modeling of yield and pressing rates. *Journal of Food Engineering*, 89(1): 8-16 .
- Zhang, Y., Li, X., Lu, X., Sun, H., & Wang, F. (2021). Effect of oilseed roasting on the quality, flavor and safety of oil: A comprehensive review. *Food Research International*, 150, 110791 .
- Zhong, J., Wang, Y., Yang, R., Liu, X., Yang, Q., & Qin, X. (2018). The application of ultrasound and microwave to increase oil extraction from *Moringa oleifera* seeds. *Industrial Crops and Products*, 120: 1-10 .



اثر عصاره الکلی گیاه ختمی (*Althaea officinalis* L.) بر روی سلول های سرطانی پستان از طریق تغییر پتانسل ردوکس

زهره بهرام بیگی^۱، جواد محمدنژاد اروق^{۲*}، هانیه جعفری^۱، فاطمه داوودی دهقانی^۳

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی علوم و تحقیقات تهران، تهران. (hanieh.jafary@yahoo.com)

^{۲*} گروه نانویوتکنولوژی و بیومیمتیک، دانشکده مهندسی زیستی، دانشگاه تهران، تهران. (mohamadnejad@ut.ac.ir)

^۳ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران.

چکیده

سرطان پستان شیوع بالایی در جوامع جهانی دارد و بنابراین شناسایی عوامل جدید برای درمان این بیماری الزامی است. گیاه ختمی (*Althaea officinalis* L.) نوعی گیاه دارویی با ترکیبات فعال زیستی متنوع بوده و دارای خواص ضد سرطانی بالقوه است. این مطالعه به بررسی اثرات عصاره الکلی گیاه ختمی بر سمیت سلولی و تعادل ردوکس در سلول های سرطان پستان MCF-7 پرداخته است. سلول های MCF-7 با غلظت های مختلف عصاره های الکلی گیاه ختمی تیمار شدند. سمیت سلولی با استفاده از MTT^1 و سنجش جذب قرمز خنثی ارزیابی شد. پتانسیل ردوکس از طریق ترشح اکسید نیتریک (NO)، محتوای گلوکوتایون احیاء شده (GSH) و سنجش فعالیت کاتالاز مورد ارزیابی قرار گرفت. مقادیر IC_{50} نیز برای عصاره الکلی تعیین شد. عصاره الکلی به طور معنی داری ($p < 0.0001$) زنده ماندی سلول های MCF-7 را به صورت وابسته به دوز کاهش داد و میزان IC_{50} عصاره الکلی ۷۸۱ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد. عصاره الکلی منجر به تفاوت معنی دار در انتشار NO نگردید. اما محتوای GSH را به طور قابل توجهی افزایش داد، که نشان دهنده پاسخ آنتی اکسیدانی تطبیقی است. فعالیت آنزیم کاتالاز به طور قابل توجهی توسط عصاره الکلی افزایش یافت ($P < 0.01$). عصاره الکلی گیاه ختمی اثرات سیتوتوکسیک و اکسیدانی را بر روی سلول های MCF-7 نشان داد که احتمالاً به دلیل توانایی آن در تعدیل هومئوستاز ردوکس است. این یافته ها پتانسیل عصاره الکلی گیاه ختمی را به عنوان یک کاندید امیدوار کننده برای درمان سرطان پستان برجسته می کند. مطالعات بیشتری برای جداسازی و شناسایی ترکیبات فعال و روشن ساختن مکانیسم های مولکولی آنها مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: پتانسیل ردوکس، سرطان پستان، سمیت سلولی، عصاره الکلی گیاه ختمی

¹ 3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide



۱. مقدمه

سرطان پستان یکی از چالش های بهداشت عمومی است که زنان را در سطح جهان تحت تاثیر قرار می دهد. این سرطان شایع ترین سرطان تشخیص داده شده است و دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در بین زنان در سراسر جهان و ۲۵ درصد سرطان های ایران را به خود اختصاص داده است. (Bray, Ferlay et al., 2018). انجمن سرطان آمریکا نشان داد که در سال ۲۰۲۴، تقریباً ۳۱۰۷۲۰ مورد جدید سرطان سینه مهاجم در زنان در ایالات متحده تشخیص داده شده است (Siegel, Giaquinto et al., 2024). بروز سرطان سینه از نظر جغرافیایی متفاوت است و نرخ بالاتری در کشورهای غربی در مقایسه با کشورهای شرقی گزارش شده است. با این حال، شیوع سرطان سینه در کشورهای با درآمد کم و متوسط به سرعت در حال افزایش است که به تغییرات سبک زندگی، افزایش امید به زندگی و اتخاذ عادات غذایی غربی نسبت داده می شود (Bray, Ferlay et al., 2018). تحقیقات نشان می دهد که عوامل مختلفی در افزایش خطر ابتلا به سرطان سینه نقش دارند، از جمله عوامل جمعیتی شناختی مانند سن، نژاد، وضعیت اجتماعی و اقتصادی، و همچنین استعداد های ژنتیکی مانند جهش های BRCA را می توان اشاره کرد. تأثیرات هورمونی، از جمله سن قاعدگی، باروری، سن اولین بارداری و شیوه های شیردهی، در کنار عوامل سبک زندگی مانند رژیم غذایی، فعالیت بدنی، مصرف الکل و مصرف دخانیات نیز با افزایش خطر این بیماری مرتبط هستند (Łukasiewicz, Czezelewski et al., 2021).

گیاه ختمی (*Althaea officinalis* L.) که معمولاً به عنوان گل ختمی شناخته می شود، یک گیاه علفی چند ساله است که در مناطقی از جمله آفریقا، اروپا، آسیا و روسیه یافت می شود. این گیاه در زیستگاه های متنوعی مانند سواحل دریاها، شوره زارها و مراتع مرطوب رشد می کند (Altan, 2001). همینطور این گیاه پراکنش وسیعی در مناطق جغرافیایی مختلف ایران دارد. در طول تاریخ، گیاهان دارویی و معطر جزء لاینفک طب سنتی بوده اند، اگرچه دانش دقیق از ترکیب آنها محدود بوده است. این گیاهان در رشته های مختلف از جمله پزشکی، داروسازی، شیمی، زیست شناسی و بیوتکنولوژی ارزش قابل توجهی دارند (Al-Snafi, 2013). گیاه ختمی به دلیل کاربردهای درمانی متنوعش شناخته شده است که به عنوان مسکن درد، ضد سرفه، ادرار آور، التیام دهنده جراحات زخم و تقویت کننده سیستم ایمنی عمل می کند. بخش های مختلف گیاه از جمله ریشه، برگ و گل در سراسر جهان برای مصارف دارویی استفاده شده است (Elmastas, Ozturk et al., 2004). علاوه بر این، از آن به عنوان عامل ضد التهابی برای کاهش گاستریت خفیف، سوختگی پوست، نیش حشرات و زخم استفاده می شود. علاوه بر این، گیاه ختمی در صنایع غذایی کاربرد دارد (Changizi Ashtiyani, Yarmohammadi et al., 2015).

استرس اکسیداتیو عدم تعادل بین تولید رادیکال های آزاد و مخزن آنتی اکسیدانی بدن است که منجر به غلبه اکسیدان ها می شود (Burton and Jauniaux, 2011). این آسیب اکسیداتیو با شرایط پاتولوژیک متعددی از جمله سرطان مرتبط است (Pham-Huy, He et al., 2008). ترکیبات فیتوشیمیایی متعددی مانند ترکیبات فنلی و فلاونوئید های جدا شده از گیاهان دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی هستند (Tungmunthum, Thongboonyou et al., 2018). گیاه ختمی به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی و التهابی خود مشهور است (Tabarsa, Anvari et al., 2017). مطالعات آزمایشگاهی نشان داده اند که عصاره گل گیاه ختمی با مهار رشد چندین سرطان از جمله سرطان سینه، ریه و پروستات دارای فعالیت ضد تکثیر است.



(Zhang et al., 2016) ترکیبات موجود در این گیاه، مانند کامفرول، جنیستین، اسید p-کوماریک، دایدزین و کورستین، اثرات خود را از طریق مسیرهای سیگنالینگ مانند PI3K/AKT/mTOR، MEK-ERK، PI3K-AKT/PKB، و AMPK/p53 اعمال می کنند (Li, Wei et al., 2019). نشان داده شده است که این ترکیبات انواع تومورها از جمله تومورهای سینه، روده بزرگ، ریه، مغز و پوست را در هر دو مدل *in vitro* و *in vivo* سرکوب می کنند (Kaushik, Shyam et al., 2019). بنابراین، در این مطالعه، هدف ما بررسی اثرات ضد سرطانی عصاره الکلی گیاه ختمی بر روی رده سلولی سرطان پستان MCF-7، با پتانسیل ارائه یک رویکرد جدید برای درمان سرطان است.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. جمع آوری گیاه

گیاه ختمی از استان تهران جمع آوری و توسط متخصص هرباریوم تایید شد. گیاهان جمع آوری شده با استفاده از پروتکل استاندارد شسته و تمیز و خشک شدند.

۲-۲. تهیه عصاره الکلی گیاه ختمی

برای تهیه عصاره الکلی، ۴۰ گرم پودر گل گیاه خشک در ۱۲۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد خیسانده و به مدت ۲۴ ساعت تکان داده شد. سپس مخلوط به مدت ۷۲ ساعت باقی ماند. پس از آن، محلول از طریق یک فیلتر ننه ای فیلتر شده و سپس از یک فیلتر ۰.۴۵ میکرومتری عبور داده شد تا ذرات باقی مانده حذف شوند. سپس به عصاره فیلتر شده اجازه داده شد تا خشک شود تا عصاره اتانولی بدست آید. (Li, Q et al., 2019)

۲-۳. آزمون MTT

برای تعیین غلظت بهینه عصاره الکلی گیاه ختمی و تعیین IC_{50} برای سلول های MCF-7، تیمارها با استفاده از غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره الکلی انجام شد. سنجش MTT به دنبال پروتکل Mossman و همکاران انجام شد (Mosmann, 1983). به طور خلاصه، ۱۰^۴ سلول در هر چاهک در یک پلیت ۹۶ چاهکی کشت شد و با غلظت فوق از عصاره الکلی تیمار شد. پلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد با ۵ درصد CO₂ و رطوبت ۸۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. پس از انکوباسیون، ۲۰ میکرولیتر رنگ MTT (۵ میلی گرم بر میلی لیتر) به هر چاهک اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای تسهیل تشکیل بلورهای آبی تیره (فورمازن) انکوبه شد. سپس محتویات هر چاهک دور ریخته شد و با PBS شسته شد و سپس ۲۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد. پلیت در تاریکی در دمای اتاق به مدت ۲ تا ۴ ساعت انکوبه شد تا بلورهای آبی حل شوند. در این آزمایش، سلول های تیمار نشده به عنوان کنترل مثبت، یک چاهک بدون سلول به عنوان کنترل منفی استفاده شد. جذب نوری چاهک ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت خوان (Biotek، ایالات متحده آمریکا) اندازه گیری شد. این روش در سه تکرار انجام شد و زنده ماندن سلول ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.



$$100 \times (a/b) = \% \text{ زنده مانی}$$

'a' جذب نوری (OD) برای سلول های تیمار شده و 'b' جذب نوری سلول های تیمار نشده منهای جذب نوری چاهک خالی است.

۴-۲. آزمون قرمز خنثی

سنجش جذب قرمز خنثی یک روش استاندارد برای ارزیابی بقای سلول از طریق جذب رنگ در لیزوزوم است (Repetto, Del Peso et al., 2008). در این سنجش، سلول های MCF-7 با غلظت های مذکور عصاره الکلی گیاه ختمی تیمار شدند. پس از دوره تیمار، ۵ میکرولیتر رنگ قرمز خنثی (۵ میلی گرم بر میلی لیتر) به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد تا تشکیل کریستال های قرمز تسهیل شود. پس از انکوباسیون، محیط ها به دقت آسپیره شدند و ۱۰۰ میکرولیتر بافر حلال (اسید استیک ۵ درصد) به هر چاهک اضافه شد تا کریستال های قرمز حل شوند. سپس جذب با استفاده از میکروپلیت خوان Bio-Rad در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری شد. مرگ و میر سلولی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$1 - [(a/b) \times 100] = \% \text{ مرگ و میر}$$

'a' میزان جذب نوری برای سلول های تیمار شده و 'b' میزان جذب نوری سلول های تیمار نشده منهای OD چاهک های خالی است.

۵-۱. آزمون های ردوکس

۵-۲-۱. آزمون آزاد شدن اکسید نیتریک

دینگ و همکاران از این روش برای کمی سازی سطح NO آزاد شده در سلول های MCF-7 پس از تیمار استفاده کردند (Ding, Nathan et al., 1988). در این مطالعه، سنجش NO در کنار سنجش گلو تاتیون احیاء شده (GSH) و کاتالاز انجام شد. به طور خلاصه، ۱۰۵ × ۵ سلول در هر چاهک یک پلیت ۲۴ چاهکی کشت شد و یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس با غلظت های ذکر شده در تست های قبلی عصاره های الکلی تیمار شدند. پس از ۲۴ ساعت، محیط ها در لوله های ۱.۵ میلی لیتری جدید جمع آوری شدند و سلول ها برای سنجش GSH و کاتالاز آماده شدند. پس از سانتریفیوژ در دور ۵۰۰g به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد، ۱۰۰ میکرولیتر از مایع رویی به یک پلیت ۹۶ چاهکی تازه منتقل شد. سپس مایع رویی با ۱۰۰ میکرولیتر از معرف Griss (۰.۰۴ گرم در میلی لیتر) مخلوط شد. پلیت به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد و OD با استفاده از میکروپلیت خوان Bio-Rad در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری شد. غلظت اکسید نیتریک بر اساس منحنی استاندارد NO محاسبه شد و نتایج به صورت $\mu\text{M/ml}$ گزارش شد.

¹ absorbance



۵-۲-۲. اندازه گیری محتوای گلوتاتیون احیاء شده

ارزیابی سطح گلوتاتیون (GSH) با استفاده از روش Sedlak و Lindsay انجام شد.

(Sedlak and Lindsay, 1968). همانطور که در سنجش اکسید نیتریک (NO) توضیح داده شد، سلول های تحت تیمار برای تعیین کمیت GSH مورد استفاده قرار گرفتند. سلول ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد انکوبه شدند و سپس ۲۰۰ میکرولیتر از بافر لیز سرد شده حاوی: 100 mM Tris-HCl (pH 8.5), 20 % glycerol, and 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. لیز سلولی کامل از طریق فراصوت به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه به دست آمد. لیزات به دست آمده در ۲۰۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و رسوب دور انداخته شد، با استفاده از سوپرناتانت، سه سنجش تعیین کمی پروتئین (Kruger, 2009)، سنجش GSH و کاتالاز انجام شد. سپس اسید تری کلرواستیک (TCA، ۱۰٪) به حجم مساوی به هر میکروتیوب اضافه شد و به مدت ۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس نمونه ها در ۵۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی برای سنجش GSH و کاتالاز جمع آوری شد. برای تعیین کمیت GSH، اجزای زیر مخلوط شدند: نمونه (۲۰ میکرولیتر)، بافر لیز (۷۵ میکرولیتر)، بافر تریس (۵۵ میکرولیتر، pH 8.5، ۰.۰۲ مولار EDTA)، و ۵،۵-دی تیو بیس (۲-نیتروبنزوئیک اسید) (DTNB) (۲۵ میکرولیتر). میزان جذب با استفاده از میکروپلیت خوان Bio-Rad در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه گیری شد. سطح GSH در نمونه های تیمار شده و تیمار نشده بر حسب میکروگرم GSH در هر میلی گرم پروتئین با ضریب خاموشی مولی ۱۳/۶۰۰ اندازه گیری شد.

۵-۲-۳. اندازه گیری فعالیت کاتالاز

پس از تعیین کمیت پروتئین به روش برادفورد (Kruger, 2009)، از مایع رویی برای سنجش کاتالاز استفاده شد. برای ارزیابی فعالیت آنزیم کاتالاز، مواد زیر مخلوط شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه انکوبه شدند. نمونه (۵۰ μl)، بافر لیز (۵۰ μl) و ۱۵٪ پراکسید هیدروژن (۲۵ μl). سپس ۱۰۰ میکرولیتر دی کرومات پتاسیم (۰.۱ مولار، محلول در اسید استیک سرد) به نمونه ها اضافه شد و به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی گراد انکوبه شد. نمونه با حرارت دادن در آب داغ به رنگ سبز روشن در می آید. پس از آن، نمونه در دمای اتاق انکوبه شد و سپس OD در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط میکروپلیت خوان Bio-Rad تعیین شد. فعالیت کاتالاز با استفاده از ضریب خاموشی مولی ۴۳.۶ به عنوان میکرومولار H₂O₂ مصرف شده در دقیقه در هر میلی گرم پروتئین تعیین شد.

۶-۲. مطالعات آماری

نتایج به صورت Mean±SD بیان شد و تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار La Jolla)GraphPad Prism 8 (USA, CA) انجام شد. برای ارزیابی اثرات غلظت های مختلف عصاره الکلی گیاه ختمی در مقایسه با گروه کنترل، از آزمون ANOVA یک طرفه و سپس آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. تمام آزمایش ها حداقل سه بار برای تأیید پایایی و تکرارپذیری نتایج انجام شد.

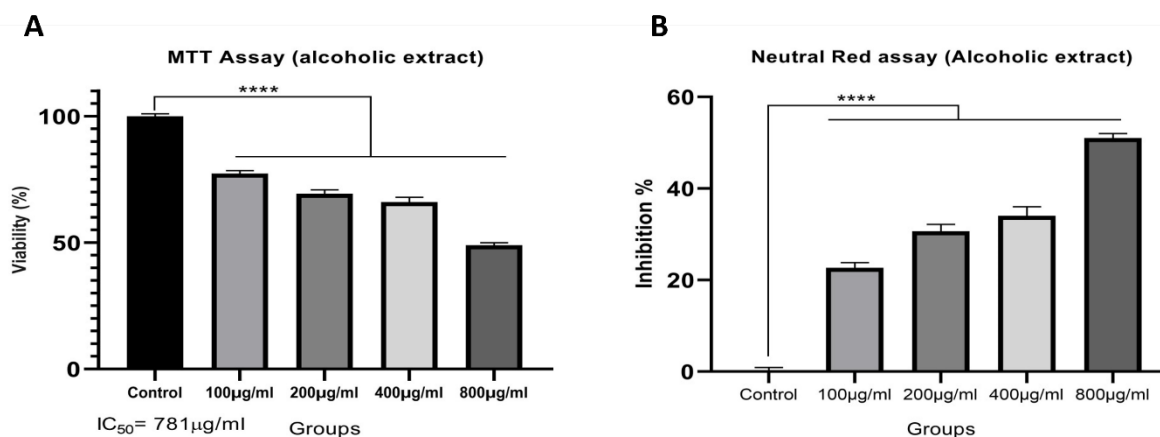
۳. نتایج

۳-۱. آزمون MTT

نتایج آزمون MTT نشان داد که تیمار سلول‌های MCF-7 با عصاره الکلی گیاه ختمی به طور قابل توجهی باعث کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطانی شد. همانطور که در شکل ۱ بخش A نشان داده شده است، عصاره الکلی گیاه ختمی به طور قابل توجهی ($P < 0.0001$) زنده ماندن سلول را در تمام دوزهای آزمایش شده کاهش داد. مقادیر IC_{50} محاسبه شده برای عصاره الکلی ۷۸۱ میکروگرم بر میلی لیتر بود.

۳-۲. آزمون قرمز خشی

همانطور که در شکل ۱ بخش B داده شده است، نتایج سنجش جذب قرمز خشی، یافته‌های سنجش MTT را تایید می‌کند. نتایج نشان داد که عصاره الکلی گیاه ختمی به طور قابل توجهی ($P < 0.0001$) زنده ماندن سلول MCF-7 را به صورت وابسته به دوز مهار می‌کند.



شکل ۱. بررسی سمیت سلولی غلظت‌های مختلف عصاره الکلی گیاه ختمی. آزمون MTT نشان داد که تیمار با غلظت‌های ۱۰۰ تا ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر از عصاره بصورت معنی‌داری موجب کاهش زنده‌مانی سلول‌ها شده است و نتایج تست قرمز خشی (B) نیز این نتایج را تایید می‌کند. آزمون آماری آنوا یکطرفه انجام شد. $P < 0.001$ ****

۳-۳. آزمون‌های ردوکس

۳-۳-۱. آزمون آزاد شدن اکسید نیتریک

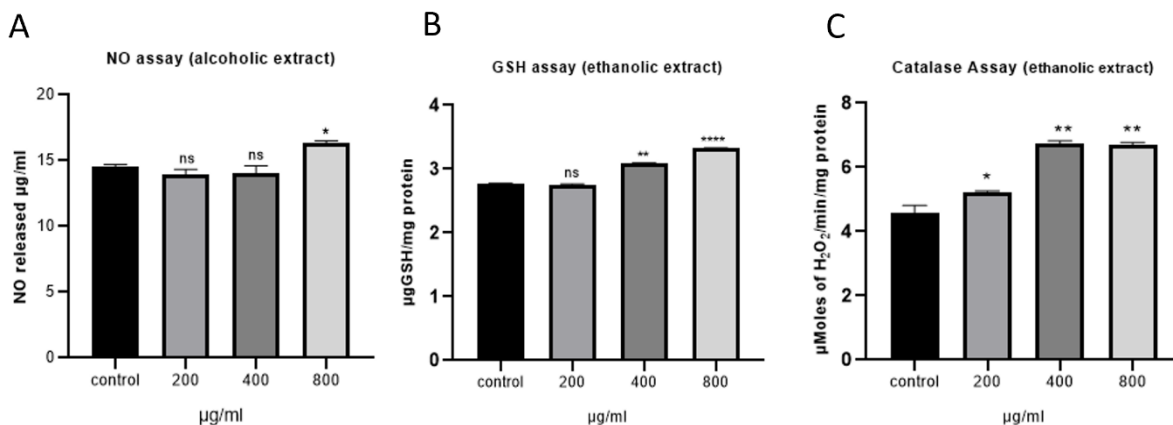
نتایج نشان داد که تیمار سلول‌های MCF-7 با عصاره الکلی گیاه ختمی در غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بصورت معنی‌دار موجب آزادسازی اکسید نیتریک (NO) در محیط کشت در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد (شکل ۲ بخش A).

۳-۳-۲. اندازه‌گیری محتوای گلوکاتیون احیاء شده (GSH)

همانطور که در شکل ۲ بخش B نشان داده شده است، تیمار با غلظت های ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره الکلی گیاه ختمی به طور قابل توجهی باعث افزایش محتوای GSH در سلول های MCF-7 شد.

۳-۳-۳. اندازه گیری فعالیت کاتالاز

نتایج آزمون کاتالاز نشان داد که عصاره الکلی گیاه ختمی بصورت معنی داری موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز تام در همه غلظت های مورد بررسی شده است (شکل ۲ بخش C).



شکل ۲. آزمون های ردوکس در سلول MCF-7. A) نتایج نشان داد که تیمار سلول های MCF-7 با عصاره الکلی گیاه ختمی به طور قابل توجهی آزادسازی اکسید نیتریک (NO) را در محیط کشت در مقایسه با گروه کنترل در غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر افزایش داد. B) تیمار با غلظت های ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره الکلی گیاه ختمی به طور معنی دار باعث کاهش محتوای GSH در سلول های MCF-7 شد. C) نتایج آزمون کاتالاز نشان داد که عصاره الکلی گیاه ختمی بصورت معنی دار موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز تام شده است. آزمون آماری آنوا یکطرفه انجام شد.

۴. بحث و نتیجه گیری

این مطالعه به بررسی اثرات عصاره الکلی گیاه ختمی بر پتانسیل ردوکس و زنده ماندن سلول های MCF-7 پرداخت. یافته های ما نشان داد که این عصاره اثرات قابل توجهی بر زنده ماندن و تعادل ردوکس سلولی دارد. نتایج سنجش MTT و سنجش جذب قرمز خنثی، اثرات سیتوتوکسیک عصاره الکلی را بر روی سلول های MCF-7، با کاهش معنی دار وابسته به دوز در زنده ماندن سلول تأیید کرد. مقدار IC_{50} عصاره الکلی ۷۸۱ میکروگرم بر میلی لیتر است. در زمینه پتانسیل ردوکس، عصاره الکلی آزادسازی اکسید نیتریک (NO) را افزایش داد. افزایش تولید NO توسط عصاره الکلی ممکن است به فعالیت ضد سرطانی آن کمک کند، زیرا NO باعث القای آپوپتوز و اختلال در عملکرد میتوکندری در سلول های سرطانی می شود (Kamm, Przychodzen et al., 2019). با این حال، سطوح بیش از حد NO همچنین می تواند استرس اکسیداتیو را افزایش دهد و به طور بالقوه آسیب سلولی را تشدید کند (Sadiq, 2023). تیمار با عصاره الکلی به طور قابل توجهی سطوح GSH را افزایش داد. GSH یک آنتی اکسیدان حیاتی است که هموستاز ردوکس سلولی را حفظ می کند. افزایش GSH عصاره الکلی نشان دهنده یک پاسخ با هدف کاهش آسیب اکسیداتیو است که به طور بالقوه به سمیت



سلولی کمتر آن کمک می کند (Averill-Bates, 2023). عصاره الکلی بصورت معنی داری بر فعالیت کاتالاز اثر داشت و موجب افزایش فعالیت این آنزیم شد. کاتالاز یک آنزیم کلیدی در سم زدایی پراکسید هیدروژن، یک گونه اکسیژن فعال (ROS) است که در طی استرس اکسیداتیو تولید می شود (Ighodaro and Akinloye, 2018). تنظیم مثبت فعالیت کاتالاز توسط عصاره الکلی می تواند دفاع آنتی اکسیدانی سلول ها را تقویت کند و احتمالاً اثرات سیتوتوکسیک کمتر آن را در مقایسه با عصاره آبی توضیح دهد.

این یافته ها با مطالعات قبلی که پتانسیل ضد سرطانی گیاه ختمی و ترکیبات فیتوشیمیایی آن را گزارش کرده اند، مطابقت دارد. حلال های الکلی معمولاً ترکیبات غیر قطبی را استخراج می کنند و بنابراین ترکیبات موثر در القای مرگ سلولی را در دسترس قرار داده اند. مطابق با نتایج، اثر عصاره الکلی بر پارامترهای دیگر مانند گلوکوتایون احیا شده و کاتالاز بیشتر از نیتریک اکسید بوده است. این یافته ها نشان می دهد که عصاره گیاه ختمی به ویژه عصاره الکلی، ممکن است به عنوان یک عامل ضد سرطانی که تعادل اکسیداسیون و احیاء را در سلول های سرطان سینه هدف قرار می دهد، نقش داشته باشد. مطالعات آتی باید بر شناسایی ترکیبات زیست فعال خاص مسئول این اثرات و روشن ساختن مکانیسم های مولکولی زیربنایی آنها تمرکز کنند.

منابع

- Al-Snafi AE. The pharmaceutical importance of *Althaea officinalis* and *Althaea rosea*: A review. *Int J Pharm Tech Res*. 2013;5(3):1387-5.
- Altan A. Özel Gıdalar Teknolojisi, 3. baskı Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel Yayın No: 178. Adana; 2001.
- Averill-Bates DA. The antioxidant glutathione. *Vitamins and hormones*. 121: Elsevier; 2023. p. 109-41.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2018;68(6):394-424.
- Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best practice research Clinical obstetrics gynaecology*. 2011;25(3):287-99.
- Changizi Ashtiyani S, Yarmohammadi P, Hosseini N, Salehi I, Ramazani M. The effect of *Althaea officinalis*. L root alcoholic extract on blood sugar level and lipid profiles of streptozotocin induced-diabetic rats. *Iranian Journal of Endocrinology Metabolism*. 2015;17(3):238-50.
- Ding AH, Nathan CF, Stuehr D. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. Comparison of activating cytokines and evidence for independent production. *Journal of immunology (Baltimore, Md: 1950)*. 1988;141(7):2407-12.
- Elmastas M, Ozturk L, Gokce I, Erenler R, Aboul-Enein HY. Determination of antioxidant activity of marshmallow flower (*Althaea officinalis* L.). *Analytical letters*. 2004;37(9):1859-69.
- Ighodaro O, Akinloye O. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*. 2018;54(4):287-93.
- Kadhun HH, Abd AH, Al-Shammari AM. Anti-Proliferative Activity of *Althaea Officinalis* Extracts on Iraqi Breast Cancer Cell Line AMJ13. *Iraqi Journal of Medical Sciences*. 2021;19.(۲)
- Kamm A, Przychodzen P, Kuban-Jankowska A, Jacewicz D, Dabrowska AM, Nussberger S, et al. Nitric oxide and its derivatives in the cancer battlefield. *Nitric oxide*. 2019;93:102-14.
- Kaushik S, Shyam H, Agarwal S, Sharma R, Nag TC, Dwivedi AK, et al. Genistein potentiates Centchroman induced antineoplasticity in breast cancer via PI3K/Akt deactivation and ROS dependent induction of apoptosis. *Life sciences*. 2019;239:117073.



- Kruger NJ. The Bradford method for protein quantitation. The protein protocols handbook. 2009:17-24.
- Li Q, Wei L, Lin S, Chen Y, Lin J, Peng J. Synergistic effect of kaempferol and 5 fluorouracil on the growth of colorectal cancer cells by regulating the PI3K/Akt signaling pathway. Molecular medicine reports. 2019;20(1):728-34.
- Łukasiewicz S, Czeczulewski M, Forma A, Baj J, Sitarz R, Stanisławek A. Breast cancer— epidemiology, risk factors, classification, prognostic markers, and current treatment strategies—an updated review. Cancers. 2021;13(17):4287.
- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. Journal of immunological methods. 1983;65(1-2):55-63.
- Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. International journal of biomedical science: IJBS. 2008;4(2):89.
- Repetto G, Del Peso A, Zurita JL. Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. Nature protocols. 2008;3(7):1125-31.
- Sadiq IZ. Free radicals and oxidative stress: Signaling mechanisms, redox basis for human diseases, and cell cycle regulation. Current Molecular Medicine. 2023;23(1):13-35.
- Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Analytical biochemistry. 1968;25:192-205.
- Siegel RL, Giaquinto AN, Jemal A. Cancer statistics, 2024. CA: a cancer journal for clinicians. 2024;74.(1)
- Tabarsa M, Anvari M, Joyner HS, Behnam S, Tabarsa AJ. Rheological behavior and antioxidant activity of a highly acidic gum from *Althaea officinalis* flower. Food Hydrocolloids. 2017;69:432-9.
- Tungmunthum D, Thongboonyou A, Pholboon A, Yangsabai A. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. Medicines. 2018;5(3):93.
- Zhang Y, Kong F, Zhang L, Li C, Zhang R. Modulatory effect of *Althaea officinalis* L root extract on cisplatin-induced cytotoxicity and cell proliferation in A549 human lung cancer cell line. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2016;15(12):2647-52.



مقایسه تاثیر مالا شیت گرین و کریستال ویوله بر جوانه زنی زرین گیاه

Dracocephalum kotschi، تحت تنش H_2O_2

مریم مددکار حق جو^{۱*}

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان، خرم آباد. (madadkar.m@lu.ac.ir)

چکیده

رنگهای نساجی آلاینده پساب، نظیر مالا شیت گرین و کریستال ویوله، می توانند در تماس با سلول های زنده موجب تولید ROS و القای تنش اکسیداتیو شوند که ممکن است هموستازی ردوکس و فعالیت های سلولها را تغییر دهد. بنابراین، از ایندو رنگ برای تیمار پرایمینگ بذور زرین گیاه (*Dracocephalum kotschy*) که گیاهی ارزشمند با برخی مشکلات در جوانه زنی می باشد، استفاده شد. از H_2O_2 بعنوان یک عامل تنش زای محیطی برای بررسی تاثیر پرایمینگ بر تحریک سیستم آنتی اکسیدانی و متابولیسم سلولی در مراحل جوانه زنی و رشد گیاهچه زرین گیاه در مدت یک هفته استفاده گردید. در شرایط بدون تنش، پرایمینگ با کریستال ویوله، سرعت جوانه زنی، طول ریشه و ایستاده بودن گیاهچه ها را نسبت به رنگ مالا شیت گرین افزایش داد. در شرایط تنش H_2O_2 ، مالا شیت گرین تاثیر تحریک کننده و مثبت بیشتری نسبت به کریستال ویوله بر سرعت و میانگین زمان جوانه زنی داشت، ولی بر طول ریشه ها تاثیر منفی گذاشت. پرایمینگ با مالا شیت گرین که در شرایط بدون تنش، غالباً تاثیرات منفی را موجب شد، در حضور H_2O_2 ، تاثیرات مثبت بیشتری نسبت به کریستال ویوله نشان داد که ممکن است به دلیل تحریک سیستم آنتی اکسیدانی سلول باشد. تیمار هیدروپرایمینگ بر کلیه شاخص ها تاثیر مثبت داشت، اما تنش H_2O_2 آنها را تخفیف داد. بذور بدون پرایم نسبت به پرایم شده ها با آب مقطر وضعیت بهتری داشتند. این نتایج در مجموع می تواند تاثیر تحریک کننده رنگها بر فرآیندهای متابولیسمی جوانه زنی و رشد زرین گیاه را بسته به نوع رنگ مورد استفاده، نشان دهد.

واژگان کلیدی: پراکسید هیدروژن، پرایمینگ، تنش اکسیداتیو، رنگ نساجی، *Dracocephalum kotschy*



۱. مقدمه

زرین گیاه (*Dracocephalum kotschy*)، یک گیاه دارویی ارزشمند از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است که دارای مشکلاتی در جوانه زنی بوده و از اینرو در برخی منابع، بعنوان گیاه در حال انقراض نیز مطرح می باشد (Ghannad et al., 2017; Ghannad et al., 2022). برگ، گل و ساقه زرین گیاه دارای مواد موثره فراوان و ارزشمندی است که خاصیت ضد سرطانی، ضد ویروسی، ضد توموری دارند و در التیام زخم و بهبود بیماریهایی نظیر قند خون موثرند (Kosari and Khamesipour, 2022). رنگ مصنوعی مالاشیت گرین (Malachit green, $C_{23}H_{25}ClN_2$) یک ریزآلاینده (micro-pollutant) است که به وفور در پسابهای صنعتی و رنگرزی وجود دارد و سبب بروز آسیب ها و صدماتی در اکوسیستم می گردد (Sharma et al., 2023). این رنگ در گذشته در آبی پروری و تهیه قارچ کش ها و آنتی باکتری ها متداول بوده، بااینحال به دلیل آثار منفی، استفاده از آن محدود شده است. ماده رنگزای کریستال ویوله (ویولت، Crystal violet, $C_{25}N_3H_{30}Cl$) نیز در پسابهای کارخانجات صنعتی، نساجی، کاغذ، چرم و غیره وجود دارد که مشابه با مالاشیت گرین، می تواند سبب آلودگی اکوسیستم های آبی شده و به اکوسیستم های خشکی و مزارع کشاورزی نیز راه یابد. حذف رنگهای نساجی و صنعتی از پسابهای آلاینده، طی سالهای اخیر به روشهای فیزیکی، شیمیایی و همچنین بیولوژیک صورت گرفته اند (Moradi et al., 2019; Rasolzadeh et al., 2019; Ghafarizadeh and Madadkar Haghjou, 2023). بعنوان مثال، در روش جذب سطحی زیستی، از پوسته برخی بذور نظیر بذر رازیانه، پوسته بادام و بذر خرما برای جذب رنگ های اضافی در محیط آبی بهره گیری شده است (Sulthana et al., 2022; Sorour et al., 2024).

با این حال، مساله آلودگی رنگ های مصنوعی، علاوه بر موارد ذکر شده می تواند از جنبه های دیگر زیست محیطی نیز مورد توجه قرار گیرد. یکی از این جنبه ها، بررسی تاثیرات منفی و یا مثبت احتمالی این رنگها بر جوانه زنی بذور گیاهی بعنوان یک مرحله بسیار حائز اهمیت در تشکیل و استقرار گیاهچه ها می باشد. تحقیقات نشان داده اند که عوامل تنش زای زیستی و غیرزیستی همواره سبب تغییرات عمده در بیوسنتز و تولید متابولیت های ثانویه (بویژه در گیاهان دارویی) می شوند که بنابراین مورد توجه محققان بوده و می توانند در جهت تولید برخی متابولیت ها بکار گرفته شوند.

شواهدی وجود دارد که نشان می دهد، مالاشیت گرین و نیز کریستال ویوله در تماس با سلول های زنده سبب ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) میگردند که هموستازی ردوکس و عملکردهای سلول را تغییر می دهد (Biradar et al., 2022; Owusu et al., 2019) از اینرو، پرایمینگ بذرهای گیاه دارویی زرین گیاه با رنگ های نامبرده، موضوع این تحقیق قرار گرفت. با توجه به جوانه زنی و رویش ضعیف بذر زرین گیاه، بویژه در شرایط تنش های محیط زیستی، از رنگ های مالاشیت گرین و نیز کریستال ویوله به عنوان القا کننده احتمالی سیستم آنتی اکسیدانی سلول (عاملی مشابه با ردوکس پرایمینگ) و از پراکسید هیدروژن بعنوان یک عامل تنش زای محیطی استفاده شد.



۲. مواد و روش‌ها

آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی، در ۳ تکرار انجام شد و مقایسات میانگین صفات با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن انجام گرفتند. ضد عفونی سطحی بذور (نگهداری شده به مدت ۵ سال در دمای ۴ درجه سانتی گراد) با استفاده از هیپوکلریت سدیم خالص به مدت ۱۰ دقیقه و سپس شستشوی کامل آنها با آب مقطر و پس از آن خیساندن در محلول ویتاواکس ۰/۲ درصد به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. پس از آن شرایط آزمون برای اعمال شرایط پرایمینگ مطابق جدول ۱، مهیا گردید و بذرها با آب مقطر و یا محلول های رنگی مالاشیت گرین (۵۰ پی پی ام)، کریستال ویوله (۵۰ پی پی ام) و یا میزان مساوی از هر دو رنگ (با غلظت های ذکر شده)، به مدت ۵ ساعت پرایم شدند. پس از پایان زمان پرایمینگ، بذرها از محلولها خارج شده و خشک شدند. یک روز بعد، تعداد ۲۵ بذر بعنوان یک تکرار در هر پلیت، بر روی کاغذ صافی، در دمای 19 ± 1 درجه سانتی گراد و شرایط نوری ۷۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه قرار گرفت. در مرحله بعد، اعمال شرایط تنش به کلیه بذرها پرایم شده و پرایم نشده با محلول ۰/۳ میلی مولار H_2O_2 در داخل پلیتهای حاوی یک عدد کاغذ صافی انجام شد. نمونه های بدون شرایط تنش، با مقدار هم حجم آب مقطر تیمار شدند. جوانه زنی بذور در مدت ۷ روز، بصورت هر روزه یادداشت گردید و شاخص های جوانه زنی بذور با استفاده از معادلات مربوطه محاسبه (Armand Torab et al., 2015; Ghannad et al., 2017) و به همراه خصوصیات مورفولوژیک گیاهچه ها در جدول ۱ آورده شدند. در مدت ۷ روز آزمون، تیمارها بسته به نیاز، با آب مقطر و یا محلول ۰/۳ میلی مولار H_2O_2 تیمار شدند.

۳. نتایج

نتایج بدست آمده از این تحقیق بر اساس جدول ۱ و شکل ۱، نشان می دهد که اعمال تنش H_2O_2 به بذور پرایم نشده، سبب افزایش درصد نهایی جوانه زنی و همچنین سرعت جوانه زنی گردید (نمونه A در مقایسه با نمونه B). با اینحال طول ریشه چه خارج شده از بذر بر اثر تنش H_2O_2 ، در مقایسه با بذر در شرایط بدون تنش کاهش یافت و برخی لپه ها نیز به طور کامل از بذر خارج نشدند. در این دو حالت، کلیه گیاهچه ها نیز به حالت خوابیده مشاهده شدند.

مقایسه تاثیر هیدروپرایمینگ با آب مقطر (نمونه C)، اثر مثبت هیدروپرایمینگ بر درصد نهایی جوانه زنی و نیز سرعت جوانه زنی را نشان می دهد که سبب کاهش معنی دار میانگین زمان جوانه زنی گردید. افزایش قابل توجه طول ریشه ها و نیز حالت مورفولوژیک ایستاده و رنگ سبز طبیعی گیاهچه ها، از دیگر صفات در این شرایط بود. هر چند شرایط تنش H_2O_2 (نمونه D)، سبب افت این شاخص ها گردید و درصد جوانه زنی را کاهش و زمان آنرا افزایش داد.

تاثیر پرایمینگ با رنگ های کریستال ویوله (E, F) و یا مالاشیت گرین (G, H)، چه در شرایط تنش و چه در شرایط بدون تنش بر همه بذور داخل پلیت همسان و مشابه نبود و سبب بروز تفاوت هایی میان بذور در داخل هر پلیت گردید. هر چند تاثیر H_2O_2 بر بذر پرایم شده با کریستال ویوله بصورت افزایش درصد جوانه زنی نمایان گردید، اما سرعت جوانه زنی را کاهش و میانگین زمان جوانه زنی را افزایش داد، همچنین سبب کم رنگ شدن لپه ها، کاهش طول ریشه ها و خوابیده شدن گیاهچه ها بر سطح بستر گردید.



تاثیر H_2O_2 بر بذر پرایم شده با مالاشیت گرین (H, G)، تا حدودی با رنگ کریستال ویوله (F, E) متفاوت بود، بدین صورت که سبب افزایش درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی و خروج لپه ها از پوسته بذر گردید، اما طول ریشه ها را کاهش داد.

تاثیر تنش H_2O_2 بر بذرهایی پرایم شده با هر دو رنگ، نیز مجددا بصورت افزایش درصد و سرعت جوانه زنی و کاهش میانگین زمان جوانه زنی و نیز افزایش میزان خروج لپه ها از پوسته بذر نمایان گردید، هرچند گیاهچه ها مجددا به حالت خوابیده نمایان شدند.

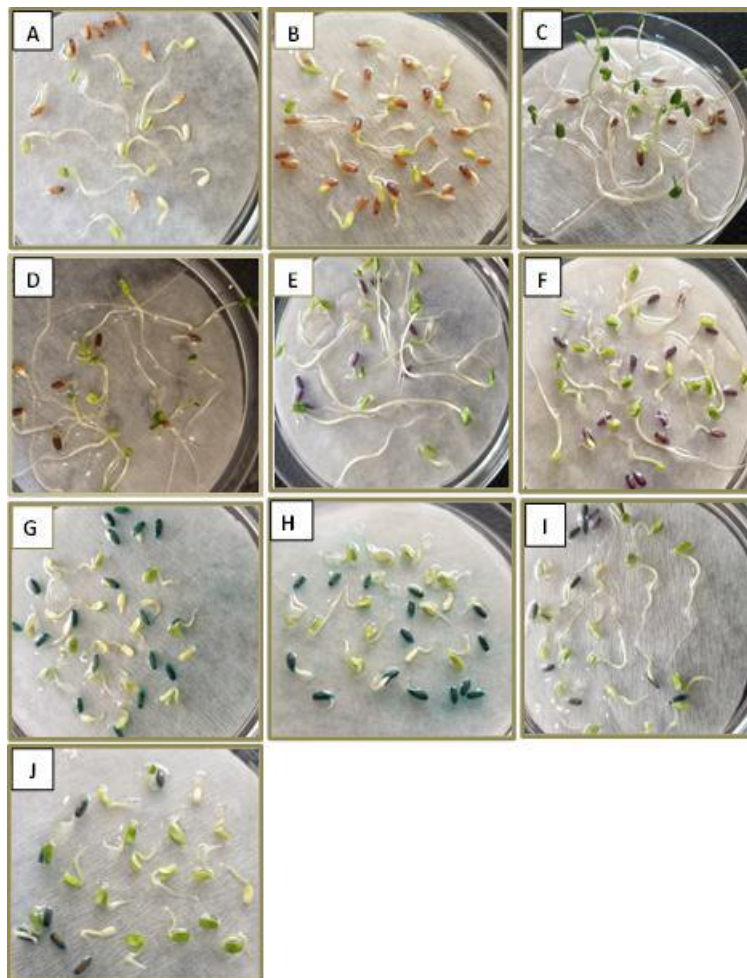
بذر پرایم شده با کریستال ویوله در شرایط بدون تنش (نمونه E) نسبت به بذر پرایم شده با مالاشیت گرین در همین شرایط (نمونه G) دارای سرعت بیشتر جوانه زنی بود، درحالیکه اعمال شرایط تنش H_2O_2 ، سبب وارونه شدن نتایج شده و بذر پرایم شده با مالاشیت گرین، تحریک سرعت جوانه زنی (F نسبت به E) و بذر پرایم شده با کریستال ویوله (H نسبت به G) کاهش سرعت جوانه زنی را نشان داد.

جدول ۱. مشخصات تیمارهای پرایمینگ، شرایط کشت بذور و شاخص های جوانه زنی

سرعت جوانه زنی	میانگین زمان جوانه زنی	درصد نهایی جوانه زنی	طول ریشه چه (سانتی متر)	حالت مورفولوژیک بذور جوانه زده و گیاهچه ها	شرایط رشد بذور پس از پرایمینگ (7 d)	شرایط پرایمینگ بذور (5 h)
GRI	MGT	FGP				
۹/۲۸ g	۲/۲۶ a	۷۶ e	غالباً <۰/۱-۵	همه گیاهچه ها بحالت خوابیده- لپه ها سفیدرنگ تا سبز کمرنگ	آب مقطر	بدون پرایم
۱۱/۲۸ f	۲/۳۰ a	۹۲ a	غالباً <۰/۰-۳/۵	همه گیاهچه ها بحالت خوابیده- لپه ها سفیدرنگ و به طور کامل خارج نشده از پوسته بذر	تنش H_2O_2	بدون پرایم
۱۷/۰۸ c	۱/۵۵ c	۸۸ b	غالباً ۵-۳	تقریباً نیمی از گیاهچه ها بحالت ایستاده- لپه ها سبز کمرنگ تا سبز پررنگ	آب مقطر	آب مقطر
۱۰ g	۲/۴۴ a	۸۴ c	کمتر از ۵	برخی گیاهچه ها بحالت ایستاده- لپه ها سبز کمرنگ	تنش H_2O_2	آب مقطر
۱۹/۵۰ a	۱/۱۴ d	۸۴ c	غالباً ۲ تا کمی بلندتر	کمتر از نیمی از گیاهچه ها بحالت ایستاده- لپه ها سبز رنگ	آب مقطر	کریستال ویوله



۱۴/۱۲ ^e	۱/۹۵ ^b	۸۸ ^b	غالباً <۰/۰-۵/۷	محدود گیاهیچه بحالت ایستاده- لپه ها سفیدرنگ تا سبز کمرنگ	تنش H ₂ O ₂	کریستال ویوله	F
۱۶/۵۰ ^d	۱/۴۳ ^{cd}	۸۴ ^c	غالباً ۰/۵	همه گیاهیچه ها بحالت خوابیده- لپه ها سفیدرنگ و سبز بسیار کمرنگ - لپه ها خارج نشده از پوسته بذر	آب مقطر	مالاشیت گرین	G
۱۸/۳۳ ^b	۱/۵۰ ^c	۸۸ ^b	غالباً ۰/۰-۳/۵	همه گیاهیچه ها بحالت خوابیده- لپه ها سفیدرنگ و سبز کمرنگ - لپه ها خارج نشده یا خارج شده از پوسته بذر	تنش H ₂ O ₂	مالاشیت گرین	H
۱۶/۲۸ ^d	۱/۶۰ ^c	۸۰ ^d	غالباً <۰/۵	محدود گیاهیچه بحالت ایستاده- لپه ها خارج نشده یا خارج شده از پوسته بذر	آب مقطر	کریستال ویوله + مالاشیت گرین	I
۱۸/۸۳ ^b	۱/۳۲ ^d	۸۸ ^b	غالباً تا ۰/۵	همه گیاهیچه ها بحالت خوابیده - لپه ها غالباً خارج شده- سبز کمرنگ	تنش H ₂ O ₂	کریستال ویوله + مالاشیت گرین	J





شکل ۱: بذور جوانه زده و گیاهچه های زیرین گیاه پس از تیمارهای مختلف پرایمینگ، در شرایط تنش و غیر تنش (شرح تیمارها مطابق جدول ۱)، هشت روز پس از کاشت در پلیت.

۴. بحث و نتیجه گیری

تاثیر تیمار پرایمینگ با رنگ های مالاشیت گرین و کریستال ویوله بر بذور زیرین گیاه یکسان نبود و در شرایط کشت بدون تنش، پرایمینگ با کریستال ویوله سبب افزایش سرعت جوانه زنی، طول ریشه ها و نیز ایستاده بودن گیاهچه ها نسبت به پرایمینگ با رنگ مالاشیت گرین گردید. این مساله تاثیر مثبت و بهتر کریستال ویوله را نسبت به مالاشیت گرین و همچنین نسبت به بذور بدون پرایم یا پرایم شده با آب مقطر در شرایط بدون تنش، نشان داد. اما بر اساس نتایج یک تحقیق، تاثیر ۱۰۰ میلی گرم در لیتر کریستال ویوله بر روی بذور گندم (*Triticum aestivum*) و ماش (*Vigna radiata*) سبب ممانعت از جوانه زنی بذور به میزان ۴۲ درصد و ۵۱ درصد گردید (Tian et al., 2024). به نظر می رسد که کمتر بودن غلظت کریستال ویوله در تحقیق حاضر (۵۰ میلی گرم در لیتر) و نیز پرایمینگ بذور با کریستال ویوله نسبت به تیمار مستقیم بذور در حال جوانه زنی، در بروز آثار مثبت و بهبود شاخص ها به جای تاثیرات منفی، موثر بوده است.

با اینحال در شرایط تنش H_2O_2 ، پرایمینگ با مالاشیت گرین تاثیر تحریک کننده و مثبت بیشتری نسبت به پرایمینگ با کریستال ویوله بر سرعت و میانگین زمان جوانه زنی نشان داد، ولی در عین حال بر روی طول ریشه ها نیز تاثیر منفی داشت. تاثیر مثبت نسبی پرایمینگ با مالاشیت گرین بر بذور در شرایط کشت در تنش H_2O_2 را می توان به تاثیر القایی و تحریک سیستم آنتی اکسیدانی سلولها به دلیل القای تنش اکسیداتیو و تولید گونه های فعال اکسیژن در بذور پرایم شده، نسبت داد (Shivtej et al., 2020) که در مقابله با تنش اکسیداتیو بعدی (H_2O_2) می تواند آماده بوده و به گونه ای بهتری عمل نماید.

اعمال شرایط تنش H_2O_2 بر بذور پرایم شده با کریستال ویوله، آب مقطر و بذور بدون پرایم، درصد و سرعت جوانه زنی را کاهش داد، هرچند سرعت جوانه زنی در بذور بدون پرایم، نسبت به شرایط معمولی و بدون تنش، اندکی افزایش پیدا کرد، با اینحال کمتر از تیمارهای رنگ باقی ماند. در برخی تحقیقات، برای H_2O_2 با غلظت بیش از ۱ میلی مولار (Ghafari-zadeh and Madadkar Haghjoui 2020) تاثیرات منفی و برای غلظت های زیر ۱ میلی مولار، بعضی اثرات مثبت سیگنالی گزارش شده است (Noctor et al., 2016)، اما در این تحقیق غلظت ۰/۳ میلی مولار H_2O_2 تاثیرات منفی را بروز داد که می تواند بخشی از آن به دلیل حساس بودن مرحله جوانه زنی بذور باشد.

در مجموع، پرایمینگ بذور زیرین گیاه با مالاشیت گرین که در شرایط کشت بذور بدون تنش، بیشتر تاثیرات منفی را موجب می شود، قادر است در شرایط تنش H_2O_2 ، تاثیرات مثبت بیشتری نسبت به تیمار با کریستال ویوله را نشان دهد که این نتیجه می تواند به دلیل تحریک سیستم آنتی اکسیدانی سلول باشد. در مقابل، پرایمینگ بذرها با آب مقطر اگرچه در شرایط بدون تنش، نتایج بسیار خوبی نشان داد، اما در شرایط تنش H_2O_2 سبب افت معنی دار شاخص ها شد و نتوانست مقاومت گیاهچه را نسبت به تنش اکسیداتیو بهبود بخشد. در مقایسه، بذور بدون پرایم نسبت به پرایم شده ها با آب مقطر وضعیت بهتری داشتند. به نظر می رسد، علاوه بر تاثیر رنگها، نگهداری طولانی مدت بذرها در یخچال و نیز استفاده از هیپوکلریت سدیم خالص در ضد عفونی نمودن پوسته بذور، در رفع بازدارندگی پوسته و افزایش میزان جوانه زنی بذور زیرین گیاه موثر بوده است.



منابع

- Armand Torab, K., Madadkar Haghjou, M., and Ismaili. A. (2015). Improvement of *Medicago sativa* seed tolerance to salt stress by Na_2SiO_3 and KNO_3 treatments at different time levels. *Iranian Journal of Plant Biology*, 7(26): 75-96.
- Biradar, S.P., Khandare, R.V., Govindwar, S.P. and Pawar, P.K. (2022). Polyherbal decoction modulates redox homeostasis during Malachite green induced metabolic stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Indian Journal of Experimental Biology*, (60): 17-26.
- Ghafari-zadeh, A., and Madadkar Haghjou, M. (2023). Bioremediation of acid blue 113 dye by *Spirulina platensis* blue-green microalga under sucrose treatment and absence of C and N mineral sources. *Journal of Plant Biological Sciences*. 15 (3) 57:45-76.
- Ghafari-zadeh, A., and Madadkar Haghjou, M. (2020). Investigating the effect of hydrogen peroxide on biomass and morphophysiological indices of microalga *Dunaliella Salina* pretreated by four phytohormones: Auxin, gibberellin, cytokinin, and salicylic acid. *Biological Journal of Microorganism*, 9(34), 87-104.
- Ghannad, R., Akbari, F., and Haghjou, M.M. (2017). Effect of blue-green and green algae *Spirulina*, *Chlorella*, *Dunaliella*, and minerals on the stimulation of metabolic and biochemical processes of germination in *Dracocephalum kotschy* Boiss. seeds. *Nova Biologica Reperta*. 3 (4): 295-307.
- Ghannad, R., Madadkar Haghjou, M., Raza, A., and Hasanuzzaman., M. (2022). Induction of hydrolytic enzyme activities in dormant seeds of *Dracocephalum kotschy* Boiss. causes improvement of germination and seedling vigor indices . *Acta Physiologiae Plantarum* 44 (48), 1-16.
- Kosari, N., and Khamesipour, F., (2022). *Dracocephalum kotschy* Boiss. *In Vitro* efficacy on growth and apoptosis induction in *Leishmania major* promastigotes. *Biomed Res Int*. 14:8109264.
- Matpang, P., Sriuttha, M., and Piwpuan, N. (2017). Effects of malachite green on growth and tissue accumulation in pak choy (*Brassica chinensis* Tsen & Lee), *Agriculture and Natural Resources*. 51(2): 96-102.
- Moradi, Z., Madadkar Haghjou, M., and Zarei., M. (2019). Bioremediation of textile dye Direct Blue 129, by green alga *Chlorella vulgaris* Beijerinck and cyanobacter *Spirulina (Arthrospira) platensis* Gomont, and influence of dye on their physiological and biochemical indices. *Journal of Plant Biological Sciences* 11 (4), 83-106.
- Noctor G., Mhamdi A., and Foyer C.H. (2016). Oxidative stress and antioxidative systems: recipes for successful data collection and interpretation. *Plant, Cell and Environment*, 39(5): 1140-1160.
- Owusu, E.G.A., MacRobert, A.J., INaasani, I., Parkin, I.P., Allan, E., and Yaghini, E. (2019). Photoactivable polymers embedded with cadmium-free quantum dots and crystal violet: Efficient bactericidal activity against clinical strains of antibiotic-resistant bacteria. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 11(13):12367-12378.
- Rasolzadeh, F., Hashemi, P., Madadkar Haghjou, M., and Safdarian, M., (2019). *Chlorella Vulgaris* microalgae as a analytical and green packing for the microextraction by packed sorbent of nitrofurantoin in urine. *Bioanalytical Chemistry Research*, 6 (2), 419-429.
- Sharma, J., Sharma, S., and Soni, V. (2023). Toxicity of malachite green on plants and its phytoremediation: Regional Studies in Marine Science. 62, 102911.
- Sorour, F.H., Aboeleneen, N.M., Abd El-Monem, N.M., Ammar, Y.A., and Mansour R.A. (2024). Removal of malachite green from wastewater using date seeds as natural adsorbent; isotherms, kinetics, Thermodynamic, and batch adsorption process design. *International Journal of Phytoremediation* 26(6):1-15.
- Sulthana, R., Taqui, S.N., Syed, U.T., Soudagar, M.E.M., Mujtaba, M.A., Mir, R.A., Shahapurkar, K., Khidmatgar, A., Mohanavel, V., Syed, A.A., and Hossain, N. (2022) Biosorption of crystal violet by nutraceutical industrial fennel seed spent equilibrium, kinetics, and thermodynamic studies. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 43:102402.
- Tian, Y., Wu, K., Lin, S., Shi, M., Liu, Y., Su, X., and Islam, R. (2024). Biodegradation and decolorization of crystal violet dye by cocultivation with fungi and bacteria. *ACS Omega*, 9(7):7668-7678.



تأثیر پرایمینگ بذر گیاه دارویی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*) با ZnO-NPs بر شاخص های جوانه زنی تحت تنش شوری

مریم مددکار حق جو^{*۱}

^{*۱} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان، خرم آباد. (madadkar.m@lu.ac.ir)

چکیده

پاسخ برخی شاخص های جوانه زنی بذر و طول اندامهای گیاه چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*) در پاسخ به تنش شوری (۷۰ میلی مولار) با استفاده از تیمار ۱۲ ساعته پرایمینگ بذور با آب مقطر و یا ZnO-NPs (۱۰۰ پی پی ام) در یک دوره ۷ روزه، در سه تکرار در داخل پلیت مورد بررسی قرار گرفت. تنش شوری، تیمار پرایمینگ با آب مقطر و نیز پرایمینگ با نانوذره بر درصد جوانه زنی تأثیر افزایشی و مثبت داشتند، اما تنش شوری سبب افزایش میانگین زمان جوانه زنی نسبت به شرایط بدون تنش شد. هر دو تیمار پرایمینگ (آب مقطر و نیز نانوذره) سبب کاهش میانگین زمان جوانه زنی در تنش شوری شدند، اما آب مقطر تأثیر بهتری داشت. طول گیاهچه تا حدوداً دو برابر تحت تأثیر پرایمینگ با نانوذره در شرایط بدون تنش افزایش یافت. افزایش ضریب آلومتری در پرایمینگ با آب مقطر در شرایط تنش شوری به دلیل کاهش بیشتر طول ریشه چه نسبت به ساقه چه در شرایط تنش بود که در تیمار با نانوذره روی مشاهده نشد. در مجموع، به نظر می رسد که تیمار پرایمینگ با نانوذره روی دارای برخی تأثیرات مثبت بر شاخص های جوانه زنی و رشد گیاهچه در شرایط تنش شوری بود، اگرچه تیمار پرایمینگ با آب مقطر نیز عملکرد خوبی نشان داد.

واژگان کلیدی: تنش نمکی، جوانه زنی، طول ساقه چه، طول ریشه چه، نانوذره روی



۱. مقدمه

شوری یکی از مهم ترین تنش های غیرزیستی است که بر تولید محصول در مناطق خشک تأثیر می گذارد. از روشهای مختلف پرایمینگ بعنوان تکنیکی که به بهبود مراحل حساس حیات گیاه یعنی جوانه زنی بذر و استقرار گیاهچه کمک می کند، استفاده شده (Ghannad et al., 2022; Ghannad et al., 2017) و نشان داده شده که روش نانو پرایمینگ علاوه بر بهبود مقاومت گیاه در برابر تنش های غیرزیستی، رشد گیاه را هم افزایش می دهد (Al-Salama, et al., 2022). عنصر Zn یک ریز مغذی ضروری است که برای فرایندهای متابولیکی گیاه و حیات آن ضروری است و میزان تأثیر آن بسته به شرایط محیطی تیماردهی گیاه متفاوت است (Mazaheri Tirani et al., 2018a). برخی تحقیقات، تأثیرات مثبت تیمار بذور با Zn را بسته به غلظت و نوع گیاه نشان داده اند (Zafar et al., 2022; Al-Salama, et al., 2022; Mazaheri Tirani et al., 2018b). چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*)، یک گیاه دارویی ارزشمند از خانواده پنیرک (Malvaceae) است و مواد موثره موجود در کاسبرگهای آن در داروسازی و نیز صنایع غذایی حائز اهمیت هستند. برخی تحقیقات قبلی از کاهش درصد جوانه زنی بذر و طول اندامهای گیاهچه چای ترش بر اثر تنش شوری گزارش داده اند (بیمرغی، ۱۴۰۱؛ آهنگر، ۱۳۹۵). بنابراین، در این تحقیق، تأثیر نانو پرایمینگ با نانوذرات ZnO بر روی پاسخ به شوری بذور چای ترش بررسی شد.

۲. مواد و روش ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی، در ۳ تکرار انجام شد و مقایسات میانگین صفات با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن انجام گرفتند. ضد عفونی سطحی بذور *H. sabdariffa* با استفاده از هیپوکلریت سدیم خالص به مدت ۱۵ دقیقه و سپس شستشوی کامل با آب مقطر و پس از آن خیساندن در محلول ویتاواکس ۰/۲ درصد به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. سپس، شرایط آزمایش برای اعمال شرایط پرایمینگ مطابق جدول ۱، مهیا گردید و بذرها با آب مقطر و یا محلول نانوذره اکسید روی (ZnO-NPs) (محدوده ۲۲ نانومتر و غلظت ۱۰۰ پی پی ام) به مدت ۱۲ ساعت پرایم شدند. پس از پایان زمان پرایمینگ، بذرها از محلولها خارج شده و خشک شدند. یک روز بعد، تعداد ۱۵ بذر بعنوان یک تکرار در هر پلیت، بر روی کاغذ صافی و در دمای 20 ± 1 درجه سانتی گراد و شرایط نوری ۷۰ میکرومول فوتون بر مربع بر ثانیه قرار گرفتند. در مرحله بعد، اعمال شرایط تنش شوری به کلیه بذرها پرایم شده و پرایم نشده با محلول نمکی ۷۰ میلی مولار NaCl در داخل پلیتهای حاوی یک عدد کاغذ صافی انجام شد. نمونه های بدون شرایط تنش، با مقدار هم حجم آب مقطر تیمار شدند. جوانه زنی بذور در مدت ۷ روز، بصورت هر روزه یادداشت گردید و شاخص های جوانه زنی با استفاده از معادلات مربوطه، محاسبه (Armand Torab et al., 2015; Ghannad et al., 2017) و به همراه خصوصیات مورفولوژیک گیاهچه ها در جدول ۱ آورده شدند. در مدت ۷ روز آزمون، تیمارها بسته به نیاز، بطور مداوم با آب مقطر و یا محلول نمکی تیمار شدند.



۳. نتایج

بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۱ و شکل ۱، تیمار پرایمینگ بذور با ZnO-NPs سبب افزایش درصد جوانه زنی نسبت به بذور پرایم نشده که در شرایط آب مقطر کشت داده شده بودند، گردید (نمونه E, F در مقایسه با نمونه A). از سویی، تفاوتی میان بذور پرایم شده با نانوذره که برخی در شرایط آب مقطر و برخی دیگر در شرایط تنش شوری کشت داده شدند، در درصد جوانه زنی مشاهده نشد (نمونه E در مقایسه با نمونه F). درحالیکه تفاوت معنی داری ($p < 0.05$) میان بذور پرایم شده با آب مقطر که بعداً نیز در شرایط آب مقطر کشت داده شدند با بذور پرایم شده با آب مقطر که سپس در شرایط تنش شوری قرار گرفتند، از نظر میزان جوانه زنی مشاهده شد (نمونه C در مقایسه با نمونه D)، بطوریکه درصد جوانه زنی در D بیشتر از C بود. میانگین زمان جوانه زنی در بذور پرایم نشده ایکه در آب مقطر رشد داده شدند، از سایر تیمارها بیشتر بود (A). در مرتبه بعد بذور بدون پرایم قرار داده شده در تنش شوری بودند (B) و در مرتبه سوم، بذور پرایم شده با نانوذره قرار گرفتند که در تنش شوری کشت داده شده بودند (F). این مساله نشان می دهد که تیمار پرایمینگ با نانوذره نسبت به تیمار پرایمینگ با آب مقطر از موفقیت بیشتری در کاهش زمان میانگین جوانه زنی بذور چای ترش، برخوردار نبودند، عبارتی تیمار پرایمینگ با آب مقطر موفق تر از پرایمینگ با نانوذره روی در این رابطه عمل کرد (نمونه D در مقایسه با نمونه F). کمترین میانگین زمان جوانه زنی به بذور پرایم شده با آب مقطر و یا پرایم شده با نانوذره که سپس در شرایط بدون تنش و آب مقطر قرار گرفتند، اختصاص داشت (C).

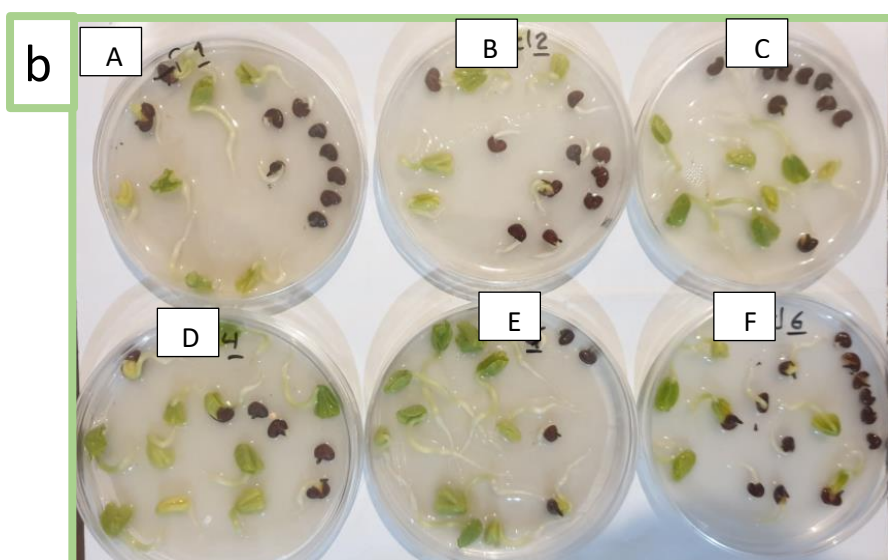
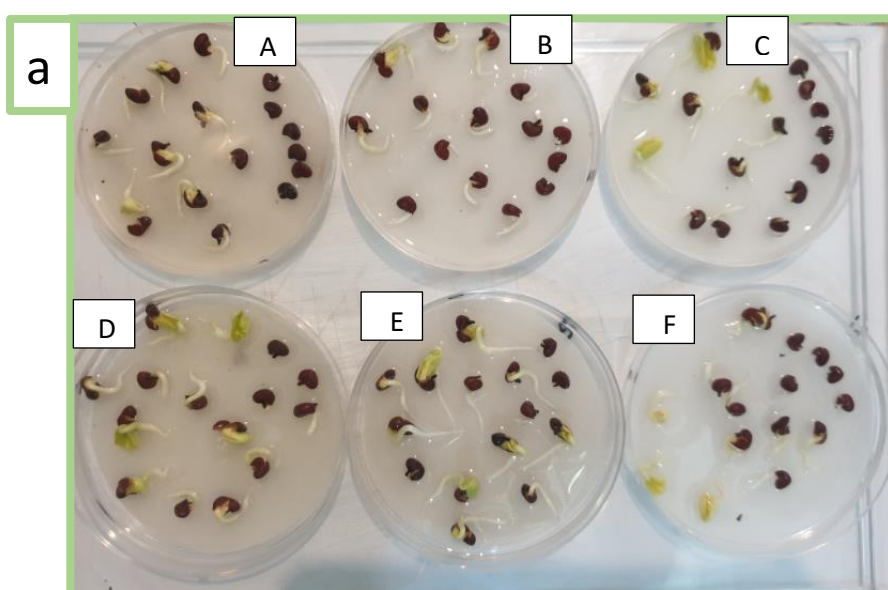
طول گیاهچه های هفت روزه حاصل از بذور پرایم شده با نانوذره که در شرایط بدون تنش رشد کردند بطور معنی دار ($p < 0.05$) از سایر تیمارها بیشتر بود و کمترین طول گیاهچه مربوط به بذور پرایم نشده ایکه در تنش شوری قرار گرفتند، بود. پرایمینگ با نانوذره در مقایسه با پرایمینگ با آب مقطر، پتانسیل بیشتری برای افزایش طول گیاهچه در شرایط تنش شوری نشان داد (نمونه F در مقایسه با نمونه D).

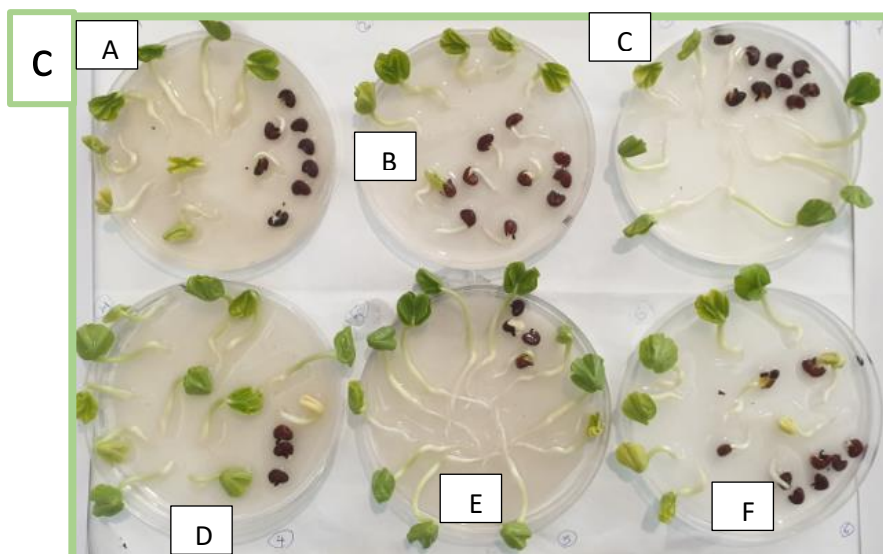
ضریب آلومتری (نسبت ساقه چه به ریشه چه) در بذور پرایم شده با آب مقطر، نسبت به بذور پرایم شده با نانوذره هنگامیکه در تنش شوری قرار گرفتند (نمونه F در مقایسه با نمونه D)، برتری داشت و مقدار بیشتری را نشان داد که مربوط به کاهش طول ساقه چه، همزمان با افزایش طول ریشه چه در نمونه F نسبت به نمونه D بود. این بدان معنی است که تیمار با نانوذره طول ریشه چه را افزایش و طول ساقه چه را کاهش داده است و بهمین علت طول گیاهچه ها در نمونه F به مقدار آنها در نمونه D که دارای ضریب آلومتری بسیار بالاتر (به جهت دارا بودن طول ساقه چه بیشتر و ریشه چه کوتاهتر) است، نزدیک می شود.

جدول ۱. مشخصات تیمارهای پرایمینگ، شرایط کشت بذور *Hibiscus sabdariffa* و شاخص های جوانه زنی

شرایط پرایمینگ	شرایط رشد	درصد نهایی جوانه زنی (FGP)	میانگین زمان جوانه زنی (MGT)	طول گیاهچه (Seedling length)	ضریب آلومتری
پرایمینگ بذور (12 h)	بذور پس از پرایمینگ (7 d)				

۲/۰ ^c	۳/۸۳ ^c	۱/۷ ^a	۶۶/۷ ^d	آب مقطر	بدون پرایم	A
۲/۴۳ ^b	۲/۰۷ ^e	۱/۵۴ ^b	۸۶/۷ ^b	تنش شوری	بدون پرایم	B
۱/۶۷ ^c	۴/۸۸ ^b	۱/۰ ^e	۸۰ ^c	آب مقطر	آب مقطر	C
۵/۳۸ ^a	۳/۴۰ ^d	۱/۲۱ ^d	۹۳/۳ ^a	شوری تنش	آب مقطر	D
۱/۲۳ ^d	۶/۶۷ ^a	۱/۰ ^e	۸۶/۷ ^b	آب مقطر	ZnO-NPs	E
۱/۶۱ ^c	۳/۸۰ ^c	۱/۳۸ ^c	۸۶/۶ ^b	شوری تنش	ZnO-NPs	F





شکل ۱: بذور جوانه زده و گیاهچه های *Hibiscus sabdariffa* پس از تیمارهای مختلف پرایمینگ با نانوذره اکسید روی (۱۰۰ پی پی ام) و یا آب مقطر، در شرایط تنش شوری NaCl (۷۰ میلی مولار) و غیر تنش (مطابق جدول ۱). قسمت a، b و c به ترتیب؛ ۲ روز، ۵ روز و یک هفته پس از کاشت در پلیت.

۴. بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق، تاثیر نانوذرات ZnO بر روی پاسخ به شوری بذور چای ترش بررسی گردید. نتایج نشان داد که درصد جوانه زنی با اعمال تنش شوری به بذور پرایم شده با آب مقطر بیشتر از بذور پرایم شده با نانوذره روی بود و بالعکس میانگین زمان جوانه زنی بذرها کمتر بود (نمونه D نسبت به F). این مساله ممکن است با غلظت استفاده شده از نانوذره (۱۰۰ پی پی ام) مرتبط باشد که بنابراین استفاده از غلظت های کمتر ممکن است توصیه شوند. با اینحال، همین غلظت سبب افزایش قابل ملاحظه طول اندامها و بویژه طول ریشه چه در نمونه پرایم شده با نانوذره و قرار گرفته در شرایط بدون تنش گردید (شکل ۱، نمونه E نسبت به A). این امر به تاثیر مثبت نانوذره اکسید روی (در غلظت ۱۰۰ پی پی ام) بر افزایش طول اندام ریشه چه اشاره دارد. تاثیرات مثبت پرایمینگ با نانوذره ZnO بر طول اندامها در گیاهچه *Spinacia oleracea* L. در تنش ۱۰۰ میلی مولار نمکی نیز مشاهده شده است (Zafar et al., 2022).

درصد جوانه زنی در بذور بدون پرایم در تنش شوری (B)، با بذور پرایم شده با نانوذره (F) یکسان و هردو از نمونه A بیشتر بودند. این مساله نشان می دهد که نانوذره سبب القا و تحریک جوانه زنی شده است، زیرا صرف تنش شوری هم در بذور بدون پرایم (B)، سبب تحریک جوانه زنی در مقایسه با بذور بدون پرایم و بدون تنش (A) گردید. آهنگر، در سال ۱۳۹۵ گزارش کرد که شوری های بیش از ۱۰۰ میلی مولار نمک سبب کاهش میزان جوانه زنی شدند. در این تحقیق بذور بدون پرایم و بدون تنش (A)، جوانه زنی صدد درصد نداشتند، درحالیکه تیمارهای شوری (۷۰ میلی مولار) و پرایمینگ آب مقطر و همینطور نانوذره روی سبب افزایش معنی دار درصد جوانه زنی شدند که به نظر می رسد، بخاطر یک تاثیر القایی و تحریک کننده باشد.



در بررسی صفات مورفولوژیک (شکل ۱)، به نظر رسید که مراحل اولیه شکافته شدن پوسته بذر و ظاهر شدن اولیه ریشه چه در غالب بذور داخل پلیت ها و تیمارهای مختلف، بسرعت در چند روز اول کشت صورت میگیرد. اما با در معرض قرار گرفتن ریشه چه در محیط، تاثیرپذیری بافت جنین از تیمارها بیشتر شده و سبب تاثیرگذاری مستقیم بر خروج لپه ها از پوسته بذر، رنگ لپه ها و ادامه رشد و نمو ساقه چه و ریشه چه می گردد. به همین دلیل در اتمام آزمون، تقریباً تمام بذور در پلیت به حالت جوانه زده مشاهده می شوند، درحالیکه مراحل بعدی آنها تا رسیدن به گیاهچه کامل نشده است. (آهنگر، ۱۳۹۵) نیز تغییر در طول اندامها بر اثر تیمار شوری را بیشتر از میزان تغییرات در درصد جوانه زنی دانست که می تواند به همین دلیل باشد. آزمایشات دیگری نیز تاثیرپذیری اندک درصد جوانه زنی از تیمارهای نانوذره ZnO را گزارش نمودند (Mazaheri Tirani et al., 2018b).

اعمال تنش شوری به بذور پرایم نشده (B)، سبب کاهش طول ساقه چه و ریشه چه نسبت به نمونه A گردید، اما طول ریشه چه را بیشتر کاهش داد و بهمین علت سبب افزایش ضریب آلومتری گردید. ولی همانطور که ذکر شد، پرایمینگ با نانوذره روی (F) سبب افزایش طول گیاهچه در تنش شوری شد. بااینحال، کاهش طول ریشه چه و ساقه چه در تیمار خیساندن بذرهاى تنباکو با نانوذره روی در غلظت مشابه (۱۰۰ پی پی ام) در شرایط بدون تنش شوری طی ۱۴ روز مشاهده شده (Mazaheri Tirani et al., 2018b)، که می تواند مربوط به تفاوت در شکل تیماردهی (یعنی پرایمینگ در تحقیق حاضر در مقایسه با تیمار بذور در یک کشت ۱۴ روزه با نانوذره در گزارش مورد نظر) باشد که تاثیرات منفی را موجب شده است. این امر تاثیر روش پرایمینگ بذر در بروز اثرات مثبت را نشان می دهد.

درمجموع، هر دو پرایمینگ با آب مقطر و نیز با نانوذره روی تاثیرات مثبتی در پاسخ به شوری بذرهاى چای ترش داشتند، اما پرایمینگ با آب مقطر بیشترین تاثیر را بر روی افزایش درصد جوانه زنی تاثیر داشت، درحالیکه، پرایمینگ با نانوذره بیشتر بر روی شاخص های طول اندامها و در نتیجه طول گیاهچه موثر بود.

منابع

- آهنگر، ل.، ۱۳۹۵. بررسی تنش شوری بر جوانه زنی گیاه دارویی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*). نخستین همایش ملی گیاهان دارویی معطر ادویه ایی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران.
- بیمرغی، س.، میرزائیان، م.، امیری، ع.، بهزاد، م.، ۱۴۰۱. بررسی خصوصیات جوانه زنی و رشد گیاهچه چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.) در شرایط مواجهه با تنش شوری، نهمین همایش ملی مطالعات و تحقیقات نوین در حوزه زیست شناسی و علوم طبیعی ایران، تهران.
- Al-Salama, Y., (2022). Effect of seed priming with ZnO nanoparticles and saline irrigation water in yield and nutrients uptake by wheat plants. Environ. Sci. Proc, 16, 37.
- Armand Torab, K., Madadkar Haghjou, M., and Ismaili. A. (2015). Improvement of *Medicago sativa* seed tolerance to salt stress by Na₂SiO₃ and KNO₃ treatments at different time levels. Iranian Journal of Plant Biology, 7(26): 75-96.
- Ghannad, R, Akbari, F., and Haghjou, M.M. (2017). Effect of blue-green and green algae *Spirulina*, *Chlorella*, *Dunaliella*, and minerals on the stimulation of metabolic and biochemical processes of germination in *Dracocephalum kotschy* Boiss. seeds. Nova Biologica Reperta. 3 (4): 295-307.

- Ghannad, R., Madadkar Haghjou, M., Raza, A., and Hasanuzzaman., M. (2022). Induction of hydrolytic enzyme activities in dormant seeds of *Dracocephalum kotschyi* Boiss. causes improvement of germination and seedling vigor indices . Acta Physiologiae Plantarum 44 (48), 1-16.
- Mazaheri Tirani, M., Madadkar Haghjou, M., Sulieman, S., and Ismaili, A. (2018a). Comparative evaluation of zinc oxide effects on tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) grown in different media. Journal of Agricultural Science and Technology, 20 (4): 787-802.
- Mazaheri Tirani, M., Madadkar Haghjou, M., Sulieman, S., Colville, L., Ismaili, A., (2018b). The influence of organic and inorganic chelators on the toxicity of bulk and nanoparticles of zinc oxide during germination and seedling growth of *Nicotiana tabacum* L. Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, 153(3): 436-449.
- Zafar, S., Perveen, S., Kamran, Khan, M, Shaheen, M.R., Hussain, R., Sarwar, N., Rashid, S., Nafees, M., Farid, G., Alamri, S., Shah, A.A., Javed, T., Irfan, M., Siddiqui, M.H. (2022). Effect of zinc nanoparticles seed priming and foliar application on the growth and physio-biochemical indices of spinach (*Spinacia oleracea* L.) under salt stress. PLoS One. Feb 22;17(2):e0263194.



بهبود جوانه زنی و طول گیاهچه گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum*) با محیط غذایی جانشون، تحت تنش خشکی

مریم مددکار حق جو^{*۱}

^{*۱} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان، شهر خرم آباد (madadkar.m@lu.ac.ir)

چکیده

تأثیر پرایمینگ بذر با محیط کشت مغذی جانشون بر جوانه زنی و طول اندامهای ساقه چه و ریشه چه در گیاهچه های گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum*)، تحت تنش خشکی (۳-bar) بوسیله پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی، در سه تکرار، طی ۱۲ روز مطالعه شد. کشت بذر در داخل پلیت صورت گرفت و در هر پلیت، ۱۰ عدد بذر بعنوان یک تکرار قرار داده شد. تیمار پرایمینگ بذر با آب مقطر، در شرایط تنش خشکی منجر به بهبود، صفات جوانه زنی و رشد اندامها نشد. درحالیکه، همین تیمار در شرایط بدون تنش، سبب بهبود معنی دار جوانه زنی، خروج لپه ها از پوسته بذر و نیز افزایش طول اندامها نسبت به بذور پرایم نشده و یا پرایم شده با آب مقطر در تنش خشکی گردید. تیمار پرایمینگ با محیط کشت غذایی جانشون، سبب بهبود جوانه زنی و رشد ریشه چه و ساقه چه در شرایط تنش خشکی گردید، هرچند طول اندامها نسبت به شرایط بدون تنش کاهش یافت. در شرایط بدون تنش، پرایمینگ با محیط کشت جانشون، سبب افزایش معنی دار طول اندامها به بیش از ۲ برابر نسبت به حالت بذر بدون پرایم شد. در کل، پرایمینگ بذرهای گشنیز با محیط کشت غذایی، تأثیرات مثبت بیشتری را نسبت به پرایمینگ با آب مقطر بویژه در شرایط تنش خشکی نشان داد.

واژگان کلیدی: تنش خشکی، طول ساقه چه، طول ریشه چه، محیط کشت مغذی جانشون، هالوپرایمینگ



۱. مقدمه

گیاه گشنیز (*Coriander*) با نام علمی (*Coriandrum sativum*) یک گیاه دارویی یکساله علفی از خانواده چتریان (*Apiaceae*) است. گشنیز دارای ساقه های کمابیش ایستاده است و از اسانس و ترکیبات موثره ساقه ها و سایر بخشهای گیاه در موارد پزشکی و نیز بصورت خوراکی استفاده می شود. امروزه تنش خشکی، یکی از عمده ترین تنشهای محیطی محسوب می شود که عملکرد گیاهان و بیوماس زیستی آنها را که مصارف پزشکی و غذایی کاربرد دارند، کاهش می دهد. تحقیقات متعددی برای بررسی تاثیر تنش خشکی بر گیاهان دارویی از جمله گیاه گشنیز انجام شده و در برخی تحقیقات نیز تلاش شده که از روشهای مختلف برای بهبود وضعیت و مقابله آن با تنش های محیطی از جمله خشکی بهره گیری شود (پناهیان کیوی ۱۳۹۸؛ حنیفه ئی و همکاران ۱۳۹۶؛ شجاعی و همکاران ۱۳۹۲؛ امیری ده احمدی و همکاران ۱۳۹۱؛ درزی و همکاران ۱۳۹۱). گزارش های قبلی نشان داده اند که گیاه گشنیز در زمان جوانه زنی به آب کافی نیاز دارد و پس از آن، در مراحل اولیه رشد به آب بیشتری نسبت به قبل نیاز دارد. در مرحله پس از طویل شدن ساقه است که مقاومت گشنیز به کم آبی افزایش می یابد (قبادی و فتاحی ۱۳۹۵). پرایمینگ تکنیکی است که به منظور القای آنزیمهای مرتبط با جوانه زنی و تحریک متابولیسم بذر بکار گرفته می شود (Ghannad et al., 2017; Ghannad et al., 2022) و نشان داده شده که گیاهچه های حاصل از بذور پرایم شده، معمولاً تنش های محیطی را بهتر تحمل می کنند. روش های پرایمینگ بذر متنوع بوده و عبارت از hydropriming, halopriming, hormonal priming, biopriming و osmopriming (Devika et al., 2021). هالوپرایمینگ بعنوان یکی از روشهای موثر، معمولاً با استفاده از نمکهای غیرآلی نظیر NaCl , KNO_3 , CaCl_2 و CaSO_4 و ... (Nawaz et al., 2013) یا مجموعه ایی از این نمکها و برخی دیگر از مواد معدنی، در قالب یک محیط کشت غذایی بکار می رود که تاثیرات مثبت فراوانی داشته است (Ghannad et al., 2017; Ghannad et al., 2022).

بنابراین، بر اساس آنچه که گفته شد و همچنین از آنجا که مراحل جوانه زنی و استقرار گیاهچه از مهمترین مراحل زندگی گیاه هستند، بررسی تاثیر تیمار پرایمینگ بذرهای گشنیز با محلول غذایی جانشون (هالوپرایمینگ) که مجموعه ایی از نمکهای غیرآلی میکرونوترینت و ماکرونوترینت می باشد، در میزان جوانه زنی و طول ساقه چه و طول ریشه چه در گیاهچه های حاصل در شرایط تنش کم آبی، مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روشها

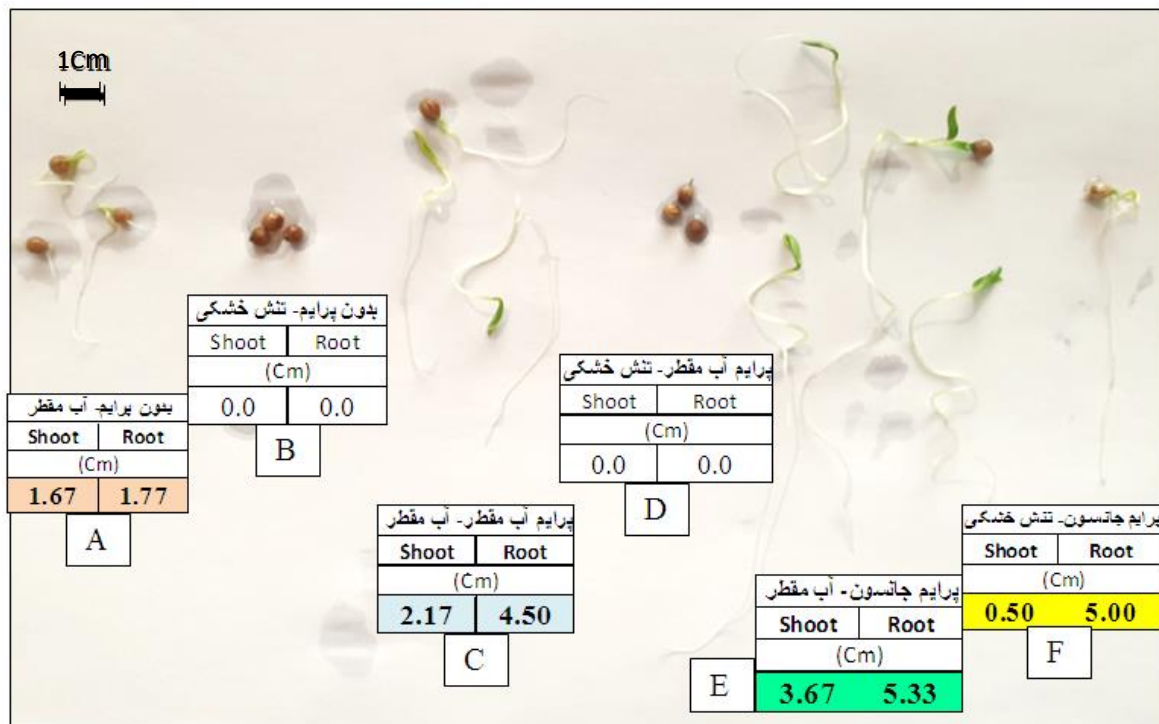
آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. ضدعفونی سطحی بذور *C. sativum* با استفاده از هیپوکلریت سدیم خالص به مدت ۱۰ دقیقه و سپس شستشوی کامل با آب مقطر و پس از آن خیساندن در محلول ویتاواکس ۷۰ درصد به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. سپس بذرها با آب مقطر و یا محلول غذایی جانشون (Ghannad et al., 2017)، به مدت ۱۲ ساعت پرایم شدند. ترکیب محیط غذایی جانشون شامل: FeCl_3 (0.2 mM), KH_2PO_4 (0.2 mM), CaCl_2 (0.2 mM), MgSO_4 (5 mM), NaHCO_3 (2 μM), CuCl_2 (1 μM), ZnCl_2 (1 μM), MnCl_2 (7 μM), NaEDTA (5 μM), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ (1 μM), g L^{-1} بود. پس از پایان زمان پرایمینگ، بذرها از محلولها خارج شده و خشک شدند. دو روز



بعد، تعداد ۱۰ بذر بعنوان یک تکرار در هر پلیت، بر روی کاغذ صافی، در دمای 1 ± 18 درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس، اعمال شرایط تنش خشکی (3 bar - با استفاده از پلی اتیلن گلیکول (PEG 6000)) به کلیه بذرهای پرایم شده و پرایم نشده در داخل پلیتهای حاوی یک عدد کاغذ صافی انجام شد. نمونه های بدون شرایط تنش، با مقدار هم حجم آب مقطر تیمار شدند. جوانه زنی بذور در مدت ۱۲ روز، بصورت هر روزه یادداشت گردید و شاخص های طول ساقه چه و ریشه چه گیاهیچه اندازه گیری شدند (Armand Torab et al., 2015; Ghannad et al., 2017) و در شکل ۱ آورده شدند. در مدت ۷ روز آزمون، تیمارها بسته به نوع شرایط تنش، بطور مداوم با آب مقطر و یا محلول غذایی جانسون تیمار شدند.

۳. نتایج

بر اساس نتایج نشان داده شده در شکل ۱، بذور بدون پرایم که در شرایط بدون تنش قرار گرفتند (A)، نسبت به زمانی که در شرایط تنش خشکی قرار داده شدند (B)، مقداری رشد را نشان دادند. اما کشت بذرهایی که با آب مقطر پرایم شده بودند در شرایط بدون تنش (C) جوانه زنی بهتر و رشد بیشتر ریشه چه و ساقه چه را نسبت به حالت بدون پرایم (A)، نشان داده و دارای طول ساقه چه و همیطور ریشه چه بسیار بلندتری بودند. در این شرایط، صرفاً تعداد اندکی از لپه ها از پوسته بذر خارج نشدند. بذرهایی پرایم نشده، زمانی که در تنش خشکی کشت داده شدند (B)، یا جوانه زنی نداشتند و برخی هم صرفاً خروج ریشه چه به میزان بسیار اندکی را نشان دادند. در مقایسه، بذرهایی پرایم شده با آب مقطر زمانی که در خشکی کشت داده شدند (D)، هم تظاهراتی مثل بذرهایی بدون پرایم در خشکی نشان دادند (B)، یعنی غالب آنها جوانه نزدند. بذرهایی پرایم شده با محیط کشت غذایی جانسون، در شرایط تنش بدون تنش (E)، بیشترین طول ساقه چه و ریشه چه را از خود نشان دادند، بطوریکه طول ساقه چه به بیش از ۲ برابر و ریشه چه به بیش از ۳ برابر آنها در بذرهایی بدون پرایم در شرایط بدون تنش رسید. طول هر دو ساقه چه و ریشه چه بذرهایی پرایم شده با محلول غذایی زمانی که در تنش خشکی کشت داده شدند (F)، نسبت به همان ها در شرایط بدون تنش (E)، کاهش یافت، اما طول ساقه چه به میزان خیلی بیشتری کاهش پیدا کرد و لپه ها در برخی بذرها هم نتوانستند از پوسته بذر خارج شوند. در کل، هردو پرایمینگ با آب مقطر و با محیط کشت مغذی جانسون، تاثیرات مثبتی را در کشت در شرایط بدون تنش، نشان دادند، اما در شرایط تنش خشکی، صرفاً بذور پرایم شده با محیط کشت غذایی جانسون، جوانه زنی و رشد متعارف داشتند.



شکل ۱: بذور جوانه زده و گیاهچه های *Coriandrum sativum* پس از تیمارهای مختلف پرایمینگ با محیط کشت مغذی جانسون و یا پرایمینگ با آب مقطر و سپس کشت در پلیت در شرایط خشکی و غیر تنشی (شرایط آب مقطر).

۴. بحث و نتیجه گیری

در تحقیق انجام شده، تیمار پرایمینگ بذره‌های گشنیز با محلول غذایی جانسون سبب بهبود وضعیت جوانه زنی و نیز طول ساقه چه و ریشه چه در گیاهچه ها گردید. درحالیکه تیمار پرایمینگ با آب مقطر در شرایط تنش خشکی کارایی موثری از خود نشان نداد. این مساله تاثیر مثبت پرایمینگ با محلول غذایی که حاوی مجموعه ایی از نمکهای معدنی است را نشان می دهد. استفاده از نمکهای غیرآلی، شامل برخی میکرونوترینت ها و ماکرونوترینت ها، بصورت محلول پاشی گیاهان یا تیمار بذور آنها با محلول غذایی، میتواند تاثیرات مثبتی را بویژه در مواجهه با تنش ها نشان دهد (Farooq et al., 2012; Mazaheri Tirani et al., 2018). درواقع، بررسی و بهبود صفات طول ساقه چه و ریشه چه، برای گیاهچه هایی که در شرایط تنش خشکی و یا شوری قرار میگیرند، به جهت استقرار بهتر گیاهچه و نیز جذب موثر آب، حائز اهمیت است. بهبود صفاتی نظیر طول ساقه و بوته همچنین در ادامه رشد گیاهان علفی نظیر گشنیز، مد نظر محققان می باشند. بطور مثال، استفاده از محلول پاشی سولفات روی جهت افزایش طول بوته انجام گرفت (Said-Al-Ahl, et al., 2009). در تحقیقی دیگر، استفاده از کود شیمیایی ماکرو (NPK) در خاک کشت بذره‌های گشنیز، سبب بهبود صفات مورفولوژیک و عملکرد آنها از جمله طول ساقه شد، هرچند کود حاصل از عصاره جلبک دریایی کارایی بهتری در صفات کیفی و کمی از خود نشان داد (مفاخری و امینیان دهکردی، ۱۳۹۸).

تیمار پرایمینگ بذره‌های گشنیز با آب مقطر در تحقیق حاضر، سبب افزایش معنی دار ($p < 0.05$) طول ساقه چه و ریشه چه در شرایط بدون تنش نسبت به بذره‌های بدون پرایم شد. این مساله تاثیر مثبت پرایمینگ آب مقطر بر بهبود صفات در گیاهچه



های حاصل از بذر گشنیز ولو در شرایط بدون تنش را نشان می دهد. برخی تحقیقات، تاثیر مثبت پرایمینگ بر القای فعالیت آنزیمهای دخیل در جوانه زنی بذرها و متابولیسم سلولی را نشان داده اند (Ghannad et al., 2017; Ghannad et al., 2022) همچنین، تلقیح بذور گشنیز با باکتری های محرک رشد، باعث ایجاد بیشترین تعداد چتر در بوته شد (درزی و همکاران، ۱۳۹۱).

در یک بررسی با افزایش سطح تنش خشکی از ۱- به ۴- bar، خصوصیات جوانه زنی شامل درصد و سرعت جوانه زنی بذرهای گشنیز، طول ساقه چه و طول ریشه چه همگی کاهش یافتند، اما نسبت طول ریشه چه به ساقه افزایش یافت (ستایش مهر، ۱۳۹۱) که با نتایج بدست آمده از بررسی ما همخوانی دارد. به نظر می رسد کاهش بیشتر طول ساقه چه به دلیل حساسیت بیشتر این شاخص به تنش خشکی باشد.

منابع

- امیری ده احمدی، س.، رضوانی مقدم، پ.، احيائي، ح.، (۱۳۹۱). تاثیر تنش خشکی بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و عملکرد سه گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens*)، گشنیز (*Coriandrum sativum*) و رازیانه (*Foeniculum vulgare*) در شرایط گلخانه. پژوهشهای زراعی ایران. ۱۰ (۱): ۱۱۶-۱۲۴.
- پناهیان کیوی، م.، (۱۳۹۸). اثر محلول پاشی سولفات روی بر عملکرد ماده خشک و اسانس گشنیز تحت تنش خشکی (*Coriandrum sativum*). دو ماهنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۵ (۲): ۳۰۹-۳۲۲.
- حنیفه ئی، م.، دهقانی، ح.، و خدادادی، م. (۱۳۹۶). برآورد پارامترهای ژنتیکی برخی صفات کمی گشنیز در شرایط تنش خشکی با استفاده از تلاقی سه جانبه. پژوهشهای ژنتیک گیاهی. ۱ (۴): ۲۴-۳۸.
- درزی، م.ت.، حاج سیدهادی، م.، و رجالی، ف.، (۱۳۹۱). تأثیر کاربرد کود دامی و باکتریهای محرک رشد بر برخی ویژگی های مورفولوژیک و عملکرد (*Coriandrum sativum* L.) گیاه دارویی گشنیز. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. 28 (3): 434-446.
- ستایش مهر، زهرا، (۱۳۹۱)، بررسی واکنش جوانه زنی بذر شوید و گشنیز به تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول، اولین همایش ملی دانشجویی بیوتکنولوژی، گرگان، ایران.
- شجاعی، ح.، و رجبی، م.، و فرجی آ.، محمد ه.، و احمدیان، م.، (۱۳۹۲)، بررسی اثر تنش شوری و خشکی بر جوانه زنی و رشد گیاهچه گشنیز (*Coriandrom sativum*)، اولین همایش ملی تنش های گیاهی غیر زیستی، اصفهان، ایران.
- قبادی، م. ا.، و فتاحی، س.، (۱۳۹۵). بررسی تأثیر تراکم و تشرطوبتی بر خصوصیات رشد، عملکرد و درصد روغن گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.). دو ماهنامه علمی - پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۲ (۵): ۹۳۵-۹۴۴.
- مفاخری؛ س.، امینیان دهکردی، ر.، (۱۳۹۸). پاسخ گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) به برخی تیمارهای تغذیه ای. ۳۵ (۵): ۸۴۵-۸۳۴.

Armand Torab, K., Madadkar Haghjou, M., and Ismaili. A. (2015). Improvement of *Medicago sativa* seed tolerance to salt stress by Na_2SiO_3 and KNO_3 treatments at different time levels. Iranian Journal of Plant Biology, 7(26): 75-96.



- Devika, O.S., Singh, S., Sarkar, D., Barnwal, P., Suman, J., and Rakshit, A., (2021) Seed priming: A potential supplement in integrated resource, management under fragile intensive, ecosystems. *Frontiers Sustain. Food Syst.* 5:654001.
- Farooq, M., Wahid, A., and Siddique, K. H. M. (2012). Micronutrient application through seed treatments - a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12 (1): 125-142.
- Ghannad, R., Akbari, F., and Haghjou, M.M. (2017). Effect of blue-green and green algae *Spirulina*, *Chlorella*, *Dunaliella*, and minerals on the stimulation of metabolic and biochemical processes of germination in *Dracocephalum kotschy* Boiss. seeds. *Nova Biologica Reperta*. 3 (4): 295-307.
- Ghannad, R., Madadkar Haghjou, M., Raza, A., and Hasanuzzaman., M. (2022). Induction of hydrolytic enzyme activities in dormant seeds of *Dracocephalum kotschy* Boiss. causes improvement of germination and seedling vigor indices . *Acta Physiologiae Plantarum* 44 (48), 1-16.
- Mazaheri Tirani, M., Madadkar Haghjou, M., Sulieman, S., and Ismaili, A. (2018). Comparative evaluation of zinc oxide effects on tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) grown in different media. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 20 (4): 787-802.
- Nawaz, J., Hussain, M., Jabbar, A., Nadeem, G. A., Sajid, M., Subtain, M. U., Shabbir, I. (2013). Seed priming a technique. *Int. J. Agricult. Crop Sci.* 6:1373.
- Said- Al Ahl, H.A.H., and Omer, E.A. (2009). Effect of spraying with zinc and / or iron on growth and chemical composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) harvested at three stages of development. *Journal of Medicinal Food Plants*, 1(2): 30-46.



بررسی ترکیبات تشکیل دهنده اندام هوایی گیاه سوزن چوپان (*Erodium oxyrhynchum*) جمع آوری شده از منطقه رویشی قاین

الهام هروی^{۱*}، شعله قلاسی مود^۱، قدسیه باقرزاده^۲

^۱ گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه بیرجند، بیرجند. (elham.heravi@birjand.ac.ir)

^۲ گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه بیرجند، بیرجند.

چکیده

گیاه سوزن چوپان (*Erodium oxyrhynchum*) جمع آوری شده از منطقه رویشی قاین، از نظر ترکیبات شیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. هدف از این مطالعه، شناسایی و ارزیابی ترکیبات شیمیایی و ترکیبات ثانویه موجود در اندام هوایی گیاه، تعیین کمیت عناصر معدنی، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، و بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی آن بود. نتایج نشان داد که میزان مواد معدنی قابل استخراج از عصاره الکلی گیاه ۶/۵۴ درصد است. بررسی عناصر معدنی نشان داد که کلسیم با غلظت ۵۱/۸۰۹۲ ppm کمترین و پتاسیم با غلظت ۱۹۱/۶۸۵ ppm بیشترین میزان را در هر گرم گیاه دارند. مقدار منیزیم نیز ۱۴۵/۵۲۵ ppm اندازه گیری شد. اندازه گیری ترکیبات فنلی با روش فولین-شیکالتو، مقدار ۱/۰۵۷۱ میلی گرم اسید گالیک در هر گرم گیاه را نشان داد که حاکی از پتانسیل بیولوژیکی قابل توجه گیاه است. بررسی وجود فلاونوئیدها با استفاده از محلول آلومینیوم کلراید، مقدار فلاونوئید کل را ۰/۳۳۹۵ میلی گرم روتین در هر گرم گیاه تعیین کرد. فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه با استفاده از روش HDPP ارزیابی شد و مقدار IC50 برابر با ۱/۶۰ mg/ml به دست آمد. این مقدار نشان دهنده غلظت لازم برای مهار ۵۰ درصد رادیکال های آزاد است. به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان می دهد که گیاه سوزن چوپان دارای ظرفیت خوبی در بین گیاهان مرتعی منطقه مورد مطالعه است و می تواند به عنوان یک منبع خوب برای ترکیبات دارویی مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: ترکیبات شیمیایی، خاصیت آنتی اکسیدانی، فلاونوئید، گیاه دارویی، گیاه مرتعی.



۱. مقدمه

گیاهان دارویی و فرآورده‌های طبیعی به دست آمده از گیاهان از دیرباز نقش کلیدی در پیشگیری و درمان بیماری‌ها داشته است (نجاری و فتاحی، ۱۴۰۱). و به گیاهی که دارای ماده موثره مشخص باشد گیاه دارویی گفته می‌شود که افزون بر ترکیبات اساسی و عمومی هریک حداقل دارای یک ماده موثره ثانویه مخصوص می‌باشد (قوام، ۱۳۹۵). در بسیاری از گیاهان قسمت اعظم انرژی و کربنی که تحلیل و جذب می‌شود به سنتز مولکول‌های آلی اختصاص می‌یابد این مولکول‌ها که به نام متابولیت‌های ثانویه معروفند از گرانبهاترین ترکیبات شیمیایی گیاهی به شمار می‌روند. اغلب این مواد ترکیباتی با مولکول حلقوی هستند که از قدیم به عنوان دارو، اسانس، ادویه و غیره مورد استفاده قرار گرفته و می‌توان گفت برای تنظیم سازگاری گیاه نسبت به عوامل نامساعد و تنش‌های محیطی، تولید متابولیت‌های ثانویه نشان دهنده یک نوع جریان دفاعی برای تداوم تعادل فعالیت‌های حیاتی است (قاضیان تفرشی و عزیزی، ۱۳۸۵). دو گروه از متابولیت‌های ثانویه ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی هستند که در اکثر اندام‌های گیاهان دارویی وجود دارند که در اندام‌های مختلف ماهیت و غلظت آن‌ها، متفاوت می‌باشد (Lincoln et al., 1986). بزرگترین گروه از متابولیت‌های ثانویه فنل‌ها هستند که به عنوان آنتی‌اکسیدان مطرح در درمان بیماری‌های قلبی-عروقی مورد استفاده قرار می‌گیرد و همچنین به عنوان ضد التهاب، ضد آلرژی، ضد باکتریال و ضد ویروسی مطرح می‌شوند (Soobratte et al., 2005). در پژوهش‌های بی‌شماری به اهمیت متابولیت‌های ثانویه و خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها پرداخته شده است. همان‌طور که می‌دانیم، ظرفیت تولید رادیکال‌های آزاد در گیاهان بومی و وحشی روئیده در یک منطقه طبیعی به علت تماس آن‌ها با عوامل تنش‌زای متعدد نظیر قرار گرفتن در معرض انواع میکروارگانیسم‌ها و حمله علف‌خواران و تنش‌های محیطی شامل خشکی، شوری، و وجود فلزات سنگین و آلاینده‌ها بیشتر از گیاهانی است که در شرایط کنترل شده می‌رویند (Pieroni et al., 2002; Joo et al., 2010). گیاه مورد بررسی در این مطالعه *Erodium sp* با نام سوزن چوپان حاوی ترکیب‌هایی از جمله آلکالوئیدها و فلاونوئیدها و غیره است که یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیب‌های فنلی موجود، در اسانس‌های گیاهی این گونه موجود است (Liopa-Tsakalidi, 2014). در این پژوهش به بررسی ترکیبات شیمیایی اندام هوایی گیاه سوزن چوپان با نام علمی *Erodium oxyrhynchum* M. Bieb و شناسایی ترکیبات ثانویه این گیاه و بررسی کیفیت و کمیت این گیاه مرتعی پرداخته شده و با هدف شناسایی و معرفی این گونه مرتعی در منطقه مورد مطالعه و جایگاه آن در بین گیاهان دارویی این پژوهش صورت گرفته است.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. منطقه مورد مطالعه

نمونه‌های تهیه شده از گیاه سوزن چوپان در ریشگاه شهرستان قاین، در فاصله ۵۷ کیلومتری شرق قاین و از دشت اسفدن، جمع‌آوری شده است. اسفدن در عرض جغرافیایی ۳۳ درجه و ۳۹ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۴۶ دقیقه شرقی و در ارتفاع ۱۲۰۰ متری از سطح دریا قرار گرفته است و در فاصله ۵۷ کیلومتری شرق قاین قرار دارد. موقعیتی دشتی داشته و ارتفاعات آن را محاصره نموده‌اند. بلندترین نقطه آن قله شاسکوه به ارتفاع ۲۸۲۳ متر است. این ریشگاه یکی از زیبایی‌ها و



شگفتی‌های طبیعی استان خراسان جنوبی است. پوشش گیاهی این منطقه بسیار متنوع بوده. گیاهان دارویی مختلفی به عنوان پوشش گیاهی در این دشت به چشم می‌خورد لذا به منظور شناسایی و آشنایی با پوشش گیاهی منطقه گیاه مذکور انتخاب و مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفته شد. استان خراسان جنوبی دارای اقلیم خشک و نیمه‌خشک است و این شرایط بر رشد و ترکیبات گیاهی منطقه تأثیر دارد. خشکی، یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. خشکی، بیوشیمی و فیزیولوژی سلول‌های گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Mohammadkhani, and Heidari, 2008).

۲-۲. روش تحقیق

گیاه از منطقه مورد مطالعه در اردیبهشت ماه ۱۴۰۳ جمع‌آوری و در هرباریوم دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست دانشگاه بیرجند با کد هرباریومی ۵۱۹ نگهداری گردید. در راستای انجام آزمایشات، ابتدا اندام هوایی (ساقه، برگ، گل) سوزن چوپان در فصل رویش خود زمانی که گیاه به گل می‌نشیند (این زمان، گیاه بیشترین میزان ترکیبات فعال خود را دارد) در فصل بهار در اردیبهشت ماه، جمع‌آوری و در سایه و بهترین شرایط خشک گردید و به آزمایشگاه شیمی دانشگاه بیرجند انتقال داده شد و در موارد مختلف آزمایش استفاده گردید. در این مطالعه، استخراج عصاره، تعیین مقدار قابل استخراج مواد معدنی از محلول الکلی، میزان عناصر معدنی موجود در گیاه (کلسیم، منیزیم، پتاسیم)، تشخیص فلاونوئید، اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی و در نهایت اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۳. تعیین مقدار قابل استخراج مواد معدنی از محلول الکلی

۵ گرم از پودر خشک شده گیاه در مجاورت هوا را در ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل را داخل ارلن ریخته و به مدت ۲۴ ساعت خیس کرده و سپس به مدت ۶ ساعت با استفاده از همزن مغناطیسی هم زده شد و بعد از ۱۸ ساعت در دمای اتاق مانده و سرانجام محلول را صاف کرده و به مقدار ۲۵ میلی‌لیتر از محلول حاصل را درون پلیت ریخته و در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده تا خشک و حلال تبخیر شود و سپس وزن شد، درصد قابل استخراج از محلول الکلی با توجه به پودر خشک شده در مجاورت هوا محاسبه شد.

۲-۴. عناصر معدنی

در این روش برای تهیه نمونه از ۱ گرم پودر گیاه و افزودن اسیدنیتریک ۶۵ درصد و اسیدپرکلریک ۷۰ درصد، به نسبت ۵ به ۱ استفاده کرد، در این روش نمونه‌ها در روی حمام شن قرار گرفته و تا زمان شفاف شدن نمونه، ادامه پیدا می‌کند، پس از هضم نمونه و سرد شدن با آب مقطر به حجم رسیده و فیلتر شده، می‌توان استفاده کرد. میزان عناصر معدنی موجود در گیاه با در نظر گرفتن استانداردهای لازم در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه بیرجند با استفاده از دستگاه جذب اتمی (کوره گرافیت) اندازه‌گیری شد. نمونه‌های کلسیم (Ca)، منیزیم (Mg)، پتاسیم (K)، از طریق روش جذب اتمی تعیین شده‌اند که یکی از روش‌های دقیق برای اندازه‌گیری عناصر در محدوده ppm است.



۲-۵. تشخیص فلاونوئید

تشخیص فلاونوئید، با تست هیدروکسید سدیم (NaOH)، مقدار کمی از عصاره نمونه، حدود ۱ میلی لیتر را در لوله آزمایش ریخته، به آن ۲ تا ۳ قطره محلول NaOH (۱۰ درصد) اضافه شد لوله را به آرامی تکان داده شد، در نهایت تغییر رنگ ایجاد شده مشاهده و ثبت شد. تست هیدروکسید آمونیوم (NH₄OH) و مقدار کمی از عصاره نمونه را در لوله آزمایش ریخته، به آن ۲ تا ۳ میلی لیتر محلول NH₄OH (۱۰ درصد) اضافه شد. تغییر رنگ مشاهده شده ثبت شد. تست منیزیم، حدود ۰/۲ گرم از عصاره غلیظ شده، ۵ میلی لیتر اتانول و چند قطره اسید کلریدریک غلیظ اضافه شد سپس در حدود ۰/۵ گرم پودر منیزیم اضافه شد، سپس نتایج تغییر رنگ ثبت شد.

۲-۶. اندازه گیری ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی

فلاونوئید: تهیه محلول های استاندارد: برای تهیه محلول ppm ۱۰۰۰، ۰/۰۱ گرم از روتین در ۱۰ میلی لیتر اتانول ۵۰ درصد حل شده است. محلول های ppm ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ از محلول ppm ۱۰۰۰ ساخته شد. مقدار فلاونوئید با استفاده از روش رنگ سنج، اندازه گیری شده است که اساس این روش شکل گیری کمپلکس فلاونوئید آلومینیوم و جذب ماکزیمم در ۴۱۵ نانومتر است. به این صورت که ۱ میلی لیتر از استاندارد یا عصاره و ۱ میلی لیتر محلول AlCl₃ · 6H₂O، ۲ درصد با هم مخلوط شدند. سپس ۳ میلی لیتر از محلول سدیم استات ۱۰ درصد به آن اضافه شد. پس از گذشت ۴۰ دقیقه جذب محلول ها در ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. با استفاده از جذب محلول های استاندارد منحنی کالیبراسیون رسم شده و براساس معادله خط بدست آمده غلظت فلاونوئیدها در گیاه محاسبه شد.

فنل: برای تهیه محلول های استاندارد ppm ۱۰۰۰ گالیک اسید، ۰/۰۱ گرم گالیک اسید در ۱۰ میلی لیتر اتانول ۵۰ درصد حل شده است. محلول های ppm ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ اسید گالیک از محلول ppm ۱۰۰۰ ساخته شد، اندازه گیری ترکیبات فنلی به روش اسکرگت انجام شده است. سپس ۰/۵ میلی لیتر از نمونه رقیق شده یا استاندارد، ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین شیکالو ۱۰ درصد و ۲ میلی لیتر محلول سدیم کربنات ۷/۵ درصد مخلوط شده است در دمای اتاق در تاریکی قرار گرفته شد. پس از گذشت ۱ ساعت، جذب محلول در ۷۶۰ نانومتر خوانده شد، با استفاده از جذب محلول های استاندارد منحنی کالیبراسیون رسم شده و بر اساس معادله خط بدست آمده غلظت ترکیبات فنلی در گیاه محاسبه گردید.

۲-۷. فعالیت مهار رادیکال های آزاد DPPH

۰/۰۵ گرم از پودر گیاه را در ۱/۵ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد حل شد و به مدت ۴۵ دقیقه به وسیله امواج مافوق صوت عصاره گیری شده است. پس از ۱۵ دقیقه نگهداری مخلوط واکنش در تاریکی آن را برای ۱۵ دقیقه در ۱۴۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. مایع رویی جمع آوری شده و برای تهیه محلول های رقیق تر، با متانول رقیق شده است. برای تهیه غلظت های مختلف از عصاره، حجم های مختلفی از محلول اصلی رقیق شد که غلظت های استفاده شده ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۰/۷۵، میلی گرم بر میلی لیتر است. محلول DPPH با غلظت ۰/۰۰۴ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر متانول تهیه شد، این محلول به عنوان معرف رادیکال آزاد استفاده



شده است. ۲۰۰ میکرولیتر از هر محلول عصاره با ۸۰۰ میکرولیتر محلول DPPH مخلوط شد و نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و دور از نور قرار گرفته شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شده است. کنترل شامل تنها محلول DPPH بدون عصاره به عنوان شاهد استفاده شد. محاسبه غلظت مهار ۵۰ درصد (IC₅₀)، یک روش مناسب برای مقایسه فعالیت مواد دارویی است، این مقدار نشان‌دهنده دوزی است که در آن ۵۰ درصد از فعالیت نهایی دارو مشاهده می‌شود و به عنوان معیار اندازه‌گیری و مقایسه به کار می‌رود.

۳. نتایج

نتایج مطالعه نشان می‌دهد در تعیین مقدار قابل استخراج مواد معدنی از محلول الکلی، از ۵ گرم نمونه اولیه، ۶/۵۴ درصد مواد معدنی از محلول الکلی استخراج شده است که این مقدار می‌تواند نشان‌دهنده ترکیبات قابل حل در الکل مانند پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها یا دیگر متابولیت‌های گیاه باشد. هدف اصلی استخراج، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی یا ضد التهابی است که با این روش نمونه ارزیابی شده است، با این حال درصد کم استخراج لزوماً به معنای کم کیفیت بودن ترکیبات نیست، بلکه می‌تواند نشان‌دهنده غلظت بالای ترکیبات موثر در حجم کم باشد.

در نتایج اندازه‌گیری شده عناصر معدنی که در جدول ۱ آمده، بیش‌ترین میزان اندازه‌گیری مربوط به پتاسیم با میزان ppm ۵۱/۸۰۹۲ و بعد از آن عنصر منیزیم با مقدار ppm ۱۴۵/۵۲۵ و کم‌ترین میزان اندازه‌گیری در کلسیم با مقدار ppm ۱۹۱/۶۸۵ ثبت شده است. غلظت عناصر معدنی در نمونه می‌تواند به سلامت انسان کمک کند. علاوه بر انسان، غلظت عناصر معدنی از نظر ارزش غذایی و قابلیت هضم در تغذیه دام نیز مورد اهمیت است (شاکری و همکاران، ۱۳۹۷). که بر این اساس نیاز به بررسی‌های بیشتر درباره جذب، ایمنی و اثرات جانبی، لازم است.

جدول ۱. اندازه‌گیری عناصر معدنی

شماره	نام عنصر	غلظت ppm
۱	Ca	۵۱/۸۰۹۲
۲	Mg	۱۴۵/۵۲۵
۳	K	۱۹۱/۶۸۵

در نتایج تشخیص فلاونوئیدها با استفاده از تست‌های شیمیایی مختلف صورت گرفته، به دلیل برهم‌کنش بین عصاره و NaOH (۱۰ درصد) تشکیل رنگ زرد، به معنای وجود فلاونوئید است. در تست هیدروکسید سدیم (NaOH) رنگ زرد ایجاد شده به طور مستقیم نشان‌دهنده حضور ترکیبات فلاونوئیدی مانند فلاون‌ها یا فلاونول‌ها می‌باشد. همچنین مشاهده رنگ زرد در تست هیدروکسید آمونیوم (NH₄OH) نیز مشابه تست اول نشان‌دهنده حضور فلاونوئیدها است و این نتیجه تایید مضاعفی بر



وجود این ترکیبات محسوب می شود. در تست منیزیم تغییر رنگ مشاهده شد و رنگ صورتی ایجاد شده به علت حضور فلاونوئید است. تغییر رنگ در این تست ها می تواند تحت تأثیر نوع گیاه و میزان ترکیبات موثره متفاوت باشد و ممکن است در گیاهان مختلف با شدت و ضعف مختلفی ظاهر شود.

نتایج فلاونوئید: در این آزمایش میزان کل ترکیبات فلاونوئیدی عصاره به روش رنگ سنجی اندازه گیری شد. مراحل انجام آزمایش با تهیه محلول هایی با غلظت های مشخص از ترکیب استاندارد روتین تهیه شد که این محلول ها برای رسم منحنی استاندارد استفاده شده است. مقدار مشخصی از عصاره با محلول آلومینیوم کلراید ترکیب شد و واکنش رنگی ایجاد شده بررسی شد و محلول های تهیه شده برای جذب نوری در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری و ثبت شد. از منحنی استاندارد و مقدار جذب نوری نمونه ها غلظت فلاونوئید در عصاره محاسبه شد. غلظت فلاونوئید، به صورت میلی گرم روتین در گرم گیاه بیان می شود.

نتایج فنل: در این آزمایش اندازه گیری ترکیبات فنلی نمونه بررسی و ثبت شده است. روش مورد استفاده مبتنی بر جذب نوری و خط استاندارد است. طیف سنجی یکی از تکنیک های نسبتاً ساده برای سنجش کمیت فنل های گیاهی است. روش فولین شیکالتو، آزمایش طیف سنجی است که برای اندازه گیری کل فنول ها در مواد گیاهی سال ها به طور گسترده ای استفاده می شود، مراحل انجام آزمایش با تهیه محلول هایی با غلظت های مشخص از ترکیب استاندارد گالیک اسید انجام شده است و مقدار جذب آن ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه گیری شد. محلول معرف فولین شیکالتو برای شناسایی ترکیبات فنلی استفاده شده است. براساس داده های به دست آمده از محلول های استاندارد، یک منحنی کالیبراسیون رسم شد، این منحنی رابطه خطی میان غلظت گالیک اسید (PPM) و مقدار جذب (ABS) را نشان می دهد. از مقدار جذب نمونه گیاهی ۰/۲۴۷ و معادله خط، میزان ترکیبات فنولی در گیاه محاسبه شده است و برابر ۱/۰۵۷۱، که به صورت میلی گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن خشک نمونه بیان می شود گزارش شده است. مقدار جذب نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شده است. نتایج حاصل از فلاونوئید و فنل در جدول ۲ ثبت گردید.

جدول ۲. میزان اندازه گیری شده فلاونوئید و فنل کل

جذب	فلاونوئید کل (میلی گرم روتین در گرم)	فنل کل (میلی گرم گالیک اسید در گرم)
۰/۰۱۲	۰/۳۳۹۵	-
۰/۲۴۷	-	۱/۰۵۷۱

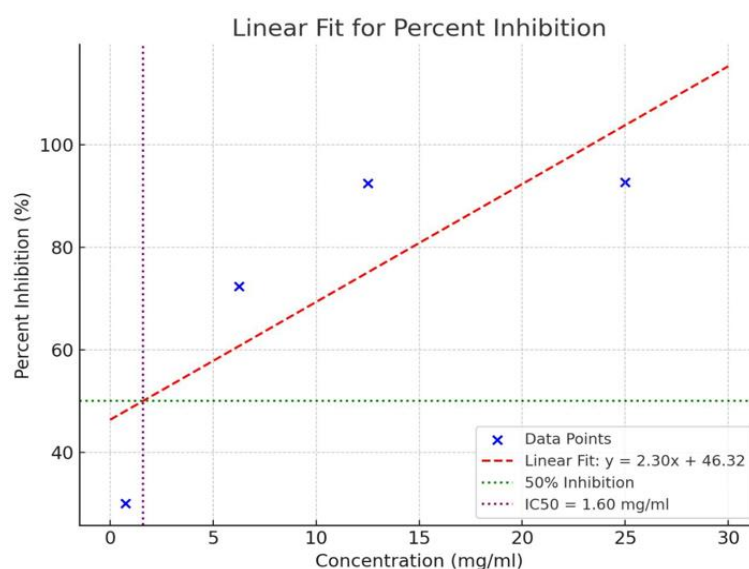
نتایج اندازه گیری خاصیت آنتی اکسیدانی و مهار رادیکال های آزاد: در این آزمایش، فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفته شده است. نتایج درصد مهار کنندگی رادیکال های آزاد با غلظت های مختلف از عصاره در جدول ۳ نوشته شده است. نتایج جدول به این صورت تحلیل شد، غلظت بالا ۲۵ mg/ml جذب به حداقل مقدار خود ۰/۰۷۳ رسیده و



درصد مهار رادیکال‌های آزاد ۹۲/۷۰ درصد بسیار بالا بوده است، این نشان می‌دهد که در غلظت‌های بالا، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌طور موثر با رادیکال‌های آزاد واکنش داده و خنثی شده است. غلظت متوسط $12/5 \text{ mg/ml}$ جذب $0/075$ مشابه غلظت بالا است و درصد مهار رادیکال‌های آزاد ۹۲/۵۰ درصد همچنان بالا بوده که نشان دهنده عملکرد موثر عصاره است. غلظت پایین‌تر $6/25 \text{ mg/ml}$ جذب $0/276$ افزایش داشته و درصد مهار به $72/40$ درصد کاهش پیدا کرده است که نشان می‌دهد در غلظت‌های پایین‌تر، میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی برای خنثی کردن رادیکال‌های آزاد کاهش پیدا کرده است، در غلظت بسیار پایین $0/75 \text{ mg/ml}$ در کم‌ترین غلظت، جذب به بیش‌ترین مقدار خود $0/700$ رسیده و درصد مهار به حداقل مقدار $30/00$ درصد کاهش داشته است، این نتیجه تایید می‌کند در غلظت‌های بسیار پایین ترکیبات دیگر توانایی مهار موثر را نداشته است. بر اساس نمودار خطی رسم شده مقدار IC_{50} برابر با $1/60 \text{ mg/ml}$ یعنی مقدار غلظتی که در آن مهار به ۵۰ درصد می‌رسد محاسبه و بررسی شده است، نتایج در شکل ۱ به صورت نمودار آمده است.

جدول ۳. درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد

غلظت عصاره mg/ml	مقدار جذب	درصد مهار
۲۵	$0/073$	۹۲/۷۰
$12/5$	$0/075$	۹۲/۵۰
$6/25$	$0/276$	$72/40$
$0/75$	$0/700$	$30/00$



شکل ۱. نمودار مهار و غلظتی که در آن مهار به ۵۰ درصد می‌رسد



۴. بحث و نتیجه گیری

پژوهش حاضر نشان داد که گونه *Erodium oxyrhynchum* دارای ترکیباتی چون فنل، فلاونوئید و خاصیت آنتی-اکسیدان می باشد و علاوه بر آن با توجه به فعالیت ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی گیاه گزارش شده است که گیاه سوزن چوپان بر صفات عملکردی سیستم ایمنی فراسنجه های خونی و خصوصیات لاشه جوجه های گوشتی در بدن طیور دارای اثر مثبت است (وسگری کیاسری و همکاران، ۱۳۹۶). در گزارشی دیگر بیان شده است خانواده Geraniaceae غنی از ترکیبات پلی فنلی هستند، از جمله فلاونوئیدها و تانن ها و در طب عامیانه به عنوان درمان با طیف وسیعی نقش دارد (Samet et al. 2022). از روش های به کار رفته و آزمایش های صورت گرفته در این پژوهش نتایجی به دست آمد که از نظر غلظت و اثر آنتی اکسیدانی می توان این گونه بیان کرد، با افزایش غلظت عصاره از ۰/۷۵ mg/ml، به ۲۵ mg/ml، درصد مهار رادیکال های آزاد افزایش می یابد و در بالاترین غلظت به ۹۲/۷۰ درصد می رسد. این نشان می دهد که با افزایش غلظت، میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در عصاره قابلیت بیشتری در واکنش با رادیکال های آزاد دارد و به طور موثرتر آن را خنثی می کند. در غلظت های پایین تر، مانند ۰/۷۵ mg/ml، درصد مهار به ۳۰/۰۰ درصد کاهش یافته که نشان دهنده کاهش قابل توجه قدرت آنتی اکسیدانی عصاره است. این موضوع نشانگر این است که در غلظت های پایین تر، ممکن است مقدار ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود برای خنثی کردن رادیکال های آزاد کافی نباشد. اندازه گیری جذب نوری و تعیین غلظت IC50 نشان داد، مقدار IC50 برابر با ۱/۶۰ mg/ml نشان دهنده غلظتی است که در آن میزان مهار رادیکال های آزاد به ۵۰ درصد می رسد. این نشان می دهد که حتی در مقادیر نسبتاً پایین عصاره، قابلیت مهار کنندگی مناسبی وجود دارد. در پژوهشی فعالیت آنتی اکسیدانی IC50 چند گیاه نظیر چای سیاه ۹/۷ ± ۰/۱، اسید اسکوربیک یا ویتامین ث ۸/۹ ± ۰/۱، چای سبز ۶/۷ ± ۰/۱، زنجبیل ۶۵/۱ ± ۱/۷، بیان شده است (Khalaf et al., 2008). در تعیین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها، نمودار کالیراسیونی برای غلظت گالیک اسید و میزان جذب (ABS) تهیه شد و ارتباط خطی میان این دو مشاهده شد. این روش به دقت تعیین میزان ترکیبات فنولی در گیاه کمک کرده است. نتایج نشان داد که غلظت ترکیبات فنولی محاسبه شده برابر ۱/۰۵۷۱ میلی گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن خشک نمونه است. این نشان دهنده وجود میزان قابل توجهی از ترکیبات فنولی در گیاه است که می تواند به اثرات آنتی اکسیدانی مشاهده شده کمک کند. غلظت فلاونوئیدها برابر ۰/۳۳۹۵ میلی گرم روتین بر گرم گیاه است که از طریق اندازه گیری جذب نوری در طول موج ۴۱۵ نانومتر و استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شده است. تحقیقی با بررسی اثر زمان خشک کردن بر میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهی و برخی خصوصیات فیتوشیمیایی شمعدانی عطری انجام شده مورد ارزیابی قرار گرفت، نتایج نشان داده است که زمان خشک کردن با استفاده از روش های مختلف خشک کردن، تاثیر متفاوتی بر این ترکیبات دارد. بالاترین میزان ترکیبات فنل کل ۱۴/۷۸ میلی گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک و فلاونوئید کل ۱۲/۸۳ میلی گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم ماده خشک و بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی IC50 برابر با ۱/۰۲ در نمونه تازه مشاهده شد و همین طور گیاهان خشک شده در آون از نظر فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی، غنی بیان شده است (مومبوند و همکاران، ۱۳۹۸). در مطالعه ای، شمعدانی عطری یک گیاه دارویی با کاربرد در صنایع پزشکی، غذایی، آرایشی و بهداشتی نام برده شده است (نایب زاده و همکاران، ۱۳۹۸). همین طور در پژوهشی که روی گیاه کتیرا در استان آذربایجان غربی،



یزد و همدان صورت گرفته است به ترتیب بیشترین تا کمترین میزان عنصر پتاسیم ۲۸/۹۳، ۲۴/۹۵، ۳/۷۹ میلی گرم در گرم ماده خشک، همچنین بیشترین میزان عنصر منیزیم مربوط به استان همدان ۰/۱ و کمترین مربوط به چهارمحال و بختیاری ۰/۰۹ میلی گرم در گرم ماده خشک، بوده است (مینائی و همکاران، ۱۳۹۷). در تحقیقی بررسی قابلیت جذب سرب توسط گیاه نوک لک لکی از خاکهای آلوده به سرب صورت گرفت و نتایج نشان داده است گیاه نوک لک لکی، گونه ای مناسب برای گیاه پالایی به صورت تثبیت گیاهی سرب می باشد (مهدویان، ۱۴۰۳). با توجه به تحقیقات در نمونه مورد مطالعه و مقایسه با میزان عناصر در چند گیاه دیگر می توان گفت مقدار عناصر در این گیاه قابل تامل می باشد. همین طور نتایج مقایسه ای در خصوص موارد اندازه گیری شده عناصر معدنی، فلاونوئیدها، فنل ها و مهار رادیکال های آزاد، در گیاهانی نظیر، کتیرا، درخت کنار کوهی، چای سیاه، اسیداسکوربیک، چای سبز، زنجبیل و شمعدانی عطری صورت گرفته گویای این است که گونه مورد مطالعه پتانسیل بررسی بیشتر را دارد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصل از پژوهش انجام شده گیاه سوزن چوپان به دلیل دارا بودن عناصر و ترکیبات آنتی - اکسیدانی و فنل و فلاونوئید، دارای خواص دارویی متفاوت بوده و همچنین مطالعات بر روی این گونه با توجه به آزمایش های انجام شده می تواند برای ارزیابی کیفیت عصاره های گیاهی مفید باشد. تحقیقات بیشتر می تواند به درک بهتر از کارایی آنتی - اکسیدان ها در این گیاه و کاربردهای آن در صنایع غذایی و دارویی کمک کند. با بررسی های انجام شده می توان نتیجه گیری کرد که شناسایی گیاهان مرتعی از نظر ترکیبات شیمیایی نه تنها برای انسان بلکه حتی از نظر ارزش تغذیه ای برای دام، نیز مورد اهمیت است. این مطالعه با هدف شناسایی و ارزیابی ترکیبات شیمیایی و ترکیبات ثانویه موجود در اندام هوایی گیاه، تعیین کمیت عناصر معدنی، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، و بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی و همچنین معرفی این گونه مرتعی در منطقه مورد مطالعه و جایگاه آن در بین گیاهان دارویی انجام شد. داده ها و نتایج نشان داد گیاه مورد نظر پتانسیل استفاده در تولید فرآورده های گیاهی یا دارویی را دارد. پیشنهاد می شود تا در این زمینه تحقیقات بیشتری انجام پذیرد، تا اثر بخشی و کیفیت ترکیبات بررسی شود. بررسی مقایسه ای محتوی، ترکیبات شیمیایی و دیگر ترکیبات مفید در گیاهان مختلف می تواند به شناسایی گیاهان برتر منجر شود.

منابع

- شاگری، پ. فضائی، ح. پورمیرزائی، ا. مصطفوی، س. ح. ۱۳۹۷. بررسی علوفه ای چهار گونه مرتعی از خانواده کاسنی، مطالعه موردی مراتع بافت در استان کرمان. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات مرتع و بیابان ایران. ۲۵(۴): ۷۳۵-۷۴۷.
- قاضیان تفریشی، گ. عزیزی، م. ۱۳۸۵. بررسی نحوه تولید و خواص متابولیت های ثانویه گیاهی. ماهنامه تخصصی کشاورزی زیتون. ۱۷۰: ۳۸-۴۳.
- قوام، م. ۱۳۹۵. بررسی چگونگی ارزیابی گیاهان دارویی از نظر وجود و میزان مواد مؤثره. نخستین همایش ملی گیاهان دارویی معطر و ادویه ای. دانشگاه گنبد کاووس.
- مهدویان، ک. توانایی گیاه نوک لک لکی در جذب سرب از خاک های آلوده به سرب. مجله پژوهش های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران) (علمی). ۳۲(۱): ۶۴-۷۱.



مومیوند، ح. رضایی‌نژاد، ع. سپهوند، ک. مرادی، ب. ۱۳۹۸. ارزیابی تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر زمان خشک شدن و برخی خصوصیات فیتوشیمیایی شمعدانی عطری *Pelargonium graveolens*. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی). ۳۳(۴): ۶۵۵-۶۸۸.

مینائی، آ. رحیمی، ا. رضایی، م. ب. امینی، س. پژوهان، ج. ۱۳۹۷. بررسی تنوع کربوهیدرات و عناصر معدنی در صمغ کتیرای گیاه دارویی *Asteragalus gossypinus* Fischer جمع‌آوری شده از شش استان ایران. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی. ۹۷-۱۰۷(۴): ۲۴-۲۶. ۱۰۷-۹۷. نایب‌زاده، م. حکیمی، ل. خلیقی، ا. ۱۳۹۸. بررسی تأثیر گلايسين بتائين و هیومی فورته بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شمعدانی عطری *Pelargonium graveolens* L تحت تنش رطوبتی. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی. ۲۶(۳): ۵۶-۳۷. نجاری، ز. فتاحی، م. ۱۴۰۱. بررسی و مقایسه ترکیبات شیمیایی اسانس عصاره سه گونه از گیاه دارویی *Phlomis persica* Boiss. *Phlomis herba-venti* و *Phlomis olivieri* Benth جمع‌آوری شده از شمال غرب ایران. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی. ۳۷(۱۰): ۶۲-۴۷.

وسگری کیاسری، م. جمشیدی، ر. مهدی‌آبادی، م. یوسفی، م. ح. قزوینیان، خ. ۱۳۹۶. تأثیر سطوح مختلف پودر گیاه *Scandix pecten-veneris* L بر پارامترهای عملکردی، سیستم ایمنی، فراسنجه‌های خونی و خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی. دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۳(۵): ۸۸۲-۸۹۵.

- Joo, S. S., Kim, Y. B., & Lee, D. I. (2010). Antimicrobial and antioxidant properties of secondary metabolites from white rose flower. *The Plant Pathology Journal*. 26(1): 57-62.
- Khalaf, N. A., Shakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., & Farah, H. (2008). Antioxidant activity of some common plants. *Turkish Journal of Biology*. 32(1): 51-55.
- Lincoln, D. E., Murray, M. J., & Lawrence, B. M. (1986). Chemical composition and genetic basis for the isopinocamphe chemotype of *Mentha citrate* hybrids. *Phytochemistry*. 25(8): 1857-1863.
- Liopa-Tsakalidi, A. (2014). *Scandix pecten-veneris* L. A wild green leafy vegetable. *AJCS*. 8(1), 103-108.
- Mohammadkhani, N., & Heidari, R. (2008). Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. *World Applied Sciences Journal*. 3(3): 448-453.
- Pieroni, A., Janiak, V., Durr, C. M., Ludeke, S., Trachsel, E., & Heinrich, M. (2002). In vitro antioxidant activity of non-cultivated vegetables of ethnic Albanians in Southern Italy. *Phytotherapy Research*. 16(5): 467-473.
- Samet, S., Ayachi, A., Fourati, M., Mallouli, L., Allouche, N., Treilhou, M., Téné, N., & Mezghani-Jarraya, R. (2022). Antioxidant and antimicrobial activities of *Erodium arborescens* aerial part extracts and characterization by LC-HESI-MS² of its acetone extract. *Molecules*. 27(14): 4399.
- Soobrattee, M. A., Neergehen, V. S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O. I., & Bahorun, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 579(1): 200-213.

بررسی تاثیر محلولپاشی برخی محرک های زیستی بر کاروتینوئید و رنگیزه های فتوسنتزی اسطوخودوس (*Lavendula angustifolia* L.)

سحر ایرانی^۱، حسینعلی اسدی قارنه^۱

^۱ گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان. (Irani.sa1982@gmail.com)

چکیده

گیاه دارویی اسطوخودوس فرانسوی با نام علمی *Lavendula angustifolia* L. از تیره نعنائیان (Lamiaceae) یکی از گیاهان دارویی ارزشمند در جهان است که بدلیل دارا بودن متابولیت های ثانویه متعدد در پیشگیری و درمان بیماریها کاربرد فراوان دارد. در این پژوهش به بررسی تاثیر تیمارهای محرک زیستی بر میزان رنگیزه های فتوسنتزی و کاروتینوئید اسطوخودوس فرانسوی پرداخته شد. تیمارها شامل اسید آمینه (۱-۳ و ۵ میلی لیتر در لیتر)، جلبک دریایی (۱-۲ و ۳ میلی لیتر در لیتر) و کود آلی کرسر (۵-۱۰ و ۱۵ میلی لیتر در لیتر) بصورت محلولپاشی برگی در سه تکرار به همراه تیمار شاهد (پاشش آب مقطر) در مجموع ۲۷ کرت ۱۵ بوته ای با قالب طرح بلوک های کامل تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس حاکی از آنست که تمامی صفات در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود. با مقایسه میانگین داده ها مشخص شد که بیشترین میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتینوئید به ترتیب در تیمار A₃ (۰/۰۵۸ میلی گرم در گرم)، C₃ (۰/۰۴۶ میلی گرم در گرم)، C₃ (۰/۰۹۳ میلی گرم در گرم) و A₁ (۰/۰۲۴ میلی گرم در گرم) مشاهده گردید. بنابراین میتوان چنین نتیجه گیری کرد که کاربرد محرک های زیستی بر افزایش میزان رنگیزه های فتوسنتزی و کاروتینوئید گیاه اسطوخودوس موثر می باشد.

واژگان کلیدی: اسید آمینه، جلبک دریایی، کلروفیل، کود آلی، کود زیستی



۱. مقدمه

اسطوخودوس فرانسوی^۱ گیاهی چند ساله و خشبی از خانواده نعنائیان^۲ می باشد که تا کنون ۴۸ گونه متعلق به این گیاه شناسایی شده است. این گیاه هم نام با گونه های اسپیکا^۳، آفیسینالیس^۴ و ورا^۵ می باشد (امید بیگی، ۱۳۷۶). اسطوخودوس دارای متابولیت های ثانویه و اثرات درمانی متعددی است که بدلیل خواص آنتی اکسیدانی، دارای توان بالقوه زیادی جهت خنثی سازی رادیکالهای آزاد هستند (حناچی و همکاران، ۱۴۰۱). کاروتینوئید ها رنگدانه هایی هستند که دارای اثرات فیزیولوژیکی مهمی در بدن انسان هستند که بدلیل داشتن خواص آنتی اکسیدانی در تقویت سیستم ایمنی و کاهش خط ابتلا به سرطانها نقش عمده ای دارند (عبادالهی نظری و عرب رحمتی پور، ۱۳۹۹). این ترکیبات در گیاهان دارای اهمیت ویژه ای هستند زیرا قادرند از سیستم جمع کننده نور در فرآیند فتوسنتز در مقابل آسیب های رادیکالهای آزاد محافظت کنند. این عمل توسط مکانیسمی به نام چرخه گزانتوفیل و با مصرف اکسیژن، موجب حفاظت از کلروفیل در برابر اکسیداسیون نوری می گردد (Latowski et al., 2011). اصلی ترین عامل رشد و نمو و عملکرد گیاهان فتوسنتز است که مقدار حضور کلروفیل با میزان رشد و نمو گیاه ارتباط مستقیمی دارد زیرا افزایش غلظت کلروفیل منجر به افزایش بیشتر توان استفاده موثر از نور می شود و به گیاه قدرت تحمل در برابر شدت های مختلفی نوری را می دهد (Ashraf and Harris, 2004؛ خوش گفتار منش، ۱۳۹۳). میزان کلروفیل در گیاه با فراهمی و در دسترس بودن کود در خاک و جذب توسط گیاه ارتباط مستقیم دارد (ملکوتی و همایی، ۱۳۸۳). پژوهشها حاکی از آن است که در تیمارهای مختلف مصرف کود، مواد ضروری بیشتری جهت ساخت کلروفیل در اختیار گیاه قرار می گیرد و میزان کلروفیل ساخته شده در آنها بالاتر از تیمارهای عدم مصرف کود گزارش شده است (مومنی و همکاران، ۱۳۹۳). در پژوهشی بر روی اسطوخودوس آلی (کشت ارگانیک) مشخص شد که دارای کلروفیل a و کلروفیل کل در محدوده باریک بین ۲۵۱.۳ و ۲۷۵.۷ میکروگرم و کاروتینوئید به میزان ۳۶.۹ میکروگرم بود. سطح کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در کشاورزی معمولی نسبت به کشاورزی ارگانیک برای سال دوم مطالعه بیشتر بود (Dobrev et al., 2023). هدف از این پژوهش بررسی تاثیر برخی محرکهای زیستی بر میزان کاروتینوئیدها و رنگیزه های فتوسنتزی گیاه اسطوخودوس می باشد.

۲. مواد و روشها

این پژوهش در سال ۱۴۰۲-۱۴۰۳ در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با ۳ تیمار در ۳ سطح (غلظت) و با ۳ تکرار در شهرستان نجف آباد اصفهان با مشخصات جغرافیایی ۳۲ درجه و ۳۸ دقیقه شمالی و ۵۱ درجه و ۲۱ دقیقه شرقی با ارتفاع ۱۶۰۰ متر از سطح دریا انجام شد. گیاهان مورد آزمایش، بوته های اسطوخودوس ۴ ساله بودند در مجموع ۹ ترکیب تیماری که هر ترکیب تیماری شامل ۳ تکرار و در مجموع ۲۷ کرت ۱۵ بوته ای را شامل شد. همچنین یک تیمار با ۳ تکرار که با آب مقطر محلولپاشی گردید بعنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد که با قالب طرح بلوک های کامل تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفتند و

¹ *Lavendula angustifolia* L.² Lamiaceae-Labiatae³ *L.Spica* p.p.⁴ *L.Officinalis* CHAIX⁵ *L.vera* DC.



برای هر تکرار تعداد ۱۵ بوته در نظر گرفته شد. تیمارهای مورد مطالعه شامل اسید آمینه (۱-۳ و ۵ میلی لیتر در لیتر)، جلبک دریایی (۱-۲ و ۳ میلی لیتر در لیتر) و کود آلی کرسر (۵-۱۰ و ۱۵ میلی لیتر در لیتر) بصورت محلولپاشی برگ انجام شد. برای اندازه گیری کلروفیل ابتدا ۰/۲۵ گرم از برگ را پودر کرده و درون فالدکون ریخته و با ۴ میلی لیتر استون ۸۰٪ ترکیب کرده و به مدت نیم ساعت زیر فویل نگهداری می کنیم. سپس در دستگاه سانتیفریوژ با دمای ۴ درجه و دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار می دهیم و سپس مایع رویی را در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۴۶ و ۶۶۳ قرائت میکنیم. میزان کلروفیل a و b و کل از رابطه زیر بدست می آیند (رسولی و همکاران، ۱۳۹۸).

$$Ca \text{ mg/g F.W} = [(12.7 \times A_{663}) - (2.79 \times A_{645})]$$

$$Cb \text{ mg/g F.W} = [(21/50 \times A_{645}) - (5.10 \times A_{663})]$$

$$C_{Total} = C_a + C_b$$

جهت محاسبه کاروتینوئید جذب را در طول موج ۴۷۰ قرائت کرده و توسط فرمول زیر محاسبه می کنیم (شریفی

سیرچی و طاهری، ۱۳۹۷)

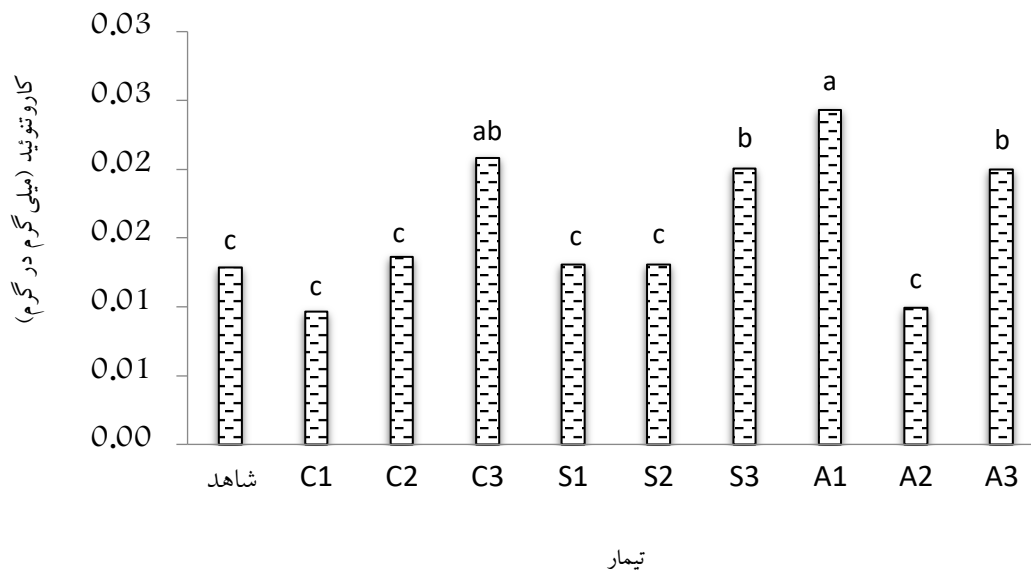
$$C = (1000 \times A_{470}) - (1.29 \times CL_a - 53.78 \times CL_b) / 220$$

۳- نتایج

نتایج بدست آمده از آنالیزهای آماری جهت بررسی میزان کاروتینوئید و کلروفیل a، b و کل برگ اسطوخودوس بر اساس آزمون دانکن نشان داد که تاثیر تیمارهای مختلف بر میزان صفات فوق در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود.

۳-۱. کاروتینوئید

با مقایسه میانگین داده ها مشخص شد که بیشترین میزان کاروتینوئید برگ مربوط به تیمارهای A_1 (اسید آمینه با غلظت ۱ میلی لیتر در لیتر) به میزان ۰/۰۲۴ میلی گرم در گرم و کمترین میزان آن مربوط به تیمارهای A_2 (اسید آمینه با غلظت ۳ میلی لیتر در لیتر) به میزان ۰/۰۱۰ میلی گرم بر گرم و C_1 (کود آلی کرسر با غلظت ۵ میلی لیتر در لیتر) به میزان ۰/۰۱۰ میلی گرم بر گرم بود. در تیمار C_3 (کود آلی کرسر با غلظت ۱۵ میلی لیتر در لیتر) تفاوت معنی داری مشاهده نگردید. شکل (۱).

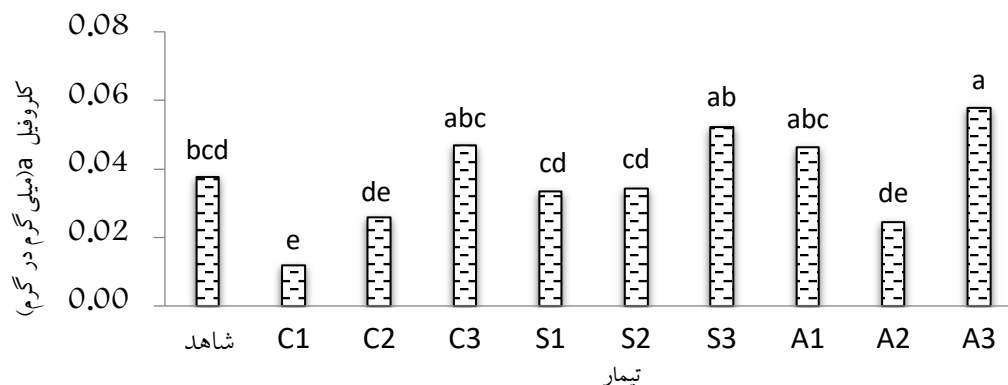


شکل (۱) مقایسه میانگین میزان کاروتنوئید برگ بر حسب میلی گرم در گرم در تیمارهای مختلف

C₁: کرسر ۵ میلی لیتر در لیتر؛ C₂: کرسر ۱۰ میلی لیتر در لیتر؛ C₃: کرسر ۱۵ میلی لیتر در لیتر؛ S₁: جلبک دریایی ۱ میلی لیتر در لیتر؛ S₂: جلبک دریایی ۲ میلی لیتر در لیتر؛ S₃: جلبک دریایی ۳ میلی لیتر در لیتر؛ A₁: اسید آمینه ۱ میلی لیتر در لیتر؛ A₂: اسید آمینه ۳ میلی لیتر در لیتر؛ A₃: اسید آمینه ۵ میلی لیتر در لیتر.

۳-۲. کلروفیل a

همچنین بیشترین میزان کلروفیل a برگ به ترتیب در تیمار A₃ (اسید آمینه با غلظت ۵ میلی لیتر در لیتر) به میزان ۰/۰۵۸ میلی گرم در گرم و کمترین میزان آن در تیمار C₁ (کود آلی کرسر با غلظت ۵ میلی لیتر در لیتر) به میزان ۰/۰۱۲ میلی گرم در گرم مشاهده گردید. سایر تیمارها دارای تفاوت معنی داری نبودند. شکل (۲)



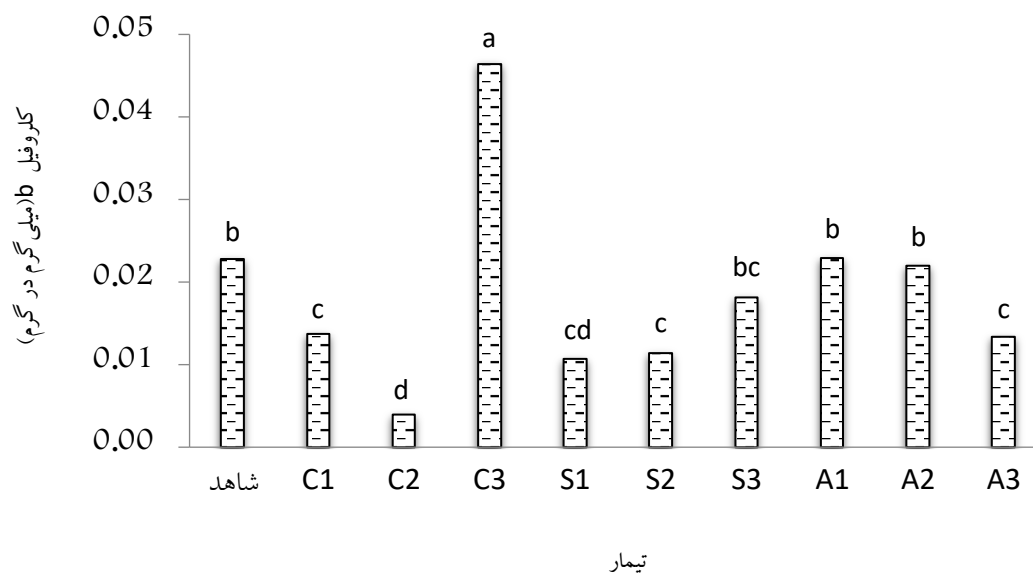
شکل (۲) مقایسه میانگین میزان کلروفیل a برگ بر حسب میلی گرم در گرم در تیمارهای مختلف

C₁: کرسر ۵ میلی لیتر در لیتر؛ C₂: کرسر ۱۰ میلی لیتر در لیتر؛ C₃: کرسر ۱۵ میلی لیتر در لیتر؛ S₁: جلبک دریایی ۱ میلی لیتر در لیتر؛ S₂: جلبک دریایی ۲ میلی لیتر در لیتر؛ S₃: جلبک دریایی ۳ میلی لیتر در لیتر؛ A₁: اسید آمینه ۱ میلی لیتر در لیتر؛ A₂: اسید آمینه ۳ میلی لیتر در لیتر؛ A₃: اسید آمینه ۵ میلی لیتر در لیتر.



۳-۳. کلروفیل b

بیشترین میزان کلروفیل b برگ به ترتیب مربوط به تیمارهای C₃ (کود آلی کرسر با غلظت ۱۵ میلی لیتر در لیتر) به میزان ۰/۰۴۶ میلی گرم در گرم و کمترین میزان آن در تیمار C₂ (کود آلی کرسر با غلظت ۱۰ میلی لیتر در لیتر) به میزان ۰/۰۰۴ میلی گرم در گرم مشاهده گردید. بجز تیمار S₁ (جلبک دریایی با غلظت ۱ میلی لیتر در لیتر) و S₃ (جلبک دریایی با غلظت ۳ میلی لیتر در لیتر)، سایر تیمارها دارای تفاوت معنی داری بودند. شکل (۳)

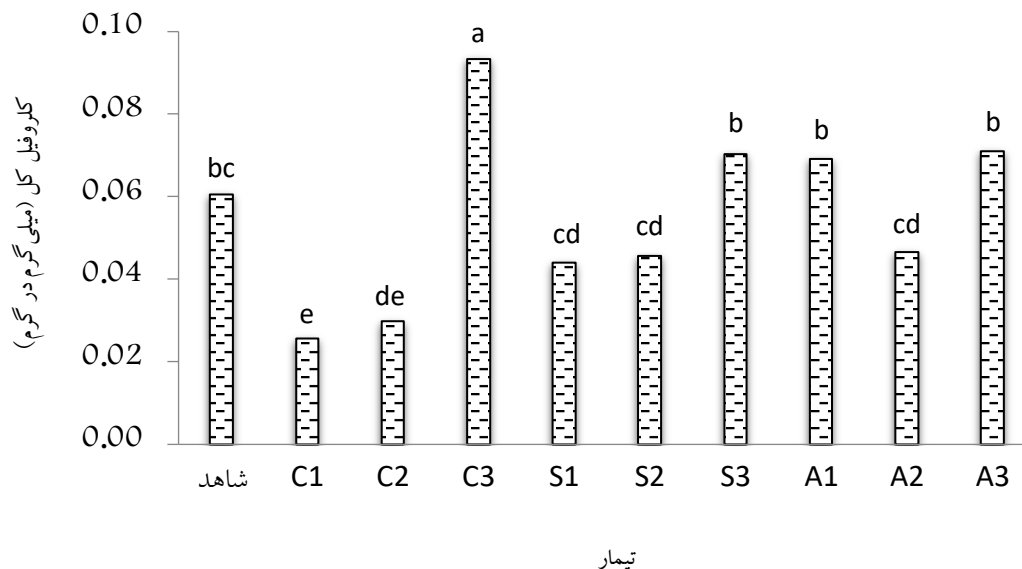


شکل (۳) مقایسه میانگین میزان کلروفیل b برگ بر حسب میلی گرم در گرم در تیمارهای مختلف

C₁: کرسر ۵ میلی لیتر در لیتر؛ C₂: کرسر ۱۰ میلی لیتر در لیتر؛ C₃: کرسر ۱۵ میلی لیتر در لیتر؛ S₁: جلبک دریایی ۱ میلی لیتر در لیتر؛ S₂: جلبک دریایی ۲ میلی لیتر در لیتر؛ S₃: جلبک دریایی ۳ میلی لیتر در لیتر؛ A₁: اسید آمینه ۱ میلی لیتر در لیتر؛ A₂: اسید آمینه ۳ میلی لیتر در لیتر؛ A₃: اسید آمینه ۵ میلی لیتر در لیتر.

۳-۴. کلروفیل کل

همچنین مقایسه میانگین داده ها حاکی از آنست که بیشترین میزان کلروفیل کل به ترتیب مربوط به تیمارهای C₃ (کود آلی کرسر با غلظت ۱۵ میلی لیتر در لیتر) به میزان ۰/۰۹۳ میلی گرم در گرم و کمترین میزان آن مربوط به تیمار C₁ (کود آلی کرسر با غلظت ۵ میلی لیتر در لیتر) به میزان ۰/۰۲۶ میلی گرم در گرم می باشد. همچنین در تیمارهای A₃ (اسید آمینه با غلظت ۵ میلی لیتر در لیتر) و همچنین تیمار S₃ (جلبک دریایی با غلظت ۳ میلی لیتر در لیتر) و A₁ (اسید آمینه با غلظت ۱ میلی لیتر در لیتر) تفاوت معنی دار مشاهده گردید. شکل (۴).



شکل (۴) مقایسه میانگین میزان کلروفیل کل برگ بر حسب میلی گرم در گرم در تیمارهای مختلف

C₁: کرسر ۵ میلی لیتر در لیتر؛ C₂: کرسر ۱۰ میلی لیتر در لیتر؛ C₃: کرسر ۱۵ میلی لیتر در لیتر؛ S₁: جلبک دریایی ۱ میلی لیتر در لیتر؛ S₂: جلبک دریایی ۲ میلی لیتر در لیتر؛ S₃: جلبک دریایی ۳ میلی لیتر در لیتر؛ A₁: اسید آمینه ۱ میلی لیتر در لیتر؛ A₂: اسید آمینه ۳ میلی لیتر در لیتر؛ A₃: اسید آمینه ۵ میلی لیتر در لیتر.

۴. بحث و نتیجه گیری

بنابراین نتایج این پژوهش نشان داد بالاترین غلظت های هر تیمار موجب افزایش میزان کلروفیل کل بطور معنی دار در گیاه اسطوخودوس گردیده است و سایر غلظتها دارای تفاوت معنی داری با شاهد نبود. همچنین علاوه بر غلظت اول اسید آمینه (A₁) در سایر تیمارها، بالاترین غلظت موجب افزایش میزان کاروتنوئید برگ نسبت به تیمار شاهد (پاشش آب مقطر) گردیده است. این نتایج با نتایج سایر پژوهش ها در این زمینه مطابقت دارد.

گزارش شده است که کاربرد اسید آمینه پرولین و تیروزین با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر منجر به افزایش عملکرد و افزایش کلروفیل در گیاه چغندر شد (El-Sherbeny and Teixeira Da Silva, 2013). کاربرد اسید آمینه در افزایش کلروفیل در گیاه گشنیز (امینی فرد و همکاران، ۱۳۹۸)، نعنای سبز دارویی (آذریپرا و همکاران، ۱۳۹۸) و هندوانه ابوجهل (ثانی خانی و همکاران، ۱۳۹۹) موثر بود. همچنین گزارشات پیشین حاکی از آنست که کاربرد جلبک دریایی بر اسطوخودوس تحت استرس شوری، بر ویژگیهای فتوسنتزی این گیاه موثر می باشد (Korkmaz and Cicek, 2024). کاربرد جلبک دریایی با غلظت ۱۰ میلی لیتر در لیتر توانست محتوای کلروفیل برگ زوفا را تا ۳۲ درصد افزایش داده و بالاترین شاخص سبزیگی (۶۱/۸۳) در بین تیمارهای مورد بررسی را باعث شود (پیرانی و همکاران، ۱۳۹۹). همچنین کاربرد جلبک دریایی موجب افزایش شاخص سبزیگی در گیاه مرزه گردید (رضایی و همکاران، ۱۳۹۸). جلبک دریایی باعث افزایش میزان کلروفیل در گیاهانی همچون چای ترش (قیومی محمدی و اسدی قارنه، ۱۳۹۷)، ریحان (اسماعیل پور و همکاران، ۱۳۹۹) و همیشه بهار (وجودی مهربانی و همکاران، ۱۳۹۷) گشت. از سوی دیگر گزارشات مبنی بر تاثیر مثبت کود آلی بر افزایش کلروفیل بادرشوبیه (رحیمی



و همکاران، ۱۳۹۹)، گیاه چای ترش (قیومی محمدی و اسدی قارنه، ۱۳۹۷؛ سنجری میجانی و همکاران، ۱۳۹۴)، آفتابگردان (سلیمانی و همکاران، ۱۳۹۶) و همیشه بهار (وجودی مهربانی و همکاران، ۱۳۹۷) منتشر گردیده است.

کابرد اسیدهای آمینه پرولین و تیروزین با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر علاوه بر افزایش عملکرد موجب افزایش میزان کاروتینوئید در گیاه چغندر شد (El-Sherbeny and Teixeira Da Silva, 2013). همچنین کاربرد اسید آمینه در عروسک پشت پرده موجب افزایش محتوای کاروتینوئید به میزان ۱۲/۸۳ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ شد (صارمی و همکاران، ۱۴۰۰). گزارشاتی مبنی بر تاثیر جلبک دریایی در کاروتینوئید گیاه نعناع فلفلی (محمدی و همکاران، ۱۴۰۰)، چای ترش (قیومی محمدی و اسدی قارنه، ۱۳۹۷) و ریحان (اسماعیل پور و همکاران، ۱۳۹۹) و تاثیر کود آلی بر افزایش کاروتینوئید گیاه بادرشویه (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۹)، آفتابگردان (سلیمانی و همکاران، ۱۳۹۶) و چای ترش (قیومی محمدی و اسدی قارنه، ۱۳۹۷؛ سنجری میجانی و همکاران، ۱۳۹۴) منتشر گردیده است. بنابراین نتایج مربوط به رنگیزه های فتوسنتزی این پژوهش با نتایج حاصل از تحقیقات سایر پژوهشگران مطابقت دارد.

اسیدهای آمینه بعنوان ترکیبات نیتروژن دار آلی واحد های ساختاری در بیوسنتز پروتئین ها هستند که جهت تحریک سلول به رشد نقش بسزایی دارند. همچنین بدلیل اینکه حاوی هر دو گروه عامل اسیدی و بازی هستند بعنوان بافر جهت تعادل اسیدیته مطلوب درون سلول نقش عمده ای دارند (Gendy and Nosir, 2016). از آنجا که اسیدهای آمینه با متابولیسم گیاهان بطور کامل سازگاری دارد، در تغذیه گیاهان دارای نقش موثر و ویژه ای است از جمله تاثیر رفع کمبودهای عناصر غذایی با سرعت بالا که باعث افزایش سطح برگ، محتوای کلروفیل و میزان فتوسنتز می شود و موجب افزایش کمی و کیفی محصول میگردد (Radkowski and Radkowska, 2018؛ Garcia et al, 2011).

از دلایل افزایش رنگیزه های فتوسنتزی در گیاهان تحت تیمار جلبک دریایی میتوان به این نکته اشاره کرد که کود جلبک دریایی دارای مقادیر مناسبی از هورمون های رشد (نظیر اکسین، سائوکینین و جبرلین)، بتائین، اسیدهای آمینه و مقادیر کافی عناصر غذایی ماکرو و میکرو می باشد که بر افزایش سطح سبز گیاه و در نتیجه افزایش کلروفیل و کاروتینوئید موثر است (Chouliaras et al., 2009). از طرفی گزارش گردیده است که بتائین موجود در جلبک دریایی باعث جلوگیری از زوال و تخریب کلروفیل می شود (Shahbazi et al., 2015) بنابراین برهمکنش عناصر غذایی با هورمونهای رشد میتواند در افزایش سبزیگی گیاه و جلوگیری از تخریب کلروفیل موثر باشد (رضایی و همکاران، ۱۳۹۸).

کود های آلی و جلبک به دلیل دارا بودن عناصر ریز مغذی موجب افزایش سطح جذب عناصر غذایی میگردد. در این میان عنصر آهن که در ساختمان سیتوکروم حضور دارد نقش ویژه ای در فرآیند اکسیداسیون و احیا و سنتز کلروفیل بازی میکند (رضایی نژاد و افیونی، ۱۳۷۹). گیاهان تیمار شده با کودهای زیستی و آلی دارای سطوح بزرگتری از برگ هستند و در نتیجه میزان کلروفیل بیشتری دارند (Farruggia et al., 2024؛ Rasouli et al., 2022). بنابراین میتوان چنین نتیجه گیری کرد که کاربرد تیمارهای محرک زیستی بر میزان کاروتینوئید و رنگیزه های فتوسنتزی برگ گیاه دارویی اسطوخودوس موثر می باشد.



تشکر و قدردانی

با سپاس از نیروهای اجرایی داوطلب که در این پژوهش همکاری داشته اند.

منابع

- اسماعیل پور، ب. فاطمی، ح. مرادی، م. ۱۳۹۹. تاثیر عصاره جلبک دریایی بر شاخص های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط تنش کم آبی. علوم و فنون کشت های گلخانه ای. ۱۱(۱): ۵۹-۶۹.
- امید بیگی، ر. ۱۳۷۶. رهیافت های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. طراحان نشر.
- امینی فرد، م. ح.، غلامی، م.، بیات، ح.، مرادی نژاد، ف. ۱۳۹۸. بررسی تاثیر کودهای اسید فولیک و اسید آمینه بر ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، فعالیت آنتی اکسیدانی و رنگیزه های فتوسنتزی گیاه دارویی *Coriandrum sativum* L. فصلنامه اکوفیتوشیمیایی گیاهان دارویی. ۱۷(۱): ۲۵-۳۹.
- آذریپرا، ا.، فتحی، ش.، شرفی، ی.، نجفیان، ش. ۱۳۹۸. تاثیر برخی محرکهای زیستی بر پایه اسید های آمینه روی گیاه نعنای سبز دارویی (*Mentha spicata* L.) تحت تنش شوری. نشریه تغذیه گیاهان باغی. ۲(۲): ۱۵۴-۱۷۳.
- پیرانی، ح.، عبادی، م.، ت.، رضایی، ع. ۱۳۹۹. تاثیر محلولپاشی کود جلبک دریایی بر شاخص های رشد، عملکرد، درصد و اجزای اسانس زوفا (*Hyssopus officinalis* L.). نشریه علمی تحقیقاتی گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۶(۳): ۳۷۶-۳۸۹.
- ثانی خانی، م.، اکبری، آ.، خیری، ع. ۱۳۹۹. اثر فنیل آلانین و تربیتوفان بر صفات موفولوژیکی و فیزیولوژیکی هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis* L.). مجله فرآیند و کارکرد گیاهی. ۹(۳۵): ۳۲۷-۳۱۷.
- حناچی، پ.، قربانی، ن.، صادقی علی آبادی، ح.، کیارستمی، خ.، حسینی، ف. ۱۴۰۱. سنجش میزان ترکیبات فنلی عصاره گیاهان بادرنجبویه و اسطوخودوس با استفاده از حلال ها و روش های عصاره گیری مختلف و بررسی خواص ضد باکتریایی آنها. نوید نو. ۲۵(۸۲): ۴۹-۳۸.
- خوش گفتار منش، ا.، م. ۱۳۹۳. مباحث پیشرفته تغذیه گیاه. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.
- رحیمی، ا.، دولتی، ب.، حیدرزاده، س.، احمدی، ف. ۱۳۹۹. بررسی اثر ورمی کمپوست، کودهای زیستی و نیتروژن بر عملکرد و ویژگی های فیتوشیمیایی گیاه دارویی بادرشویه (*Dracocephalum moldavica* L.) تحت شرایط مختلف رطوبتی. مهندسی زراعی (مجله علمی کشاورزی). ۴۳(۴): ۴۷۸-۴۶۱.
- رسولی، ف.، عابدینی، ف.، فخر قاضی، ه. ۱۳۹۸. بررسی اثرات نانوذرات اکسید روی بر ویژگیهای فیزیولوژیک فلفل دلمه ای *Capsicum annuum* L. تحت تنش شوری. نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی. ۹(۲): ۱۳۹-۱۲۵.
- رضایی نژاد، ی.، افیونی، م. ۱۳۷۹. اثر مواد آلی بر خواص شیمیایی خاک، جذب عناصر بوسیله ذرت و عملکرد آن. نشریه علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی). ۴(۴): ۲۸-۱۹.
- رضایی، ع.، عبادی، م.، ت.، پیرانی، ح. ۱۳۹۸. بررسی تاثیر سطوح مختلف کود آلی جلبک دریایی بر شاخصه های رشد، عملکرد و میزان اسانس گیاه دارویی مرزه *Satureja hortensis* L. نشریه علوم باغبانی. ۳۳(۴): ۶۹۶-۶۸۵.
- سلیمانی، ف.، احمدوند، گ.، صفری سنجانی، ع.، ا. ۱۳۹۶. تاثیر کودهای شیمیایی، زیستی و آلی بر شاخص های رشدی، عملکرد و اجزای عملکرد آفتابگردان تحت شرایط آبیاری کم و بهینه. دانش کشاورزی و تولید پایدار. ۲۷(۲): ۳۵-۱۹.



سنجری میجانی، م.، سیروس مهر، ع.، ر.، فاخری، ب.، ع. ۱۳۹۴. اثر تنش خشکی و اسید هیومیک بر برخی ویژگیهای فیزیولوژیک چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*). نشریه به زراعی کشاورزی، ۱۷(۲): ۴۰۳-۴۱۴.

شریفی سیرچی، غ.، ر.، طاهری، ا. ۱۳۹۷. اثرات کودهای مایع ماهی (Fish hydrolysate) و عصاره ماکرو جلبکی حاصل از خلیج فارس بر خصوصیات رشدی گیاه بادمجان. مجله بوم شناسی آبریان، ۷(۴): ۸-۱.

صارمی، س.، قلی پور، م.، عباسدخت، ح.، نقدی بادی، ح.، مهر آفرین، ع.، اصغری، ح.، ر. ۱۴۰۰. بررسی اثر محلولپاشی انواع اسیدهای آمینه بر پاسخ های بیوشیمیایی گیاه دارویی *Physalis alkekengi* L. فصلنامه اکوفیتوشیمیایی گیاهان دارویی، ۹(۲): ۳۹-۵۲.

عبدالاهی نطنزی، ع.، ر.، عرب رحمتی پور، غ.، ر. ۱۳۹۹. بررسی میزان کلروفیل، کاروتینوئید تام و بتاکاروتن در هویج و تاثیر آب و هوا بر آنها. فصلنامه گیاهان دارویی، ۱۹(۷۵): ۲۵۴-۲۵۶.

قیومی محمدی، ن.، اسدی قارنه، ح.، ع. ۱۳۹۷. اثر محلول پاشی جلبک دریایی و کاربرد ورمی کمپوست بر ویژگی های کمی و کیفی گیاه دارویی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۴(۶): ۸۸۷-۸۷۱.

محمدی، ز.، نیکخواه، ر.، کریمی، ل.، عبدی، غ.، ر. ۱۴۰۰. بررسی اثر کاربرد جلبک دریایی و گیاه مورینگا بر روی صفات کاروتینوئید و وزن تر و خشک گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.). دوازدهمین کنگره علوم باغبانی ایران، رفسنجان

ملکوتی، م.، ج.، همایی، م. ۱۳۸۳. حاصلخیزی خاکهای مناطق خشک و نیمه خشک "مشکلات و راه حل ها". دفتر نشر اسناد علمی دانشگاه تربیت مدرس تهران.

مومنی، ف.، قبادی، م.، جلالی هنرمند، س.، شکاری، پ. ۱۳۹۳. واکنش خصوصیات فیزیولوژیکی نخود به کودهای روی و پتاسیم در شرایط دیم و آبیاری تکمیلی. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی، ۳: ۷۱-۸۳.

وجودی مهربانی، ل.، حسن پور اقدم، م.، ب.، ابراهیم زاده، ا.، ولیزاده کامران، ر. ۱۳۹۷. اثر کودهای آلی و خاکپوش بر عملکرد و برخی از خصوصیات فیزیولوژیک همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) تحت محلولپاشی با عصاره جلبک دریایی. مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی، ۱۰(۳۵): ۲۲۰-۲۱۲.

- Ashraf, M., and Harris P.J.C. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166: 3-16.
- Chouliaras, V., Tasioula, M., Chatzissavvidis, C., Therios, I., and Tsabolididou, E. (2009). The effects of a seaweed extract in addition to nitrogen and boron fertilization on productivity, fruit maturation, leaf nutritional status and oil quality of the olive (*Olea europaea* L.) cultivar Koroneiki. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(6): 984-988. DOI:10.1002/jsfa.3543
- Dobreva, A., Petkova, N.T., Todorova, M., and Gerdzhikova, M. (2023). Organic vs. Conventional Farming of Lavender: Effect on Yield, Phytochemicals and Essential Oil Composition. *Agronomy*, 14(1):32. DOI:10.3390/agronomy14010032
- El-Sherbeny, M.R., and Teixeira Da Silva, J.A. (2013). Foliar Treatment with Proline and Tyrosine Affect the Growth and Yield of Beetroot and Some Pigments in Beetroot Leaves. *Journal of Horticultural Research*, 21(2): 95-99. DOI: 10.2478/johr-2013-0027
- Farruggia, D., Tortorici, N., Lacuzzi, N., and Alaimo, F. (2024). Biostimulants Improve Plant Performance of Rosemary Growth in Agricultural Organic System. *Agronomy*, 14(1):158. DOI:10.3390/agronomy14010158
- Garcia, A.L., Madrid, R., Gimeno, V., Rodriguez –Ortega, W.M., Nicolas, N., and Garcia –Sanchez, F. (2011). The effects of amino acids fertilization incorporated to the nutrient solution on mineral composition and growth in tomato seedlings. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9(3): 852 -861. DOI:10.5424/sjar/20110903-399-10



- Gendy, A.S.H., and Nosir, W.S. (2016). Improving productivity and chemical constituents of Roselle plant (*Hibiscus sabdariffa* L.) as affected by phenylalanine, L- tryptophan and peptone acids foliar application. Middle East Journal of Agriculture Research 5: 701 -708.
- Korkmaz, E., and Cicek, N. (2024). Investigation of The Alleviating Effect of Liquid Seaweed Fertilizer on *Lavandula officinalis* under Salt Stress. Environmental Monitoring and Assessment, 196(2): 187. DOI:10.1007/s10661-024-12377-9
- Latowski, D., Kuczyńska, P., and Strzałka, K. (2011). Xanthophyll cycle--a mechanism protecting plants against oxidative stress. Redox Report, 16(2): 78-90. DOI: [10.1179/174329211X13020951739938](https://doi.org/10.1179/174329211X13020951739938)
- Radkowski, A., and Radkowska, I. (2018). Influence of foliar fertilization with amino acid preparations on morphological traits and seed yield of timothy. Plant, Soil and Environment 64(5): 209 -213.
- Rasouli, F., Nasiri, Y., Hassanpouraghdam, M.B., Asadi, M., Qaderi, T., Trifa, A., Strzemski, M., Dresler, S., and Szczepanek, M. (2023). Seaweed extract and *arbuscular mycorrhiza* co-application affect the growth responses and essential oil composition of *Foeniculum vulgare* L. Scientific Reports, 13: 11902.
- Shahbazi, F., Nejad, M.S., Salimi, A., and Gilani, A. (2015). Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of wheat. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 8(3): 283.

نیکوتین: شمشیری دو لبه در عرصه سلامت و اعتیاد

پرویز ملک زاده^۱، نازنین زهرا خداپرست^{۱*}، مرتضی یوسفزادی^۱

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران. (nazaninkh319@gmail.com)

چکیده

نیکوتین، یک آلکالوئید طبیعی که به طور فراوان در گیاه تنباکو یافت می شود، به طور مداوم توجه محققان را به دلیل تأثیرات پیچیده اش بر سیستم عصبی مرکزی و ویژگی های اعتیادآور آن جلب کرده است. این ترکیب شیمیایی، علاوه بر نقش شناخته شده اش در ایجاد اعتیاد به دخانیات، در چند دهه اخیر به خاطر پتانسیل های درمانی اش در برخی بیماری ها، از جمله آلزایمر و پارکینسون مورد مطالعه قرار گرفته است. این مقاله یک مرور است که آخرین یافته ها و مطالعات علمی درباره نیکوتین را به صورت جامع و به روز بررسی می کند. در ابتدا، ساختار شیمیایی، منابع و روش های مصرف نیکوتین معرفی می شوند. سپس، تأثیرات این ماده بر سیستم عصبی مرکزی، از جمله تأثیرات آن بر حافظه، تمرکز، خلق و خو و سیستم پاداش به تفصیل شرح داده می شود. در ادامه، نقش نیکوتین در اعتیاد و مکانیزم های وابستگی به آن مورد بحث قرار می گیرد. بخش دیگری از مقاله به بررسی جنبه های مثبت و منفی نیکوتین در سلامت انسان اختصاص دارد. در این بخش، در حالی که خطرات سیگار کشیدن و قرار گرفتن در معرض دود آن ذکر می شود، پتانسیل های درمانی نیکوتین در بیماری های مختلف، از جمله بیماری های نورودژنراتیو و اختلالات روانی، مورد بحث قرار می گیرد. علاوه بر این، روش های مختلف ترک اعتیاد به نیکوتین و کاهش آسیب های ناشی از مصرف آن بررسی می شود. در پایان این تحقیق، با خلاصه سازی مطالب ارائه شده، چالش ها و ابهامات موجود در زمینه تحقیقات نیکوتین اشاره می شود و پیشنهاداتی برای تحقیقات آینده مطرح می گردد. هدف این مقاله ارائه تصویری جامع و متعادل از نیکوتین به عنوان ماده ای با پتانسیل های دوگانه در حوزه سلامت و اعتیاد است.

واژگان کلیدی: اعتیاد، ترک اعتیاد، سیستم عصبی مرکزی، نیکوتین.



۱. مقدمه

این مقاله مروری به بررسی جامع و به روز یافته ها و مطالعات علمی در مورد نیکوتین، آلکالوئیدی طبیعی موجود در گیاهان خانواده بادنجانیان، می پردازد. نیکوتین به عنوان یک ماده شیمیایی، تأثیرات عمیق و پیچیده ای بر سیستم عصبی مرکزی دارد که باعث جلب توجه پژوهشگران در زمینه های مختلف شده است (McMurtrey 1961, Johnson 2002, Sanjeev and Kapgate 2021). این آلکالوئید به طور خاص به خاطر خاصیت اعتیادآوری اش شناخته می شود و مطالعات نشان داده اند که می تواند بر فرآیندهای شناختی مانند حافظه و تمرکز تأثیر بگذارد. به علاوه، نیکوتین به طور موقت می تواند احساس پاداش و لذت را افزایش دهد، که خود باعث ایجاد وابستگی در مصرف کنندگان می شود. این ویژگی ها، نیکوتین را به موضوعی جذاب برای تحقیقات علمی تبدیل کرده است، به ویژه در زمینه های روان شناسی و پزشکی. همچنین، در سال های اخیر، توجه به پتانسیل های درمانی نیکوتین در بیماری هایی مانند آلزایمر و پارکینسون افزایش یافته است، که این موضوع نیز باعث توسعه تحقیقات جدید در این حوزه شده است. در مجموع، نیکوتین به عنوان ماده ای با پتانسیل های دوگانه، همواره در کانون توجه علمی قرار دارد (Miech, Leventhal et al., 2021, Ritzenthaler, Watson et al., 2024).

نیکوتین یک آلکالوئید طبیعی است که عمدتاً در گیاه تنباکو یافت می شود و به خاطر خاصیت اعتیادآوری اش شناخته شده است. این ماده با اتصال به گیرنده های نیکوتینی در مغز، باعث افزایش ترشح دوپامین می شود که احساس لذت و پاداش را تقویت می کند. نیکوتین می تواند به بهبود موقت حافظه و تمرکز کمک کند، اما مصرف طولانی مدت آن ممکن است با مشکلات جدی شناختی و خطر ابتلا به بیماری های نورودژنراتیو مرتبط باشد. همچنین، نیکوتین به عنوان یک ماده با پتانسیل درمانی در بیماری هایی مانند آلزایمر و پارکینسون مورد بررسی قرار گرفته است. با این حال، خطرات ناشی از اعتیاد و عوارض سلامتی، نیاز به مدیریت دقیق مصرف آن را ضروری می سازد (Sanjeev and Kapgate 2021, Hammarlund 2022, Cox, West et al., 2023).

کشت و صنعت نیکوتین عمدتاً به تولید و فرآوری گیاه تنباکو اختصاص دارد، که منبع اصلی نیکوتین است. این صنعت شامل مراحل مختلفی از جمله کشت، برداشت، و فرآوری تنباکو برای تولید محصولات مختلف مانند سیگار، سیگارهای الکترونیکی و سایر محصولات نیکوتین دار می شود. با افزایش آگاهی عمومی از مضرات مصرف دخانیات، بسیاری از شرکت ها به دنبال توسعه محصولات جایگزین با خطرات کمتر، مانند نیکوتین بدون دود، هستند. همچنین، تحقیقات برای بهبود تکنیک های کشت و افزایش بازدهی گیاهان تنباکو در حال انجام است. در نهایت، این صنعت تحت تأثیر قوانین سخت گیرانه و تغییرات اجتماعی قرار دارد که بر روی تولید و فروش محصولات نیکوتین تأثیر می گذارد (Erku, Morphett et al., 2019). نیکوتین می تواند به شدت اعتیادآور باشد و باعث وابستگی شدید در مصرف کنندگان شود. مصرف طولانی مدت آن با افزایش خطر ابتلا به بیماری های قلبی، فشار خون بالا و مشکلات تنفسی مرتبط است. همچنین، نیکوتین می تواند تأثیرات منفی بر سلامت مغز، به ویژه در نوجوانان، و همچنین خطر زایمان زودرس و عوارض بارداری را افزایش دهد (Organization 2006, Bhalariao and Cucullo 2020, Sinha and Haider 2024).



۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت یک مطالعه مروری انجام شده و به بررسی مقالات معتبر به زبان انگلیسی و منابع الکترونیکی مختلف در مورد نیکوتین و تأثیرات آن پرداخته است. برای این منظور، از پایگاه‌های داده‌ای نظیر PubMed، Scopus، Web of Science و موتور جستجوی Google Scholar استفاده شده است. در این مطالعه، از کلیدواژه‌های مرتبط شامل «نیکوتین»، «اعتیاد»، «اثرات متابولیکی»، «اثرات بالینی»، «بیماری‌های مرتبط با نیکوتین» و «ترک نیکوتین» بهره‌گیری گردید تا اطلاعات جامعی جمع‌آوری شود. فرآیند جستجو به گونه‌ای طراحی شد که مقالات منتشرشده بین سال‌های ۲۰۱۸ تا ۲۰۲۵ را شامل شود.

۳. نتایج

3-1. نیکوتین

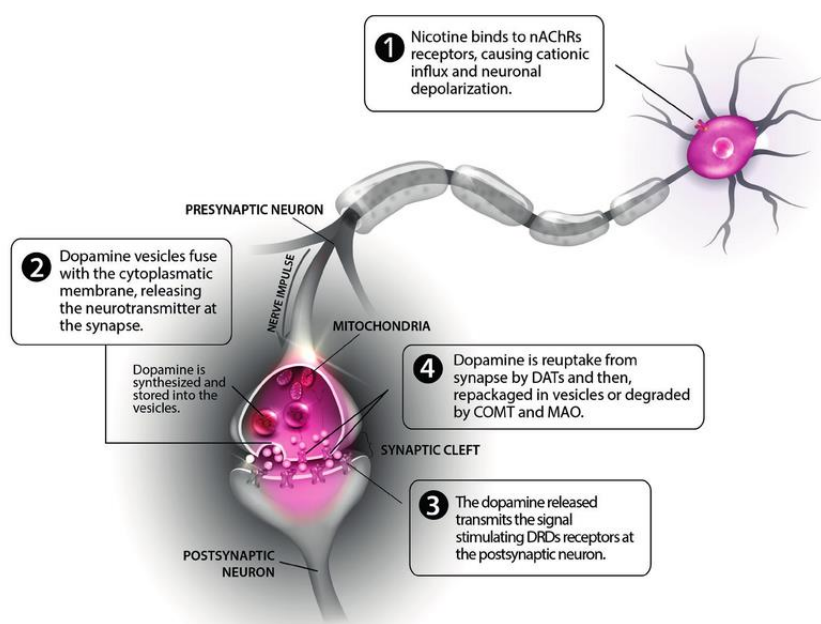
نیکوتین یک ترکیب شیمیایی آلی و محرک است که به طور طبیعی در گیاهان خانواده بادنجانیان مانند تنباکو یافت می‌شود. این ماده به شدت اعتیادآور است و عامل اصلی ایجاد وابستگی به سیگار و سایر محصولات دخانی به شمار می‌رود. نیکوتین با تأثیر بر سیستم عصبی مرکزی، باعث افزایش ترشح دوپامین و ایجاد حس لذت و سرخوشی می‌شود که این امر می‌تواند منجر به تکرار مصرف و در نتیجه اعتیاد گردد. علاوه بر این، نیکوتین تأثیرات فیزیولوژیکی دیگری نیز دارد که از جمله آنها می‌توان به افزایش ضربان قلب، فشار خون و تحریک سیستم عصبی اشاره کرد. با این حال، مصرف طولانی مدت نیکوتین با خطرات جدی برای سلامتی همراه است و می‌تواند منجر به بیماری‌های مختلفی از جمله بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان، بیماری‌های تنفسی و اختلالات روانپزشکی شود. به همین دلیل، ترک مصرف نیکوتین و محصولات دخانی برای حفظ سلامتی و پیشگیری از بیماری‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است (Bahmani, Farkhondeh et al., 2012, Gravely, Thrasher et al., 2019, Costantini, Carrarini et al., 2023).

3-2. مکانیسم اثر نیکوتین

نیکوتین پس از ورود به بدن، به سرعت جذب جریان خون شده و به مغز می‌رسد. در مغز، نیکوتین به گیرنده‌های خاصی به نام گیرنده‌های استیل کولین نیکوتینی^۱ (nAChRs) متصل می‌شود (شکل ۱). این گیرنده‌ها به طور طبیعی توسط استیل کولین، یک انتقال دهنده عصبی که در بسیاری از عملکردهای مغزی نقش دارد، فعال می‌شوند. اتصال نیکوتین به گیرنده‌های nAChR باعث تحریک آنها و در نتیجه افزایش ترشح دوپامین در مغز می‌شود. دوپامین یک انتقال دهنده عصبی است که در ایجاد احساس لذت، پاداش و انگیزه نقش دارد. افزایش ترشح دوپامین ناشی از نیکوتین، احساس لذت و سرخوشی را به همراه دارد که می‌تواند منجر به تکرار مصرف و در نتیجه اعتیاد شود. علاوه بر تأثیر بر ترشح دوپامین، نیکوتین می‌تواند تأثیرات دیگری نیز بر مغز داشته باشد، از جمله افزایش تمرکز و توجه، کاهش استرس و اضطراب و تأثیر بر حافظه. با تکرار مصرف نیکوتین، مغز به تدریج به این ماده عادت می‌کند و برای تجربه همان احساس لذت و پاداش، به مقدار بیشتری از آن نیاز پیدا می‌کند. این امر منجر به ایجاد وابستگی و اعتیاد به نیکوتین می‌شود. ترک مصرف نیکوتین می‌تواند با علائم ناخوشایندی مانند تحریک پذیری،

¹ Nicotinic acetylcholine receptors

اضطراب، افسردگی و بی‌قراری همراه باشد. مصرف طولانی مدت نیکوتین با خطرات جدی برای سلامتی همراه است و می‌تواند منجر به بیماری‌های مختلفی از جمله بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان، بیماری‌های تنفسی و اختلالات روانپزشکی شود. به همین دلیل، ترک مصرف نیکوتین و محصولات دخانی برای حفظ سلامتی و پیشگیری از بیماری‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است (Nakata, Miura et al., 2022, Prochaska, Vogel et al., 2022, El Hasbani, Nassar et al., 2024, Cassidy,) (Tidey et al., 2025).



شکل ۱. فعال شدن سیستم پاداش دوپامینرژیک توسط نیکوتین. nAChRs: گیرنده‌های استیل کولین نیکوتینی؛ DRDs: گیرنده‌های دوپامین؛ DATs: انتقال‌دهنده‌های دوپامین؛ MAO: مونوآمین اکسیداز؛ COMT: کاتکول-O-متیل ترانسفراز؛ NRT: درمان جایگزینی نیکوتین (Mota, Barata-Silva et al., 2023).

3-3. تأثیرات مثبت احتمالی نیکوتین

نیکوتین، به عنوان یک ترکیب شیمیایی موجود در تنباکو، علاوه بر اثرات منفی شناخته شده، دارای پتانسیل تأثیرات مثبت بالقوه نیز می‌باشد. برخی تحقیقات نشان داده‌اند که نیکوتین می‌تواند به بهبود تمرکز و عملکرد شناختی کمک کند. این تأثیرات موجب شده است که نیکوتین به عنوان یک گزینه درمانی احتمالی برای بیماری‌های عصبی مانند آلزایمر و پارکینسون مورد بررسی قرار گیرد. علاوه بر این، نیکوتین می‌تواند با فعال کردن سیستم متابولیسم بدن، منجر به کاهش اشتها شود که این امر می‌تواند در کنترل وزن مؤثر باشد. با این حال، لازم به ذکر است که این تأثیرات مثبت تنها در شرایط خاص و با مصرف کنترل‌شده نیکوتین مشاهده شده‌اند و مصرف خودسرانه و بیش از حد آن می‌تواند عوارض جدی برای سلامتی داشته باشد (Gottlieb and Zeller 2017, Erku, Morphett et al., 2019, Miech, Leventhal et al., 2021).

3-4. عوارض و خطرات نیکوتین



در کنار فواید احتمالی که پیشتر گفته شد، نیکوتین دارای عوارض و خطرات جدی نیز هست که نباید از آن‌ها غافل شد. وابستگی شدید به نیکوتین، که از نظر شدت با هروئین و کوکائین قابل مقایسه است، یکی از مهم‌ترین این عوارض است. ترک نیکوتین می‌تواند با علائم ناخوشایندی مانند اضطراب، تحریک‌پذیری و افسردگی همراه باشد. علاوه بر این، مصرف نیکوتین می‌تواند منجر به افزایش ضربان قلب و فشار خون شود که در طولانی مدت خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی را افزایش می‌دهد. تأثیرات منفی نیکوتین بر رشد مغز نوجوانان نیز از دیگر موارد نگران‌کننده است. مصرف نیکوتین در این سنین می‌تواند تغییرات ساختاری در مغز ایجاد کند و بر رشد شناختی آن‌ها تأثیر منفی بگذارد. با توجه به این خطرات جدی، مصرف نیکوتین به هیچ عنوان توصیه نمی‌شود و ترک آن برای حفظ سلامتی ضروری است (McGrath-Morrow, Gorzkowski et al., 2020, Nakata, Miura et al., 2022, Costantini, Carrarini et al., 2023, Cassidy, Tidey et al., 2025).

3-5. نیکوتین بدون دود: جایگزینی سالم‌تر یا تهدیدی جدید؟

محصولات جایگزین نیکوتین، از جمله سیگارهای الکترونیکی، آدامس‌ها و چسب‌های نیکوتین‌دار، به عنوان راهکاری برای کاهش خطرات ناشی از دود تنباکو معرفی شده‌اند. این محصولات با حذف دود، برخی از مضرات سیگار کشیدن را کاهش می‌دهند، اما همچنان حاوی نیکوتین هستند و نگرانی‌هایی جدی در مورد تأثیرات طولانی مدت این ماده بر سلامتی وجود دارد. نیکوتین، ماده‌ای اعتیادآور، می‌تواند منجر به وابستگی شدید شود و ترک آن با علائمی مانند اضطراب، تحریک‌پذیری و افسردگی همراه باشد. علاوه بر این، مصرف نیکوتین می‌تواند تأثیرات منفی بر رشد مغز نوجوانان داشته باشد و خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی را افزایش دهد. در حالی که این محصولات جایگزین، خطرات کمتری نسبت به سیگار کشیدن دارند، نمی‌توان آن‌ها را کاملاً بی‌خطر دانست و تحقیقات بیشتری برای بررسی دقیق تأثیرات طولانی مدت آن‌ها بر سلامتی مورد نیاز است (Mishra, Chaturvedi et al., 2015, Wadgave and Nagesh 2016, Gottlieb and Zeller 2017, Nakata, 2022, Miura et al., 2022).

3-6. آیا نیکوتین می‌تواند دارویی باشد؟

مطالعات جدید نشان داده‌اند که نیکوتین، علاوه بر اثرات منفی شناخته شده، می‌تواند در دوزهای کنترل‌شده برای درمان برخی بیماری‌های عصبی مفید باشد. تحقیقات انجام شده روی بیماران مبتلا به آلزایمر و اختلال نقص توجه و بیش‌فعالی¹ (ADHD) نشان داده است که نیکوتین می‌تواند برخی از علائم این بیماری‌ها را بهبود بخشد. با این حال، خطرات اعتیاد و عوارض جانبی نیکوتین، استفاده پزشکی از آن را محدود کرده است و لازم است تحقیقات بیشتری در این زمینه انجام شود تا بتوان از پتانسیل درمانی نیکوتین به صورت ایمن و مؤثر استفاده کرد (Mishra, Chaturvedi et al., 2015, Benowitz 2020, and Burbank 2016, Erku, Kisely et al., 2020).

¹ Attention deficit hyperactivity disorder



3-7. تأثیرات نیکوتین بر مغز و سیستم عصبی

نیکوتین با تأثیر بر سیستم عصبی و افزایش ترشح دوپامین، می تواند احساس لذت و پاداش را در مغز تقویت کند و منجر به اعتیاد شود. در حالی که مصرف نیکوتین ممکن است به طور موقت تمرکز و حافظه را بهبود بخشد، اما مصرف طولانی مدت آن با کاهش توانایی های شناختی و افزایش خطر ابتلا به بیماری هایی مانند آلزایمر مرتبط است. نیکوتین با اتصال به گیرنده های نیکوتینی در مغز، باعث افزایش ترشح دوپامین می شود که یک انتقال دهنده عصبی مرتبط با احساس لذت و پاداش است. این فرآیند می تواند منجر به ایجاد وابستگی و اعتیاد در مصرف کنندگان شود. برخی تحقیقات نشان داده اند که نیکوتین می تواند به طور موقت تمرکز و حافظه را بهبود بخشد (Erku, Gartner et al., 2020, Mathis, Smart et al., 2021, Prochaska, Vogel et al., 2022, Cox, West et al., 2023). این اثرات ممکن است به دلیل تأثیر نیکوتین بر افزایش ترشح سایر انتقال دهنده های عصبی مانند استیل کولین باشد که نقش مهمی در یادگیری و حافظه دارند. با این حال، این اثرات معمولاً کوتاه مدت هستند و با مصرف طولانی مدت نیکوتین، این فواید از بین می روند و حتی ممکن است منجر به کاهش توانایی های شناختی شوند. علاوه بر این، مصرف طولانی مدت نیکوتین با افزایش خطر ابتلا به بیماری های عصبی مانند آلزایمر مرتبط است. برخی مطالعات نشان داده اند که نیکوتین می تواند باعث آسیب به سلول های مغزی و اختلال در عملکرد آنها شود که این امر می تواند منجر به زوال شناختی و افزایش خطر ابتلا به آلزایمر شود. بنابراین، با وجود برخی فواید کوتاه مدت، مصرف نیکوتین به دلیل خطر اعتیاد و عوارض جانبی جدی، از جمله کاهش توانایی های شناختی و افزایش خطر ابتلا به بیماری های عصبی، به هیچ عنوان توصیه نمی شود. بهترین راه برای حفظ سلامتی مغز و پیشگیری از بیماری های عصبی، پرهیز کامل از مصرف هرگونه محصول حاوی نیکوتین است (Gottlieb and Zeller 2017, Mathis, Smart et al., 2021, Miech, Leventhal et al., 2021, Cox, West et al., 2023).

3-8. نیکوتین و بارداری مادران

مصرف نیکوتین در دوران بارداری برای مادر و جنین بسیار خطرناک است و می تواند عواقب جبران ناپذیری داشته باشد. نیکوتین به راحتی از طریق جفت به جنین منتقل شده و بر رشد و تکامل او تأثیرات منفی جدی می گذارد. برخی از این عوارض عبارتند از: اختلال در رشد مغز و سیستم عصبی که منجر به مشکلات یادگیری، حافظه و رفتاری در آینده می شود؛ افزایش خطر زایمان زودرس که با مشکلات تنفسی، عفونت و سایر مشکلات سلامتی در نوزاد همراه است؛ وزن کم هنگام تولد که با تأخیر در رشد، مشکلات تنفسی و افزایش خطر مرگ نوزاد مرتبط است؛ و افزایش خطر ابتلا به مشکلات تنفسی مانند سندرم زجر تنفسی نوزادان^۱ (RDS) (Erku, Gartner et al., 2020, Nakata, Miura et al., 2022). علاوه بر این، مصرف نیکوتین در دوران بارداری خطر سقط جنین، مرگ نوزاد و مشکلات قلبی را نیز افزایش می دهد. با توجه به این خطرات جدی، ترک نیکوتین در دوران بارداری از اهمیت ویژه ای برخوردار است و می تواند به بهبود سلامت مادر و جنین و جلوگیری از بسیاری از

¹ Infant Respiratory Distress Syndrome



این عوارض کمک کند (Mishra, Chaturvedi et al., 2015, Erku, Kisely et al., 2020, Prochaska, Vogel et al., 2022).

3-9. نیکوتین و تاثیر آن بر سنین پایین

تحقیقات نشان داده است که مصرف نیکوتین در نوجوانان و جوانان می تواند اثرات مخربی بر رشد مغز داشته باشد. مغز انسان تا سن ۲۵ سالگی در حال تکامل است و نیکوتین می تواند باعث تغییرات ساختاری در نورون ها شود که بر عملکردهای شناختی مانند حافظه، یادگیری و کنترل تکانه ها تأثیر منفی می گذارد. این تغییرات می توانند منجر به کاهش توانایی های شناختی، مشکلات در تمرکز و یادگیری، و افزایش خطر ابتلا به افسردگی و اضطراب شوند. به همین دلیل، مصرف نیکوتین در این سنین می تواند منجر به افزایش خطر اعتیاد به سایر مواد مخدر در آینده شود، زیرا مغز در حال تکامل بیشتر مستعد اعتیاد است (Benowitz and Burbank 2016, Wadgave and Nagesh 2016, Nakata, Miura et al., 2022).

3-10. نیکوتین و وابستگی به مصرف آن

یکی از بزرگترین چالش های مرتبط با نیکوتین، پتانسیل بالای اعتیادآوری آن است. مطالعات نشان داده اند که نیکوتین از نظر میزان وابستگی، مشابه موادی مانند هروئین و کوکائین عمل می کند. ترک نیکوتین می تواند علائمی مانند تحریک پذیری، اضطراب، افسردگی، کاهش تمرکز و افزایش اشتها ایجاد کند. این علائم معمولاً چند روز تا چند هفته طول می کشند، اما میل به مصرف نیکوتین ممکن است ماه ها یا حتی سال ها باقی بماند (Mathis, Smart et al., 2021, Cox, West et al., 2023).

3-11. راهکارهای ترک نیکوتین

ترک نیکوتین فرایندی چالش برانگیز است، اما با روش های مناسب و حمایت کافی می توان بر این وابستگی غلبه کرد. روش های مختلفی برای ترک نیکوتین وجود دارد. روش های جایگزینی نیکوتین^۱ (NTR) شامل استفاده از چسب های نیکوتین، آدامس های نیکوتین، اسپری های بینی نیکوتین و استنشاق های نیکوتین می شوند. این محصولات با تأمین مقدار کمی نیکوتین برای بدن، به تدریج علائم ترک را کاهش می دهند و به فرد کمک می کنند تا وابستگی خود را به نیکوتین کم کند. مشاوره، رفتاردرمانی و گروه های حمایتی نیز می توانند در موفقیت فرایند ترک نیکوتین بسیار مؤثر باشند (El Hasbani, Nassar et al., 2024, Cassidy, Tidey et al., 2025). مشاوران و درمانگران به افراد کمک می کنند تا با عوامل تحریک کننده و موقعیت هایی که باعث تمایل به مصرف نیکوتین می شوند، مقابله کنند و راهبردهای مؤثری برای مدیریت این تمایلات بیاموزند. گروه های حمایتی نیز فضایی را برای به اشتراک گذاشتن تجربیات و دریافت حمایت از دیگران فراهم می کنند. در برخی موارد، پزشک ممکن است داروهایی مانند وارنیکلین و بوپروپیون را برای کمک به ترک نیکوتین تجویز کند. این داروها با تأثیر بر مغز، می توانند علائم ترک را کاهش دهند و احتمال موفقیت در ترک را افزایش دهند. ترک نیکوتین یک فرایند تدریجی است

¹ nicotine replacement therapy



و نیاز به صبر و پشتکار دارد. مهم است که فرد در این مسیر از حمایت خانواده، دوستان و متخصصان برخوردار باشد. ترکیب روش‌های مختلف ترک نیکوتین می‌تواند مؤثرتر باشد. در صورت مصرف داروهای ترک نیکوتین، حتماً با پزشک خود مشورت کنید. با استفاده از روش‌های مناسب و اراده قوی، می‌توان بر وابستگی به نیکوتین غلبه کنید و زندگی سالم‌تری داشته باشید (Bahmani, Farkhondeh et al., 2012, Costantini, Carrarini et al., 2023, El Hasbani, Nassar et al., 2024).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

نیکوتین ماده‌ای پیچیده با اثرات دوگانه است. در حالی که پتانسیل بهبود برخی جنبه‌های عملکرد شناختی و کاهش خطر ابتلا به برخی بیماری‌های عصبی را دارد، نباید از عوارض جانبی و مهم‌تر از همه، خاصیت اعتیادآوری بالای آن چشم‌پوشی کرد. نیکوتین می‌تواند به طور موقت به افزایش تمرکز و کاهش استرس کمک کند، اما وابستگی شدید و اثرات منفی آن بر سلامت عمومی، به ویژه سیستم‌های قلبی عروقی و عصبی، قابل اغماض نیست. با افزایش آگاهی عمومی در مورد خطرات نیکوتین و ارائه راهکارهای مؤثر برای ترک آن، می‌توان میزان وابستگی به این ماده را کاهش داد و گامی مؤثر در جهت ارتقاء سبک زندگی سالم برداشت. در نهایت، انجام پژوهش‌های بیشتر در مورد کاربردهای بالقوه نیکوتین و روش‌های کاهش آسیب‌های ناشی از آن، امری ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

- Bahmani, M., T. Farkhondeh and P. Sadighara (2012). "The anti-parasitic effects of Nicotina tabacum on leeches." *Comparative Clinical Pathology* 21: 357-359.
- Bahmani, M., T. Farkhondeh and P. Sadighara (2012). "The anti-parasitic effects of Nicotina tabacum on leeches." *Comparative Clinical Pathology* 21: 357-359.
- Benowitz, N. L. and A. D. Burbank (2016). "Cardiovascular toxicity of nicotine: implications for electronic cigarette use." *Trends in cardiovascular medicine* 26(6): 515-523.
- Benowitz, N. L. and A. D. Burbank (2016). "Cardiovascular toxicity of nicotine: implications for electronic cigarette use." *Trends in cardiovascular medicine* 26(6): 515-523.
- Bhalerao, A. and L. Cucullo (2020). "Impact of tobacco smoke in HIV progression: a major risk factor for the development of NeuroAIDS and associated CNS disorders." *Journal of Public Health* 28: 259-270.
- Bhalerao, A. and L. Cucullo (2020). "Impact of tobacco smoke in HIV progression: a major risk factor for the development of NeuroAIDS and associated CNS disorders." *Journal of Public Health* 28: 259-270.
- Cassidy, R. N., J. W. Tidey, M. S. Bello, R. Denlinger-Apte, C. Goodwin, J. Godin, P. A. Cioe, R. Swift, C. Demorest and J. S. Koopmeiners (2025). "Effects of very low nicotine content cigarettes and nicotine vaping device characteristics on choices to smoke, vape, or abstain in early young adults." *Nicotine and Tobacco Research* 27(2): 244-253.
- Cassidy, R. N., J. W. Tidey, M. S. Bello, R. Denlinger-Apte, C. Goodwin, J. Godin, P. A. Cioe, R. Swift, C. Demorest and J. S. Koopmeiners (2025). "Effects of very low nicotine content cigarettes and nicotine vaping device characteristics on choices to smoke, vape, or abstain in early young adults." *Nicotine and Tobacco Research* 27(2): 244-253.
- Costantini, E., C. Carrarini, P. Borrelli, M. De Rosa, D. Calisi, S. Consoli, D. D'Ardes, F. Cipollone, M. Di Nicola and M. Onofri (2023). "Different peripheral expression patterns of the nicotinic acetylcholine receptor in dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease." *Immunity & Ageing* 20(1): 3.



- Costantini, E., C. Carrarini, P. Borrelli, M. De Rosa, D. Calisi, S. Consoli, D. D'Ardes, F. Cipollone, M. Di Nicola and M. Onofri (2023). "Different peripheral expression patterns of the nicotinic acetylcholine receptor in dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease." *Immunity & Ageing* 20(1): 3.
- Cox, S., R. West, C. Notley, K. Soar and J. Hastings (2023). *Toward an ontology of tobacco, nicotine and vaping products*, Wiley Online Library.
- Cox, S., R. West, C. Notley, K. Soar and J. Hastings (2023). *Toward an ontology of tobacco, nicotine and vaping products*, Wiley Online Library.
- El Hasbani, G., J. Nassar, A. E. Ali, I. Uthman and A. Jawad (2024). "The impact of nicotine smoking on spondyloarthritis and rheumatoid arthritis." *Reumatismo* 76(2).
- El Hasbani, G., J. Nassar, A. E. Ali, I. Uthman and A. Jawad (2024). "The impact of nicotine smoking on spondyloarthritis and rheumatoid arthritis." *Reumatismo* 76(2).
- Erku, D. A., K. Morphet, K. J. Steadman and C. E. Gartner (2019). "Policy debates regarding nicotine vaping products in Australia: a qualitative analysis of submissions to a government inquiry from health and medical organisations." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(22): 4555.
- Erku, D. A., K. Morphet, K. J. Steadman and C. E. Gartner (2019). "Policy debates regarding nicotine vaping products in Australia: a qualitative analysis of submissions to a government inquiry from health and medical organisations." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(22): 4555.
- Erku, D. A., S. Kisely, K. Morphet, K. J. Steadman and C. E. Gartner (2020). "Framing and scientific uncertainty in nicotine vaping product regulation: An examination of competing narratives among health and medical organisations in the UK, Australia and New Zealand." *International Journal of Drug Policy* 78: 102699.
- Erku, D. A., S. Kisely, K. Morphet, K. J. Steadman and C. E. Gartner (2020). "Framing and scientific uncertainty in nicotine vaping product regulation: An examination of competing narratives among health and medical organisations in the UK, Australia and New Zealand." *International Journal of Drug Policy* 78: 102699.
- Erku, D., C. E. Gartner, K. Morphet, C. L. Snoswell and K. J. Steadman (2020). "Nicotine vaping products as a harm reduction tool among smokers: Review of evidence and implications for pharmacy practice." *Research in Social and Administrative Pharmacy* 16(9): 1272-1278.
- Erku, D., C. E. Gartner, K. Morphet, C. L. Snoswell and K. J. Steadman (2020). "Nicotine vaping products as a harm reduction tool among smokers: Review of evidence and implications for pharmacy practice." *Research in Social and Administrative Pharmacy* 16(9): 1272-1278.
- Gottlieb, S. and M. Zeller (2017). "A nicotine-focused framework for public health." *New England Journal of Medicine* 377(12): 1111-1114.
- Gottlieb, S. and M. Zeller (2017). "A nicotine-focused framework for public health." *New England Journal of Medicine* 377(12): 1111-1114.
- Gravely, S., J. F. Thrasher, K. M. Cummings, J. Ouimet, A. McNeill, G. Meng, E. N. Lindblom, R. Loewen, R. J. O'Connor and M. E. Thompson (2019). "Discussions between health professionals and smokers about nicotine vaping products: results from the 2016 ITC Four Country Smoking and Vaping Survey." *Addiction* 114: 71-85.
- Gravely, S., J. F. Thrasher, K. M. Cummings, J. Ouimet, A. McNeill, G. Meng, E. N. Lindblom, R. Loewen, R. J. O'Connor and M. E. Thompson (2019). "Discussions between health professionals and smokers about nicotine vaping products: results from the 2016 ITC Four Country Smoking and Vaping Survey." *Addiction* 114: 71-85.
- Hammarlund, M. (2022). The role of the alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor in inflammation and brain injury.
- Hammarlund, M. (2022). The role of the alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor in inflammation and brain injury.
- Johnson, C. S. (2002). *Tobacco: Production, Chemistry and Technology*, JSTOR.
- Johnson, C. S. (2002). *Tobacco: Production, Chemistry and Technology*, JSTOR.



- Mathis, C., D. J. Smart, W. Xia, B. W. Phillips, M. C. Peitsch, J. Szostak, C. Poussin and K. Luetlich (2021). Residual Risk of Nicotine. Toxicological Evaluation of Electronic Nicotine Delivery Products, Elsevier: 513-587.
- Mathis, C., D. J. Smart, W. Xia, B. W. Phillips, M. C. Peitsch, J. Szostak, C. Poussin and K. Luetlich (2021). Residual Risk of Nicotine. Toxicological Evaluation of Electronic Nicotine Delivery Products, Elsevier: 513-587.
- McGrath-Morrow, S. A., J. Gorzkowski, J. A. Groner, A. M. Rule, K. Wilson, S. E. Tanski, J. M. Collaco and J. D. Klein (2020). "The effects of nicotine on development." *Pediatrics* 145(3).
- McGrath-Morrow, S. A., J. Gorzkowski, J. A. Groner, A. M. Rule, K. Wilson, S. E. Tanski, J. M. Collaco and J. D. Klein (2020). "The effects of nicotine on development." *Pediatrics* 145(3).
- McMurtrey, J. E. (1961). Tobacco production, Agricultural Research Service, US Department of Agriculture.
- McMurtrey, J. E. (1961). Tobacco production, Agricultural Research Service, US Department of Agriculture.
- Miech, R., A. Leventhal, L. Johnston, P. M. O'Malley, M. E. Patrick and J. Barrington-Trimis (2021). "Trends in use and perceptions of nicotine vaping among US youth from 2017 to 2020." *JAMA pediatrics* 175(2): 185-190.
- Miech, R., A. Leventhal, L. Johnston, P. M. O'Malley, M. E. Patrick and J. Barrington-Trimis (2021). "Trends in use and perceptions of nicotine vaping among US youth from 2017 to 2020." *JAMA pediatrics* 175(2): 185-190.
- Miech, R., Leventhal, A., Johnston, L., O'Malley, P. M., Patrick, M. E., & Barrington-Trimis, J. (2021). Trends in use and perceptions of nicotine vaping among US youth from 2017 to 2020. *JAMA pediatrics*, 175(2), 185-190.
- Mishra, A., Chaturvedi, P., Datta, S., Sinukumar, S., Joshi, P., & Garg, A. (2015). Harmful effects of nicotine. *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology*, 36(01), 24-31.
- Mishra, A., P. Chaturvedi, S. Datta, S. Sinukumar, P. Joshi and A. Garg (2015). "Harmful effects of nicotine." *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology* 36(01): 24-31.
- Mishra, A., P. Chaturvedi, S. Datta, S. Sinukumar, P. Joshi and A. Garg (2015). "Harmful effects of nicotine." *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology* 36(01): 24-31.
- Mota, C. d. L., C. Barata-Silva, J. C. Moreira and S. Mitri (2023). "Genetic variability in the neurobiology of nicotine dependence: effects on smoking behavior." *Cadernos Saúde Coletiva* 31: e31010250.
- Nakata, Y., K. Miura, N. Yamasaki, S. Ogata, S. Miura, N. Hosomi and O. Kaminuma (2022). "Expression and function of nicotinic acetylcholine receptors in induced regulatory T cells." *International Journal of Molecular Sciences* 23(3): 1779.
- Nakata, Y., K. Miura, N. Yamasaki, S. Ogata, S. Miura, N. Hosomi and O. Kaminuma (2022). "Expression and function of nicotinic acetylcholine receptors in induced regulatory T cells." *International Journal of Molecular Sciences* 23(3): 1779.
- Nakata, Y., Miura, K., Yamasaki, N., Ogata, S., Miura, S., Hosomi, N., & Kaminuma, O. (2022). Expression and function of nicotinic acetylcholine receptors in induced regulatory T cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1779.
- Organization, W. H. (2006). Manual on tobacco control in schools, WHO Regional Office for South-East Asia.
- Organization, W. H. (2006). Manual on tobacco control in schools, WHO Regional Office for South-East Asia.
- Organization, W. H. (2006). Manual on tobacco control in schools. WHO Regional Office for South-East Asia.
- Prochaska, J. J., E. A. Vogel and N. Benowitz (2022). "Nicotine delivery and cigarette equivalents from vaping a JUULpod." *Tobacco control* 31(e1): e88-e93.
- Prochaska, J. J., E. A. Vogel and N. Benowitz (2022). "Nicotine delivery and cigarette equivalents from vaping a JUULpod." *Tobacco control* 31(e1): e88-e93.
- Prochaska, J. J., Vogel, E. A., & Benowitz, N. (2022). Nicotine delivery and cigarette equivalents from vaping a JUULpod. *Tobacco control*, 31(e1), e88-e93.
- Ritzenthaler, J. D., W. H. Watson and J. Roman (2024). "α4 Nicotinic Acetylcholine Receptors in Lipopolysaccharide-Related Lung Inflammation." *International Journal of Molecular Sciences* 25(20): 11305.



- Ritzenthaler, J. D., W. H. Watson and J. Roman (2024). "α4 Nicotinic Acetylcholine Receptors in Lipopolysaccharide-Related Lung Inflammation." *International Journal of Molecular Sciences* 25(20): 11305.
- Ritzenthaler, J. D., Watson, W. H., & Roman, J. (2024). α4 Nicotinic Acetylcholine Receptors in Lipopolysaccharide-Related Lung Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(20), 11305.
- Sanjeev, A. and S. Kapgate (2021). "Tobacco (Nicotiana tabacum)-A systemic review." *population* 51: 7.
- Sanjeev, A. and S. Kapgate (2021). "Tobacco (Nicotiana tabacum)-A systemic review." *population* 51: 7.
- Sanjeev, A., & Kapgate, S. (2021). Tobacco (Nicotiana tabacum)-A systemic review. *population*, 51, 7.
- Sinha, S. K. and M. N. Haider (2024). "Tobacco and health effects." *TOBACCO & PUBLIC HEALTH: Tobacco and Community Well-being: A Worldwide Health Crisis* 101.
- Sinha, S. K. and M. N. Haider (2024). "Tobacco and health effects." *TOBACCO & PUBLIC HEALTH: Tobacco and Community Well-being: A Worldwide Health Crisis* 101.
- Sinha, S. K., & Haider, M. N. (2024). Tobacco and health effects. *TOBACCO & PUBLIC HEALTH: Tobacco and Community Well-being: A Worldwide Health Crisis*, 101.
- Wadgave, U. and L. Nagesh (2016). "Nicotine replacement therapy: an overview." *International journal of health sciences* 10(3): 425.
- Wadgave, U. and L. Nagesh (2016). "Nicotine replacement therapy: an overview." *International journal of health sciences* 10(3): 425.
- Wadgave, U., & Nagesh, L. (2016). Nicotine replacement therapy: an overview. *International journal of health sciences*, 10(3): 425.



عوامل مؤثر بر رشد و افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی کشت‌شده به روش هیدروپونیک

محبوبه جلالی^{۱*}

^۱گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران. (jalali.mah@lu.ac.ir)

چکیده

گیاهان دارویی منابع درمانی مهمی برای معالجه بیماری‌های مختلف محسوب می‌شوند. افزایش تقاضا برای گیاهان دارویی منجر به برداشت بی‌رویه آن‌ها از زیستگاه‌های طبیعی شده است که می‌تواند در آینده به انقراض آن‌ها بیانجامد. کشت در محیط خاک، با چالش‌هایی مانند کمبود زمین زراعی، تغییرات شدید اقلیمی و حمله عوامل بیماری‌زای خاکری مواجه است. برای غلبه بر این چالش‌ها، کشت هیدروپونیک که به عنوان کشت بدون خاک شناخته می‌شود، روشی پایدار محسوب می‌شود. عملکرد و کیفیت گیاهان دارویی به عوامل محیطی مانند میزان عناصر غذایی، pH، هدایت الکتریکی، دما، نور، نانوذرات، هورمون‌های گیاهی و میکروارگانیسم‌ها وابسته است. این مقاله، تأثیر این عوامل محیطی را بر رشد و محتوای متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی کشت‌شده به روش هیدروپونیک بررسی می‌کند. در این مقاله به این نکته اشاره خواهد شد که عوامل محیطی چگونه به صورت کیفی و کمی بر رشد و متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی در سیستم‌های هیدروپونیک تأثیر می‌گذارند و چگونه می‌توان این عوامل را برای افزایش ترکیبات درمانی به کار گرفت.

واژگان کلیدی: دما، عناصر غذایی، نور، هدایت الکتریکی، pH



۱. مقدمه

امروزه، ۸۰٪ از مردم در کشورهای در حال توسعه برای حفظ سلامت خود به داروهای گیاهی متکی هستند (Asafo-Agyei et al., 2023). گیاهان دارویی حاوی متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند فلاونوئیدها، تانن‌ها، استروئیدها، ساپونین‌ها و آلکالوئیدها هستند که نقش مهمی در خواص درمانی آن‌ها دارند. این متابولیت‌های ثانویه پتانسیل درمانی برای بیماری‌ها و سندرم‌هایی مانند دیابت، سکتة مغزی، سرطان، آلزایمر و پارکینسون دارند. بازار بین‌المللی گیاهان دارویی رشد چشمگیری را تجربه می‌کند، به‌طوری‌که ارزش آن در سال ۲۰۲۲ به ۱۷۰ میلیارد دلار رسید و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۳۳ به ۶۰۰ میلیارد دلار افزایش یابد (Silveira and Boylan, 2023). این امر نشان‌دهنده افزایش تقاضا برای گیاهان دارویی در سال‌های آینده است که منجر به بهره‌برداری بیش از حد از منابع طبیعی گیاهان دارویی می‌شود. بنابراین، برای پاسخگویی به این افزایش تقاضا، باید از یک روش پایدار برای کشت گیاهان دارویی استفاده شود.

کشت سنتی مبتنی بر خاک دارای معایب متعددی است، از جمله خطر آلودگی گیاهان به نماتدها، میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و نیاز به استفاده از آفت‌کش‌ها و مواد شیمیایی. علاوه بر این، این روش با چالش‌هایی مانند تغییرات شدید اقلیمی، کمبود زمین زراعی مناسب برای کشاورزی و بحران آب مواجه است. هیدروپونیک، که به‌عنوان کشت بدون خاک شناخته می‌شود، یک روش پایدار برای رشد گیاهان است که در آن، گیاهان در محیط غذایی مایع (کشت محلول) یا بسترهای رشد مصنوعی (کشت بستر) پرورش داده می‌شوند. کشت هیدروپونیک مزایایی از جمله عدم نیاز به خاک، افزایش عملکرد و امکان رشد گیاهان در شرایط کنترل‌شده را فراهم می‌کند. در مقایسه با گیاهان کشت‌شده در خاک، هیدروپونیک روشی مؤثر برای پرورش گیاهان دارویی با کیفیت بالا و غنی از ترکیبات زیست‌فعال محسوب می‌شود (Gaja et al., 2023).

علاوه بر انواع سیستم‌های هیدروپونیک مورد استفاده در کشت گیاهان دارویی، عوامل محیطی نقش اساسی در رشد گیاهان و تولید متابولیت‌های ثانویه دارند. رشد گیاهان دارویی در شرایط محیطی کنترل‌شده منجر به افزایش زیست‌توده، کیفیت و میزان متابولیت‌های ثانویه آن‌ها می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که عواملی مانند مواد معدنی، نور، دما و میکروارگانیسم‌ها تأثیر قابل توجهی بر رشد گیاهان و تولید متابولیت‌های ثانویه دارند (Suksawat and Panichayupakaranant, 2024). با کنترل دقیق این شرایط، پرورش‌دهندگان می‌توانند گیاهان دارویی را در برابر تغییرات اقلیمی مقاوم کنند و در نهایت عملکرد و کیفیت این گیاهان را بهبود بخشند. این بررسی علمی بر روی تأثیر عوامل محیطی مختلف از جمله مواد مغذی، pH، هدایت الکتریکی (EC)، دما، نور، نانوذرات، فیتوهورمون‌ها و میکروارگانیسم‌ها بر رشد گیاهان و سنتز متابولیت‌های ثانویه تمرکز دارد. علاوه بر این، این مطالعه نقش عوامل خارجی مؤثر در تولید داروهای باکیفیت در سیستم‌های کنترل‌شده را مورد بررسی قرار می‌دهد.

۲. مواد و روش‌ها

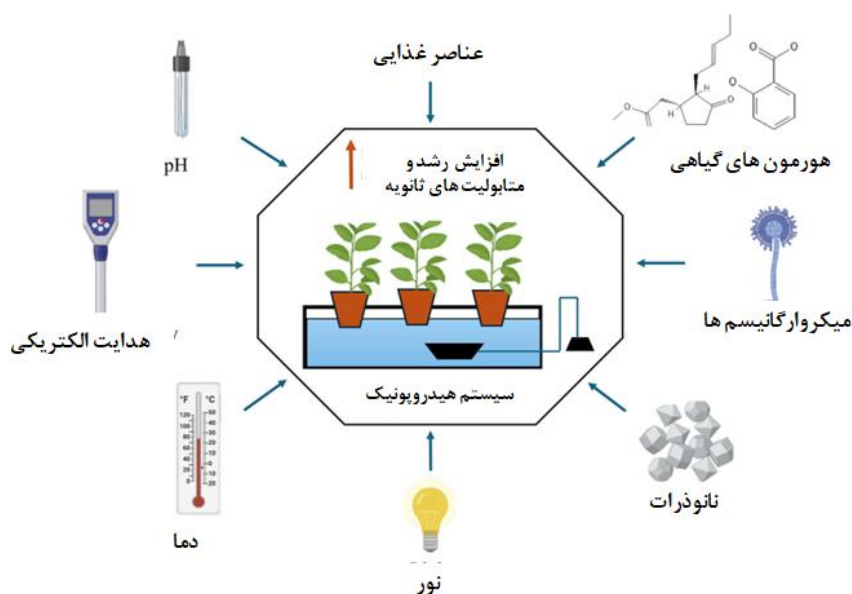
اطلاعات این بررسی از طریق جستجو در پایگاه‌های داده شامل SCOPUS، PUBMED و Google Scholar جمع‌آوری شده است. واژه‌های کلیدی مورد استفاده در جستجو مرتبط با عوامل محیطی مؤثر بر رشد و متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی کشت‌شده به روش هیدروپونیک بودند. این واژه‌ها شامل هیدروپونیک، کشت هیدروپونیک، گیاهان دارویی،

عوامل محیطی، مواد مغذی، نیتروژن، فسفر، کلسیم، pH، هدایت الکتریکی، دما، نور، نانوذرات، الفاکرها، متیل جاسمونات، اسید سالیسیلیک و میکروارگانیسم‌ها بودند. نتایج جستجو بررسی شد تا مطالعات مرتبط شناسایی شوند. تنها مقالات پژوهشی اصلی، مقالات مروری و فصل‌های کتاب که بین سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۲۴ منتشر شده‌اند، در این بررسی گنجانده شدند.

۳. نتایج

۳-۱. عوامل مؤثر بر رشد و متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی کشت‌شده به روش هیدروپونیک

کشت هیدروپونیک امکان کنترل دقیق عوامل محیطی مانند مواد مغذی، pH، هدایت الکتریکی، نور، دما، هورمون‌های گیاهی و میکروارگانیسم‌ها را فراهم می‌کند (شکل ۱). تنظیم این عوامل، رشد گیاه و تولید متابولیت‌های ثانویه را بهبود می‌بخشد (Shawon et al., 2023). به عنوان مثال، مواد مغذی نقش اساسی در محلول‌های غذایی هیدروپونیک دارند. فرمول‌بندی صحیح عناصر ماکرو و میکرو می‌تواند باعث افزایش رشد گیاه و تولید متابولیت‌های ثانویه شود. pH یک عامل کلیدی در دسترسی پذیری مواد مغذی است، و تغییرات آن می‌تواند باعث رسوب نمک‌ها در محلول غذایی شود که بر جذب مواد مغذی توسط گیاه تأثیر می‌گذارد. هدایت الکتریکی (EC) به عنوان شاخصی برای سنجش غلظت کلی یون‌ها در محلول غذایی استفاده می‌شود. نور نیز یکی از عوامل حیاتی در رشد گیاهان دارویی است که می‌تواند بر میزان متابولیت‌های ثانویه تأثیر گذار باشد.



شکل ۱. عوامل مؤثر بر رشد و متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی کشت‌شده به روش هیدروپونیک

طیف نوری نقش مهمی در سنتز متابولیت‌های ثانویه ایفا می‌کند؛ به عنوان مثال، نور قرمز میزان ترکیبات فنولیک را در *Crepidiastrum denticulatum* افزایش می‌دهد (Bae et al., 2017). دما نیز تأثیر زیادی بر رشد گیاهان و تولید متابولیت‌های ثانویه دارد، به طوری که نیازهای دمایی برای گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است. علاوه بر این عوامل،



هورمون‌های گیاهی و میکروارگانیسم‌ها می‌توانند تولید متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئیدها و ترکیبات فنولیک را افزایش دهند. با تنظیم دقیق این عوامل، پرورش دهندگان می‌توانند گیاهان دارویی با کیفیت بالا تولید کنند.

۲-۳. عناصر غذایی

مدیریت مواد مغذی برای مدیریت موفق سیستم‌های هیدروپونیک بسیار مهم است. برای رشد گیاهان، هفده عنصر ضروری مورد نیاز است. کربن، اکسیژن، هیدروژن، نیتروژن، پتاسیم، فسفر، گوگرد، منیزیم و کلسیم در مقادیر نسبتاً زیاد مورد نیاز هستند و به آن‌ها مواد مغذی اصلی (ماکرو) گفته می‌شود. آهن، مس، منگنز، روی، کلرید، مولیبدن، بور و کبالت در مقادیر کم مورد نیاز هستند و به آن‌ها مواد مغذی ریز (میکرو) گفته می‌شود. یک محلول غذایی هیدروپونیک حاوی نسبت متعادلی از مواد مغذی اصلی و ریز است که برای رشد گیاه ضروری است (Meselmani, 2022). نیتروژن، پتاسیم و فسفر به ویژه برای رشد گیاهان بسیار مهم هستند. نیتروژن برای رشد گیاهان ضروری است زیرا جزو اجزای بنیادی اسیدهای نوکلئیک و آمینواسیدها است.

پتاسیم برای سنتز کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها حیاتی است. همچنین نقش مهمی در فتوسنتز و انتقال قند و مواد مغذی آب ایفا می‌کند. پتاسیم تأثیر زیادی بر رشد گیاه، گل‌دهی، کیفیت میوه، مقاومت به آفات و محتوای متابولیت‌های ثانویه دارد. مطالعات نشان داده‌اند که پتاسیم تأثیر قابل توجهی بر تولید روغن‌های ضروری دارد. فسفر نیز، یکی دیگر از مواد مغذی اصلی، برای عملکردهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، واکنش‌های آنزیمی و متابولیسم کربوهیدرات‌ها ضروری است. فسفر یک جزء ساختاری از فسفولیپیدها، اسید دئوکسی ریبونوکلئیک و اسید ریبونوکلئیک است.

علاوه بر نیتروژن، پتاسیم و فسفر، سایر مواد مغذی نیز در رشد، توسعه و عملکردهای فیزیولوژیکی نقش حیاتی دارند، مانند مقاومت به بیماری‌ها، متابولیسم کربوهیدرات‌ها، متابولیسم پروتئین‌ها، سنتز هورمون‌ها، فعالیت آنزیم‌ها، فتوسنتز و حفظ ساختار غشای پلاسمایی (Suryawanshi, 2021). بنابراین، دستکاری ترکیب عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف، نقش کلیدی در رشد گیاه و سنتز متابولیت‌های ثانویه ایفا می‌کند. خلاصه‌ای از اثرات مواد مغذی بر رشد گیاه و محتوای متابولیت‌ها در جدول ۱ آورده شده است. این اطلاعات می‌تواند به پرورش دهندگان کمک کند تا استراتژی‌هایی برای افزایش رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی کشت‌شده به روش هیدروپونیک طراحی کنند.

جدول ۱. تأثیر عناصر غذایی بر رشد و متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی کشت شده به روش هیدروپونیک

گونه گیاهی	عناصر غذایی	تأثیر روی رشد	تأثیر روی متابولیت‌های ثانویه	دفرنس
Chrysanthemum coronarium L	نیتروژن	افزایش گلدهی	افزایش سزکویی ترپن‌ها	Yang et al. (2005)
Lavendula angustifolia Mill	پتاسیم	افزایش ریشه دهی	افزایش میزان فنل و فلاونوئیدها	Chrysargyris et al. (2017)
Salvia officinalis L	نیتروژن	افزایش ارتفاع گیاه و افزایش وزن تر و خشک برگ	افزایش کارتنوئید و پرولین	Khammar et al. (2021)
Prunella vulgaris L	فسفر	افزایش طول ریشه	افزایش اسید اولئانولیک و	Yu et al. (2016)



۳-۳. pH

علاوه بر مواد مغذی موجود در محلول غذایی هیدروپونیک، pH برای رشد بهینه گیاه و تولید متابولیت‌های ثانویه حیاتی است. یک محلول غذایی با pH بین ۵/۵ تا ۶/۵ برای جذب مواد مغذی توسط گیاهان ایده آل است. در این محدوده pH، تمام مواد مغذی از جمله نیتروژن، فسفر، پتاسیم، گوگرد، منیزیم، کلسیم، آهن، بور، منگنز، مس و روی به راحتی برای گیاهان قابل دسترس هستند. افزایش pH بالاتر از ۷/۵ باعث کاهش دسترسی به فسفر، منگنز، آهن، بور، روی و مس می‌شود. همچنین pH پایین‌تر از ۵ باعث کاهش دسترسی به منیزیم، روی، کلسیم و مس می‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که تغییر pH به طور قابل توجهی بر دسترسی پذیری مواد مغذی برای گیاهان تأثیر می‌گذارد. pH تأثیر قابل توجهی بر رشد گیاه و جذب مواد مغذی در گیاهان دارویی دارد. به عنوان مثال، pH ۴ باعث افزایش رشد و تقویت تولید کاروتنوئیدها، فنول‌ها و کلروفیل در *Taraxacum officinale* (L.) می‌شود (Alexopoulos et al., 2021). از سوی دیگر، pH خنثی باعث افزایش بیومس در *Stevia* می‌شود. تغییرات pH ممکن است سنتز متابولیت‌های ثانویه را در برخی از گونه‌های گیاهی تغییر دهد، که نشان‌دهنده نیاز به تنظیم pH برای گیاهان دارویی خاص است. درک و کنترل سطوح pH در سیستم‌های هیدروپونیک برای بهینه‌سازی رشد گیاه، جذب مواد مغذی و سنتز متابولیت‌ها ضروری است.

۳-۴. رسانایی الکتریکی

رسانایی الکتریکی یک محلول غذایی یک عامل حیاتی برای رشد گیاه و جذب مواد مغذی است. رسانایی الکتریکی معیاری برای تعداد کل یون‌ها در محلول غذایی است. رسانایی الکتریکی بهینه برای رشد گیاه در محدوده ۱/۵ تا ۲/۵ دسی زیمنس بر متر قرار دارد. انحراف از این محدوده می‌تواند اثرات منفی داشته باشد: رسانایی الکتریکی بالا باعث استرس نمکی می‌شود، در حالی که رسانایی الکتریکی پایین منجر به کمبود مواد مغذی در گیاهان می‌شود. رسانایی الکتریکی در محدوده بهینه تولید سنتلولوساید را در *Centella asiatica* افزایش داد (Shawon et al., 2023). رسانایی الکتریکی بالای ۸/۵ دسی زیمنس بر متر باعث کاهش محتوای فلاونوئید، فنول و آنتی اکسیدان‌ها، همچنین کاهش جذب مواد معدنی مانند نیتروژن، پتاسیم، فسفر و منیزیم در حالی که جذب کلسیم و پتاسیم را افزایش می‌دهد. اثر ترکیبی رسانایی الکتریکی و الیستور هورمونی متیل جازمونات باعث افزایش سنتز آکاستین و تیلیانین در *Agastache rugosa* می‌شود.

۳-۵. نور

نور فرآیند رشد و توسعه گیاهان را تنظیم کرده و بر رفتار گیاهان از طریق فتومورفوزن تأثیر می‌گذارد. نور تأثیر زیادی بر سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارد. گیاهان طول موج خاصی از نور را که بین ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر قرار دارد جذب می‌کنند. در سیستم‌های کشاورزی کنترل‌شده، لامپ‌های فلورسنت و لامپ‌های تخلیه با شدت بالا به دیودهای ساطع‌کننده نور به عنوان منابع نور مصنوعی تبدیل شده‌اند. نور طیف کامل، آبی، قرمز، دور قرمز، سبز و فرابنفش در کشاورزی محیط کنترل‌شده استفاده



می شوند. مطالعات نشان داده اند که نور قرمز تولید متابولیت های ثانویه با فعالیت دارویی را افزایش می دهد (Karimi et al., 2022). به عنوان مثال، نور قرمز محتوای آمارانتین و واندولین را در *Catharanthus roseus* L. افزایش می دهد. علاوه بر طیف نوری، شدت نور نیز بر رشد و متابولیت ها تأثیر می گذارد. طیف نور و شدت نور نقش های حیاتی در تنظیم رشد گیاه و تولید متابولیت های ثانویه در گیاهان دارویی کشت شده به روش هیدروپونیک دارند. کنترل شرایط نوری یک راه حل امیدوارکننده برای پرورش گیاهان با کیفیت بالا در طول سال، بدون توجه به شرایط اقلیمی است.

۶-۳.۵

فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند تنفس، فتوسنتز و تعرق تحت تأثیر دما قرار دارند. به عنوان مثال، افزایش دما باعث افزایش محصول و نرخ فتوسنتز در برنج می شود، در حالی که در پنبه، افزایش دما موجب کاهش فتوسنتز می شود. تأثیر دمای هوا بر گیاهان دارویی همچنان نیاز به بررسی بیشتر دارد (Hendrickson et al., 2022). علاوه بر دمای هوا، دمای منطقه ریشه نیز برای عوامل فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، جذب مواد مغذی، جذب آب، رشد برگ، رشد ساقه و تجمع متابولیت های ثانویه اهمیت دارد. افزایش دمای منطقه ریشه باعث افزایش تنفس ریشه ها می شود. دمای پایین محلول غذایی باعث استرس اکسیداتیو و کاهش جذب آب توسط گیاه می شود.

۷-۳.۳-هورمون های گیاهی

السیستور یک عامل استرس است که به طور مستقیم یا غیرمستقیم مکانیزم دفاعی گیاهان را با سنتز متابولیت های ثانویه ای که برای مقابله با شرایط استرس زا نیاز است، تحریک می کند. این عوامل به دو دسته السیستورهای زیستی که منشاء زیستی دارند و السیستورهای غیرزیستی که از منشأ غیرزیستی بوده و شامل عوامل فیزیکی، شیمیایی و هورمونی هستند، تقسیم می شوند. در گیاهان دارویی کشت شده هیدروپونیک، متیل جاسمونات یک السیستور هورمونی است که نقش مهمی در مسیر سیگنال دهی ایفا می کند که پاسخ دفاعی در گیاهان را تنظیم کرده و سنتز متابولیت های ثانویه را افزایش می دهد. متیل جاسمونات تولید ساپونین ها و ترکیبات فنولی را در *Silybum marianum* L. افزایش داد، در حالی که اسید سالیسیلیک سنتز فلاونوئیدها را در این گیاه افزایش داد (Mubeen et al., 2022). تمرکز السیستور مورد استفاده نیز بر روی سنتز متابولیت های ثانویه تأثیر می گذارد. Wang et al. تأثیرات غلظت های مختلف متیل جاسمونات را بر رشد هیدروپونیک *Allium tuberosum* Rottl. مطالعه کردند. این نویسندگان گزارش دادند که ۸۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات محتوای فنولی *Allium tuberosum* را افزایش داد (Wang et al., 2022).

۴. بحث و نتیجه گیری

این مطالعه تأثیر عوامل محیطی مانند مواد مغذی، pH، EC، نور، دما، نانوذرات، فیتوهورمون ها و میکروارگانیسم ها را که به طور قابل توجهی بر رشد و ترکیب متابولیت های ثانویه گیاهان دارویی کشت هیدروپونیک تأثیر می گذارند، مورد بررسی



قرار داده است. بهینه سازی این پارامترها می تواند تأثیر زیادی بر رشد، مقدار و کیفیت متابولیت های ثانویه تولید شده داشته باشد. این دانش می تواند برای افزایش تولید تجاری گیاهان دارویی با کیفیت و مقدار بیشتر متابولیت های دارویی مهم به کار گرفته شود. علاوه بر این، این روش یک راه حل پایدار برای جلوگیری از انقراض آینده گیاهان در زیستگاه های طبیعی شان است. کشت هیدروپونیک تحت شرایط محیطی کنترل شده، یک روش پایدار برای برآورده کردن تقاضای روزافزون گیاهان دارویی در بازار جهانی است. به طور کلی بهینه سازی عوامل محیطی می تواند رشد و متابولیت ثانویه را به میزان قابل توجهی افزایش دهد.

منابع

- Alexopoulos, A.A., Marandos, E., Assimakopoulou, A., Vidalis, N., Petropoulos, S.A., Karapanos, I.C. (2021). Effect of nutrient solution pH on the growth, yield, and quality of *Taraxacum officinale* and *Reichardia picroides* in a floating hydroponic system. *Agronomy*, 11:1118.
- Asafo-Agyei, T., Appau, Y., Barimah, K.B., Asase, A. (2023). Medicinal plants used for management of diabetes and hypertension in Ghana. *Heliyon* 9:e22977.
- Bae, J.H., Park, S.Y., Oh, M.M. (2017). Supplemental irradiation with farred light-emitting diodes improves growth and phenolic contents in *Crepidiastrum denticulatum* in a plant factory with artificial lighting. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 58:357–366.
- Chrysargyris, A., Xylia, P., Botsaris, G., Tzortzakis, N. (2017). Antioxidant and antibacterial activities, mineral and essential oil composition of spearmint (*Mentha spicata* L.) affected by the potassium levels. *Industrial Crops and Products*, 103:202–212.
- Gaja, J., Bala, S., Hugara, S. (2023). Cultivation of medicinal plants using hydroponic system. *International Journal of Research and Review*, 10:17–21.
- Hendrickson, T., Dunn, B.L., Goad, C., Hu, B., Singh, H. (2022). Effects of elevated water temperature on growth of basil using nutrient film technique. *HortScience*, 57:925–932.
- Karimi, M., Ahmadi, N., Ebrahimi, M. (2022). Photoreceptor regulation of *Hypericum perforatum* L. (cv. Topas) flowering under different light spectrums in the controlled environment system. *Environmental and Experimental Botany*, 196:104797.
- Khammar, A.A., Moghaddam, M., Asgharzade, A., Sourestani, M.M. (2021). Nutritive composition, growth, biochemical traits, essential oil content and compositions of *Salvia officinalis* L. grown in different nitrogen levels in soilless culture. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 21:3320–3332.
- Meselmani, M.A.A. (2022). Nutrient solution for hydroponics. In: Turan M, Argin S, Yildirim E, Guneş A (eds) Recent research and advances in soilless culture. IntechOpen, London.
- Shawon, M.R.A., Azad, M.O.K., Ryu, B.R., Na, J.K., Choi, K.Y. (2023). The electrical conductivity of nutrient solution influenced the growth, centellosides content and gene expression of *Centella asiatica* in a hydroponic system. *Agriculture*, 13:2236.
- Shawon, M.R.A., Azad, M.O.K., Ryu, B.R., Na, J.K., Choi, K.Y. (2023). The electrical conductivity of nutrient solution influenced the growth, centellosides content and gene expression of *Centella asiatica* in a hydroponic system. *Agriculture* 13:2236.
- Silveira, D., Boylan, F. (2023). Medicinal plants: advances in phytochemistry and ethnobotany. *Plants*, 12:1682.
- Suksawat, T., Panichayupakaranant, P. (2024). Enhanced rhinacanthin production in *Rhinacanthus nasutus* roots using a hydroponics and elicitation system. *Journal of Young Pharmacists*, 16:216–222.
- Suryawanshi, Y.C. (2021). Hydroponic cultivation approaches to enhance the contents of the secondary metabolites in plants. In: Shahnawaz M (ed) Biotechnological approaches to enhance plant secondary metabolites. CRC Press, Boca Raton, pp 71–88.
- Wang, C., Zhang, J., Lv, J., Li, J., Gao, Y., Patience, B.E. (2022). Effect of methyl jasmonate treatment on primary and secondary metabolites and antioxidant capacity of the substrate and hydroponically grown Chinese chives. *Frontiers in Nutrition*, 9:859035.



- Yang, M.S., Tawaha, A.M., Lee, Y.D. (2005). Effects of ammonium concentration on the yield, mineral content and active terpene components of *Chrysanthemum coronarium* L. in a hydroponic system. Research journal of agriculture and biological sciences, 1:170–217.
- Yu, M., Chen, Y., Zhu, Z., Liu, L., Zhang, L., Guo, Q. (2016). Effect of phosphorus supply on plant productivity, photosynthetic efficiency and bioactive-component production in *Prunella. vulgaris* L. under hydroponic conditions. Journal of Plant Nutrition, 39:1672–1680.



بررسی سنجش خواص ضد میکروبی عصاره گزنه به روش های چاهک، قطرهاله عدم رشد، خیساندن در اتانول و احیا رادیکال آزاد (DPPH)

یسنا یکتائی^۱، آرنیکا زین العابدینی^۱، آیسا باقری^۱، سیده فاطمه امامی^{۲*}

^۱پژوهشگر جوان مدرسه دوره دوم سمپاد رشت، گیلان، رشت.

^۲پژوهشگر پسا دکتري، جغرافيا و برنامه ريزی روستایی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران (f_emami22@yahoo.com)

چکیده

گزنه گیاهی یک ساله و علفی با ساقه ای راست به ارتفاع ۵۰ تا ۱۰۰ سانتی متر است. ریشه های خزنده این گیاه پا جوش هایی را در کلیه جهات بیرون می دهند. گزنه دارای کرک های ترشحي گزنده و غیر گزنده به صورت بلورهای درهم است و گل های این گیاه در فاصله ماه های خرداد تا شهریور ظاهر می شوند. این مقاله مروری می باشد و بر خواص درمانی گیاه گزنه اشاره دارد و به بررسی قسمت های مختلف آن شامل گل، برگ، ریشه و ساقه و خواص آن ها می پردازد. گیاه گزنه به عنوان یکی از گیاهان مؤثر در معالجه بیماری های مزمن انسان شناخته می شود و پراکنش خوبی در کشور دارد. روش گردآوری اطلاعات در این مقاله، شامل جمع آوری داده ها از منابع علمی معتبر، مقالات پژوهشی و مطالعات بالینی مربوط به خواص مختلف این گیاه بوده است. بر اساس نتایج به دست آمده، عصاره گیاه گزنه به دلیل دارا بودن فعالیت های بیولوژیکی (شامل ترکیبات فنولی و فلاونوئید) و قدرت احیا کنندگی، دارای خواص ضد میکروبی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی است و در صنایع مختلف مورد استفاده قرار می گیرد. همچنین، در مقایسه با مواد شیمیایی، این عصاره آلودگی های زیست محیطی کمتری را ایجاد می کند. یافته ها نشان داده است که عصاره اتانولی برگ گزنه می تواند به عنوان یک ترکیب زیست فعال برای کنترل واکنش های اکسیداتیو و رشد میکروارگانیسم های پاتوژن در انواع محصولات غذایی به کار رود.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، خواص ضد میکروبی، گزنه، عصاره

۱- مقدمه

گیاه گزنه که با نام علمی اورتیکا دیوئیکا^۱ شناخته می‌شود، یکی از ۶ زیرگونه‌ی خانواده‌ی اورتیکا^۲ است. که در سراسر جهان رشد میکند برگ‌ها و ریشه‌ی گیاه گزنه خواص دارویی متفاوتی در سلامت انسان دارد. ریشه‌ی گزنه را می‌توان به صورت قرص، چای، شربت، عصاره و کپسول در رژیم غذایی قرار داد. عصاره گیاه گزنه به دلیل دارا بودن فعالیت بیولوژیکی (دارای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی^۳ و قدرت احیا کنندگی بوده) مختلف مانند خاصیت ضد میکروبی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی در صنایع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند و در مقایسه با مواد شیمیایی آلودگی‌های زیست محیطی کمتری را ایجاد میکند (نوشاد و همکاران، ۱۴۰۱). بسیاری از خواص گیاهان دارویی می‌تواند مربوط به اسانس تولید شده در آنها باشد که از گروه متابولیت‌های ثانویه در گیاهان است. که ترکیبات ضد میکروبی گیاه گزنه عوارض جانبی کمتر و پتانسیل بالاتری در درمان بیماری‌های عفونی دارند. همچنین عصاره‌های آبی این گیاه بر روی بازدارندگی رشد میکروارگانیسم^۴ ها به جز پseudomonas آنروژینوزا^۵ تاثیر مثبت دارد (مجد و همکاران، ۱۳۸۲). اجزای اصلی تشکیل دهنده‌ی اسانس‌ها غالباً مونوترپن^۶ ها و سزکویی ترپن^۷ هایی است که شامل گروه‌های کربو هیدرات‌ها، فنل‌ها، اترها، آلدئیدها و کتون‌ها می‌باشد (نیک‌نژاد و اصغریان، ۱۳۹۴). لذا با توجه به اثر بخشی و بدون عارضه بودن گیاه گزنه به عنوان معالج دارویی و افزودنی مغذی در رژیم غذایی که قدمت تاریخی هم دارد و حتی می‌توان از عصاره و اسانس برگ گزنه به عنوان یک ماده آنتی باکتریال و جایگزین نگهدارنده‌های صنعتی استفاده کرد. عصاره گزنه (NE) منبع طبیعی مفیدی از پلی فنول‌ها، رنگدانه‌ها و مواد شیمیایی فعال زیستی است گونه‌های مختلفی از گزنه وجود دارد: با این وجود، گزنه بالاترین غلظت پلی فنول‌ها را دارد (ریتا، ۲۰۱۷) پلی فنول‌هایی مانند اسید کلروژنیک، فرولیک و کاسنی و فلاونوئیدهایی مانند لوتئولین یا کوئرستین-۳-گلوکوزید در عصاره گزنه شناسایی می‌شوند (رپاجیج و همکاران^۸، ۲۰۲۰). خواص آنتی اکسیدانی این عصاره به زمان و حلال مورد استفاده و همچنین زمان برداشت، قرار گرفتن در معرض نور خورشید یا خاکی که در آن رشد کرده است بستگی دارد (جوروویچ و همکاران^۹، ۲۰۱۷) با توجه به موارد فوق ذکر شده هدف از پژوهش حاضر "بررسی سنجش خواص ضد میکروبی عصاره گزنه به روش‌های چاهک، قطر هاله عدم رشد، خیساندن در اتانول و احیا رادیکال آزاد (DPPH)" میباشد.

۱-۱. پیشینه تحقیق

۱-۱-۱. مقدمه پیشینه تحقیق

گزنه به دلیل ترکیبات فنلی، خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. مطالعات مختلف اثرات ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی عصاره آن را در دامپزشکی، صنایع غذایی و پزشکی بررسی کرده‌اند. همچنین،

¹ *Urtica dioica*² *Urtica*³ Phenolic & flavonoid⁴ microorganism⁵ *Pseudomonas aeruginosa*⁶ Monoterpene⁷ Sesquiterpene⁸ Repajic & colleagues, 2020⁹ Jurovich et al., 2017



تحقیقات به نقش آن در تعدیل مقاومت باکتریایی، بهبود ایمنی مواد غذایی و بهینه سازی روش های استخراج ترکیبات فعال پرداخته اند. در این بخش به مرور مطالعات داخلی و خارجی در خصوص موضوع پژوهش تحت عنوان بررسی سنجش خواص ضد میکروبی عصاره گزنه به روش های چاهک، قطر هاله عدم رشد، خیساندن در اتانول و احیا رادیکال آزاد (DPPH)، پرداخته می شود.

(رئیزی وانانی و همکاران، ۱۴۰۰)، به بررسی مقاله ای با عنوان "اثر ضد باکتریایی عصاره خام و فرکشن های مختلف اندام هوایی گزنه بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در شرایط آزمایشگاهی" پرداختند. نتایج نشان داد که: عصاره هیدرو الکلی گزنه دارای خاصیت ضد میکروبی قابل قبولی بر روی باکتری مذکور است و احتمالاً قابلیت استفاده هم زمان در داروهای آنتی بیوتیکی را دارد؛ باین حال انجام مطالعات بیشتری در حالت *In vivo* مورد نیاز است. پیشنهاد می شود اثر فرکشن هگزانی بر روی رده های سلولی انسان بررسی گردد تا در صورت عدم گزارش عوارض جانبی این فرکشن، سایر مراحل برای استفاده از ظرفیت آن در داروهای ضد باکتریایی انجام شود.

(شجاعی زاد و همکاران، ۱۳۹۹)، به بررسی مقاله ای با عنوان "بررسی خواص فیلم کیتوزان حاوی عصاره گیاه گزنه" پرداختند نتایج نشان داد که: زخم پوش قابل کنترل باید قادر به جذب ترشحات اضافی از زخم، اثر ضد باکتری، صاف و بدون اثر آسیب رسانی به زخم، قابلیت زیست تخریب پذیر باشد. نتایج این مطالعه نشان می دهد که پانسمان زخم تهیه شده در این پروژه می تواند شرایط یک پانسمان مناسب زخم را داشته باشد.

(اصغریان و نیکو منش، ۱۳۹۶)، به بررسی مقاله ای با عنوان "بررسی اثر آنتی اکسیدانی و سیتوتوکسیک عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه بر روی رده سلولی A549" پرداختند. نتایج نشان داد که: عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه به صورت وابسته به دوز قادر، به از بین بردن سلولهای سرطانی بوده و خواص سیتوتوکسیکی از خود نشان داد. بدین ترتیب این گیاه می تواند به عنوان یک گیاه دارویی بر علیه سرطان ریه مورد پژوهش وسیع تری قرار گیرد.

(دانشخواه و همکاران، ۱۳۹۳)، به بررسی مقاله ای با عنوان "مروری بر اثربخشی عصاره گیاه گزنه بر درمان دیابت نوع ۲" پرداختند. نتایج نشان داد که: عصاره گیاه گزنه قادر است سبب تسهیل ورود گلوکز به درون سلولها میشود و در غیاب انسولین از افزایش قند خون جلوگیری میکند و از این نظر، کارکردی کاملاً شبه انسولینی دارد. با شیوع روز افزون دیابت در جهان، جستجو جهت یافتن درمانهای جدید با اثربخشی بالا و عوارض کمتر مورد توجه قرار گرفته است و استفاده از گیاهان دارویی، بخشی از توجه محققین بوده است. گزنه یکی از داروهای گیاهی است که از دیرباز در بسیاری از کشورهای جهان، از خواص درمانی آن و بویژه خواص ضد دیابتی آن استفاده شده است. بر اساس یافته های مطالعات متعدد، اثر بخشی عصاره گیاه گزنه در خصوص کاهش گلوکز خون در افراد با دیابت نوع ۲ به اثبات رسیده است.

(ریانی و همکاران، ۲۰۲۴)، به بررسی مقاله ای با عنوان "تعیین فعالیت ضد میکروبی و تعدیلی مقاومت باکتریایی توسط عصاره گزنه در باکتری های چندمقاوم جدا شده از ورم پستان گاوی" پرداختند نتایج نشان داد که: حداقل غلظت مهار (MIC) به دست آمده برای عصاره های برگ، ساقه و ریشه برای همه جدایه ها بیشتر از ۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی لیتر بود. در آزمایش مدولاسیون مقاومت ضد میکروبی، عصاره برگهای *C. urens* اثر تعدیل کنندگی بهتری نسبت به ساقه و ریشه برای جنتامایسین



نشان داد که کاهش MIC برای اشیریشیا کلی، لاکتوکوکس گارویه و استافیلوکوکوس سیوری را برجسته کرد. برای اریترومايسين، کاهش MIC در *L. epidermidis* و *Streptococcus agalactiae* مشاهده شد. عصاره برگ های C. aurens اثر تعدیل کننده گی مهمی بر مقاومت در باکتری های چندمقاوم، به ویژه با جنتامایسین و اریترومايسين دارد.

(باریش و فیلیز، ۲۰۲۴)، به بررسی مقاله ای با عنوان "تأثیر عصاره گزنه بر میکروارگانیسم های بیماری زا در تولید

ماستگ پرداختند. نتایج نشان داد که: نمونه های ماست، ۲۴ نمونه مختلف آلوده به ۷ سویه پاتوژن استاندارد، از نظر خواص شیمیایی (pH و اسیدیته) و فعالیت ضد میکروبی پس از ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد مورد بررسی قرار گرفتند. به ویژه مشخص شد که کاهش pH و افزایش اسیدیته در نمونه های عصاره گزنه پس از ۲۱ روز به طور معنی داری بیشتر از نمونه های ماست طبیعی و ماست حاوی عصاره گزنه (به ترتیب ۰/۵ و ۱ درصد) بود ($p < 0/05$) پاتوژن ها در نمونه های تیمار شده با عصاره گزنه که دارای فعالیت ضد باکتریایی علیه پاتوژن ها هستند، به طور قابل توجهی کاهش یافت. به ویژه، در مقایسه با ماست طبیعی، این نمونه ها اثرات ضد باکتریایی قابل توجهی بر روی سویه های استاندارد استرپتوکوک پنومونیه ATCC 45615، کلبسیلا پنومونیه ATCC 70063 و سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 نشان دادند ($p < 0/01$) علاوه بر این، در نمونه های حاوی عصاره گزنه، غلظت ۱ درصد اثرات هم افزایی بر روی استرپتوکوک پنومونیه ATCC 45615 داشت، در حالی که غلظت ۰.۵ درصد دارای اثرات هم افزایی بر روی کلبسیلا پنومونیه ATCC 70063 و سودوموناس آئروژینوزا بود. توانست به عنوان یک نگهدارنده طبیعی برای بهبود ایمنی ماست و سایر محصولات لبنی استفاده شود.

(هریسون و همکاران، ۲۰۲۲)، به بررسی مقاله ای با عنوان "ارزیابی شواهد برای فعالیت ضد باکتریایی عصاره

گزنه (گزنه) پرداختند، نتایج نشان داد که: شواهد قوی برای مولکول های حاوی گزنه با فعالیت ضد میکروبی مفید بالینی وجود ندارد. به نظر می رسد به احتمال زیاد استفاده از گزنه در آماده سازی موضعی سنتی برای زخم ها ممکن است به سادگی به عنوان یک محیط جاذب "ایمن" برای نگهداری مواد ضد باکتری (سرکه) یا نرم کننده (روغن ها) در محل درمان باشد.

(وازکز و همکاران، ۲۰۲۲)، به بررسی مقاله ای با عنوان "عصاره های آنتی اکسیدانی برگ گزنه (گزنه): ارزیابی

تکنیک های استخراج و حلال ها" پرداختند. نتایج نشان داد که: عصاره آبی برگ گزنه از طریق روش اولتراسوند منبع مهمی از آنتی اکسیدان های طبیعی است و می تواند جایگزین بالقوه ای برای آنتی اکسیدان های مصنوعی در نظر گرفته شود.

(گاروفولیچ و همکاران، ۲۰۲۱)، به بررسی مقاله ای با عنوان "مشخصات فنلی، ظرفیت آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد

میکروبی عصاره برگ گزنه به دست آمده با تکنیک های پیشرفته استخراج" پرداختند. نتایج نشان داد که: MAE تکنیک خاص تری برای جداسازی ترکیبات فنلی فردی است، در حالی که PLE عصاره هایی با مقدار فنل کل بیشتر و ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتر تولید می کند. هر دو تکنیک در مقایسه با CE موثرتر بودند. عصاره گزنه PLE فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری ها، به ویژه در برابر سویه های گرم منفی *Pseudomonas fragi* ATCC 4973 و *Campylobacter jejuni* NCTC 11168 نشان داد. نتیجه این که PLE برای به دست آوردن عصاره گزنه با پتانسیل آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی مناسب است که به این ترتیب دارای پتانسیل زیادی برای استفاده به عنوان یک عنصر ارزش افزوده در صنایع غذایی و دارویی است.



بررسی مطالعات اخیر نشان می‌دهد که عصاره گزنه دارای خواص ضد میکروبی قابل توجهی است و می‌تواند به عنوان یک عامل بالقوه برای کاهش مقاومت باکتریایی و بهبود ایمنی محصولات غذایی به کار رود. نتایج تحقیقات نشان داده‌اند که عصاره برگ گزنه توانایی تعدیل مقاومت آنتی‌بیوتیکی برخی از باکتری‌های بیماری‌زا را دارد و همچنین به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در صنایع غذایی قابل استفاده است. با این حال، برخی مطالعات عدم شواهد قوی در تأیید فعالیت ضد باکتریایی گزنه در کاربردهای بالینی را گزارش کرده‌اند. علاوه بر این، روش‌های پیشرفته استخراج مانند PLE و MAE برای به دست آوردن عصاره‌هایی با پتانسیل بالای آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی مؤثرتر شناخته شده‌اند. در مجموع، این پژوهش‌ها نشان می‌دهند که گزنه می‌تواند به عنوان یک ترکیب طبیعی ارزشمند در صنایع مختلف مورد استفاده قرار گیرد، اما نیاز به تحقیقات بیشتری برای تأیید اثرات آن در کاربردهای بالینی و تجاری وجود دارد. همچنین، بررسی دوز مناسب مصرف و شناخت دقیق‌تر تداخلات دارویی می‌تواند به بهینه‌سازی استفاده از این ترکیب گیاهی کمک کند.

۲- مواد و روش‌ها

بر اساس مطالعات انجام شده نحوه بررسی خواص ضد میکروبی عصاره گزنه به چهار روش انجام گردیده که بشرح ذیل

میباشد:

۲-۱. روش خیساندن در اتانول

عصاره اتانولی (گیاه گزنه) به روش خیساندن در اتانول استخراج گردید و سپس محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضد میکروبی آن در برابر باکتری‌های سالمونلا تیفی، اشرشیا کلی، باسیلوس سرئوس^۱ و لیستریا اینوکوا اندازه‌گیری گردید (نوشاد و همکاران، ۱۴۰۱).

۲-۲. روش قطر هاله عدم رشد

در این روش گیاه گزنه جمع‌آوری و خشک شد و بصورت پودر در آورده شد و با روش تندالیزاسیون استریل گردیده و چاهک‌هایی با قطر ۶۸ میلی‌متر به وسیله انتهای پیت پاستور ایجاد و با افزودن آگار مذاب مسدود شد بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد در اطراف هر چاله با کولیس یا خط کش به دقت اندازه‌گیری و مقایسه شد (مجد و همکاران، ۱۳۸۲).

۲-۳. روش احیا رادیکال آزاد (DPPH)

در این روش برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه گزنه، برگ‌های گیاه گزنه از جمع‌آوری و بوسیله دستگاه کلونچر اسانس‌گیری شد. ترکیبات شیمیایی اسانس توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی-جرمی، شناسایی شد همچنین میزان mic و mbc علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس^۲ حساس و مقاوم به متی‌سیلین، سالمونلا تیفی موریس، اشرشیا کلای، سودوموناس آئروژینوز، باسیلوس سوبتیلیس و شیگا دیسانتری تعیین شد (نیک نژاد و اصغریان، ۱۳۹۴).

¹ Bacillus cereus

² Staphylococcus aureus



بطور کلی، عصاره اتانولی برگ گزنه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و همچنین قابلیت ضد میکروبی بر روی باکتری های گرم مثبت (باسیلوس سرئوس و لیستریا اینوکوا) و گرم منفی (سالمونلا تیفی و اشرشیا کلی) بود. در سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی IC₅₀ برابر ۲۱/۵۳ میکروگرم بر میلی لیتر را نشان می دهد در حالی که برای اسکور بیك اسید ۶/۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر بود همچنین، درصد به دام اندازی رادیکال های آزاد اسانس گزنه، ارتباط معناداری را در غلظت های مختلف از خود نشان داد. اسانس گیاه گزنه بر استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت مهارکنندگی ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر و غلظت کشندگی ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر از خود نشان داد، در حالی که اثرات باکتری ساید با باکتریواستاتیک در MRSA در غلظت های بالاتری بود همچنین باکتری اشرشیا کلای به غلظت بیشتری از اسانس برای مهار و کشته شدن نسبت به سالمونلا نیاز داشت (نیک نژاد و اصغریان، ۱۳۹۴). عصاره اندام های مختلف گیاه شامل عصاره ریشه، ساقه، گل و بذر بر باکتری های مورد آزمایش اثر ضد باکتری نشان داد عصاره های آبی و الکلی گیاه بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی اثر ضد میکروبی قوی تری داشتند اثر ضد باکتریایی عصاره الکلی قوی تر از عصاره آبی بود. در مجموع اندام های مختلف گیاه گزنه دو پایه به ترتیب شامل بذر و برگ ریشه و ساقه اثرات ضد میکروبی بیشتری داشتند در طب سنتی نیز خواص درمان گیاه بیشتر به بذر برگ ریشه و سپس گل نسبت داده شد (مجد و همکاران، ۱۳۸۲).

۳- نتایج

بنابراین، میتوان عصاره اتانولی برگ گزنه را بعنوان یک ترکیب زیست فعال جهت کنترل واکنش های اکسیداتیو و رشد میکروارگانیسم های پاتوژن در انواع محصولات غذایی بکار برد. با این حال، مطالعات بیشتری در زمینه تعیین غلظت مؤثر عصاره و اثرات جانبی آن بایستی انجام گردد (نوشاد و همکاران، ۱۴۰۱).

جدول ۱. میانگین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) اسانس برگ گیاه گزنه.

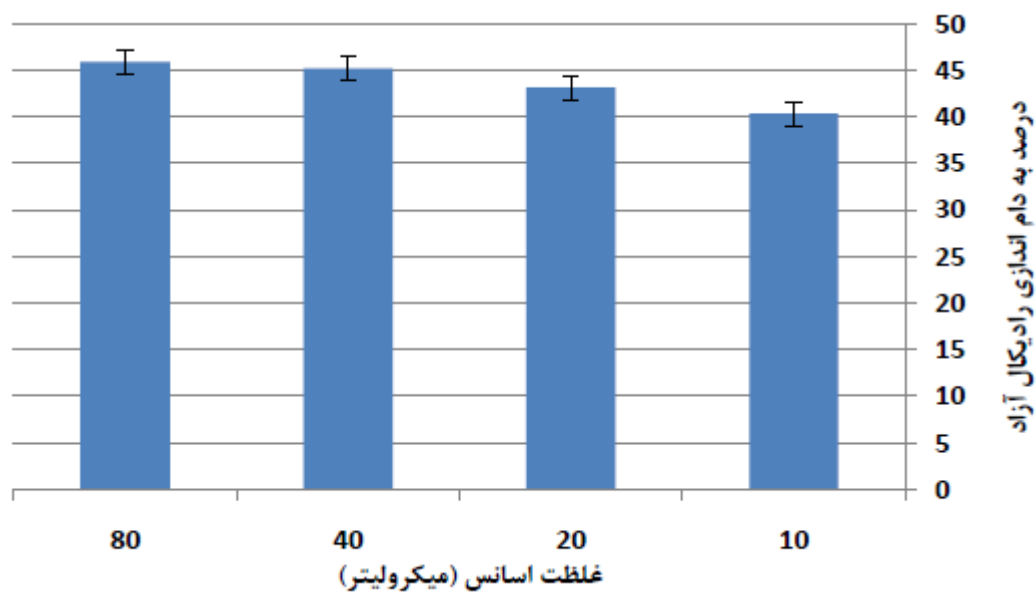
MBC (µg/mL)	MIC (µg/mL)	میکروارگانیسم
۱۲/۵	۶/۲۵	استافیلوکوک اورئوس
۵۰	۱۲/۵	استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین
۲۵	۶/۲۵	سالمونلا تیفی موری
۵۰	۱۲/۵	اشرشیا کلای
۵۰	۱۲/۵	سودوموناس آئروزیوزا
-	۲۵	باسیلوس سوبتیلیس
۱۰۰	۲۵	شیگلا دیسانتره

جدول ۲. میزان IC₅₀ و شاخص آنتی اکسیدانی اسانس برگ گیاه گزنه.

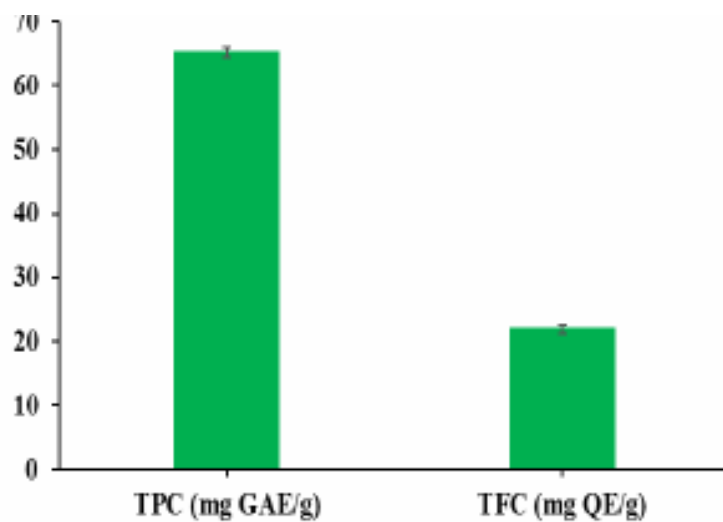
DPPH		نمونه
AAI (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)	
۲/۱۱۶±۰/۰۲	۲۱/۵۳±۰/۱۱۷*	اسانس گیاه گزنه
۵/۶۹±۰/۰۹	۶/۱۶±۰/۰۷	اسکور بیك اسید

* میانگین سه بار تکرار آزمایشات ±SD.

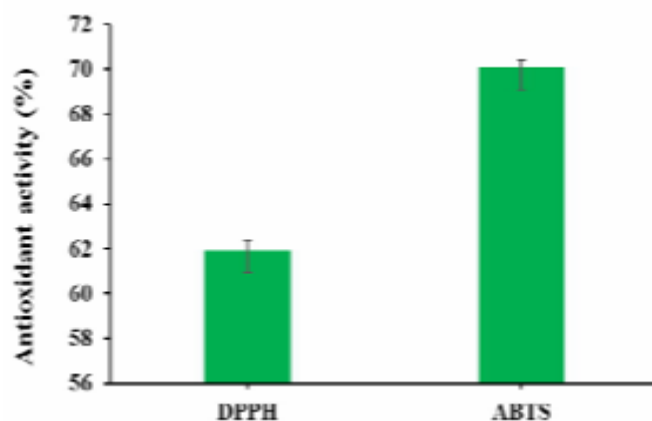
شکل ۱. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مقادیر مختلف اسانس برگ گیاه گزنه در آزمایش تخریب رادیکال های DPPH



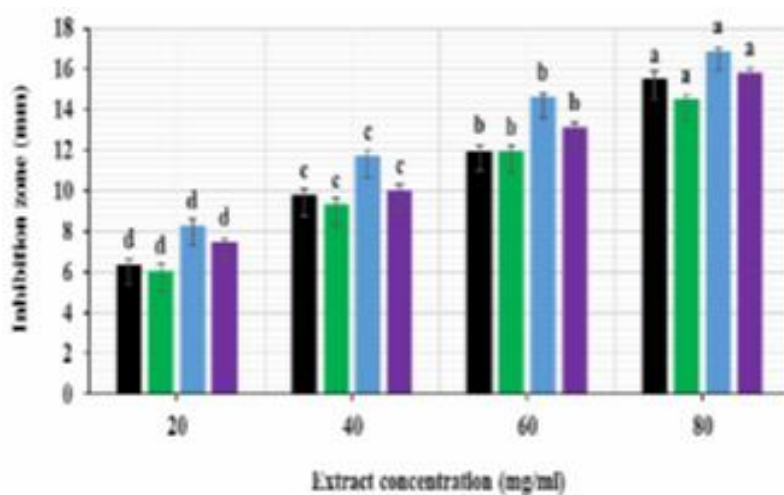
شکل ۲: محتوای فنلی کل (TPC) و محتوای فلاونوئید کل (TFC) عصاره برگ گزنه



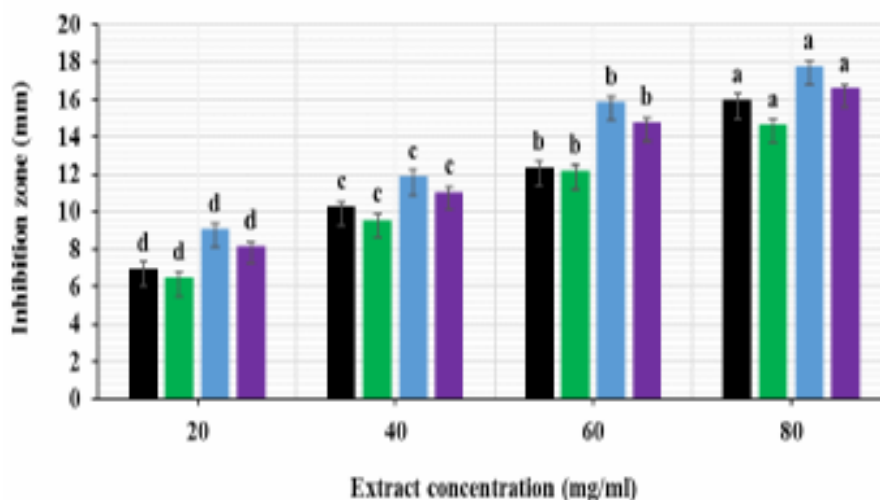
شکل ۳: فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ گزنه



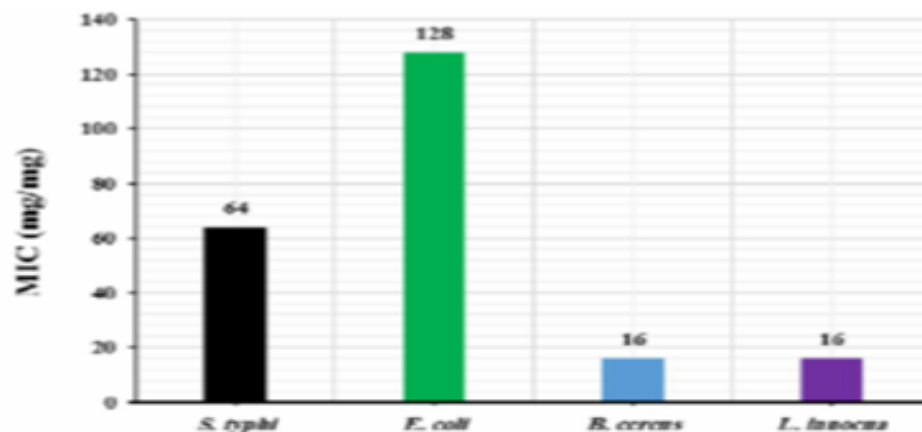
شکل ۴: میانگین قطر ناحیه مهار (میلی متر) عصاره برگ گزنه بر روی پاتوژن میکروارگانیسمی (دیسک دیفیوژن آگار)



شکل ۵: میانگین قطر ناحیه مهار (میلی متر) عصاره برگ گزنه بر روی برخی از میکروارگانیسم های پاتوژن (چاه دیفیوژن آگار)

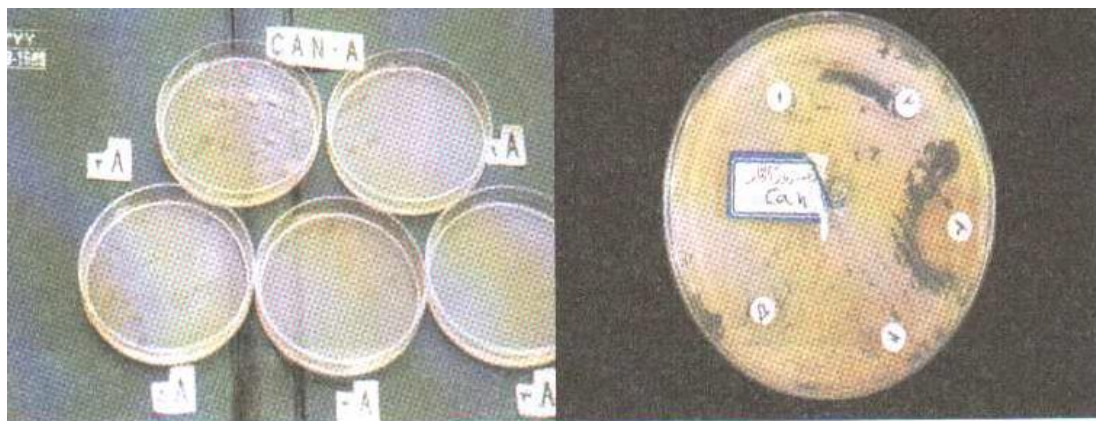


شکل ۶: حداقل غلظت بازدارنده (MIC) عصاره برگ گزنه بر روی برخی از میکروارگانیسم های پاتوژن



Microorganism	MBC (mg/mL)
<i>Salmonella typhi</i>	512
<i>Escherichia coli</i>	> 512
<i>Bacillus cereus</i>	256
<i>Listeria innocua</i>	256

شکل ۷: حداقل غلظت باکتری کش (MBC) عصاره برگ گزنه روی برخی از میکروارگانیسم های بیماری زا



الف) روش چاهک

ب) روش Plour Plate

شکل ۸: تاثیر ضد قارچی عصاره های اتانلی ۸۰٪ گیاه گزنه دو پایه بر قارچ کاندیدا آلبیکانس ۱: برگ، ۲: ریشه، ۳: گل، ۴: بذر، ۵: ساقه

۴- بحث و نتیجه گیری

نتیجه شناسایی ترکیبات اسانس برگ گیاه گزنه با تحقیقات انجام شده توسط (حق جو و همکاران، ۱۳۹۲)، (محمدی و همکاران، ۲۰۱۴) و (لیو و همکاران^۱، ۲۰۱۰) همسو بوده است بنابراین عصاره این گیاه بعنوان راهکار مناسب در افزایش پایداری

¹Liu et al, 2010



در صنایع غذایی مورد استفاده قرار میگیرد. همچنین گزارشات متعددی در مورد فعالیت ضد میکروبی ترکیبات گیاهی منتشر شده است. ترکیباتی نظیر پلی فنل ها، آلکالوئیدها، ترپن ها و کومارین ها نقش مهمی در تأثیر عصاره گیاهان بر رشد میکروارگانیسم ها دارند عصاره برگ گزنه، در غلظت های پایین تری نسبت به باکتری های دیگر، باعث مهار و نابودی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می شود که با نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده به وسیله رامتین و همکاران و امینی و همکارانش که روی عصاره گیاه گزنه صورت گرفته است، هم خوانی دارد.

۱-۴. ترکیبات فعال در عصاره گزنه

عصاره گزنه حاوی ترکیبات متعددی از جمله فلاونوئیدها، اسیدهای فنولی و ویتامین ها است که به خوبی شناخته شده اند. این ترکیبات نه تنها تأثیرات مثبت بر روی سلامت انسان دارند، بلکه دارای خواص ضد میکروبی قابل توجهی نیز هستند. فلاونوئیدها، به ویژه، به عنوان ترکیبات آنتی اکسیدان عمل کرده و می توانند از آسیب های اکسیداتیو جلوگیری کنند. علاوه بر این، این ترکیبات می توانند بر روی میکروارگانیسم ها تأثیر بگذارند و از رشد آن ها جلوگیری کنند. به طور خاص، پژوهش ها نشان داده اند که عصاره گزنه علیه طیف وسیعی از باکتری ها و قارچ ها فعالیت دارد. باکتری هایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیا کلی، و همچنین قارچ هایی چون کاندیدا آلبیکانس، نمونه هایی از میکروارگانیسم هایی هستند که نسبت به عصاره گزنه حساسیت نشان داده اند. این فعالیت ضد میکروبی به دلیل وجود ترکیبات فعال در عصاره، به ویژه در غلظت های مناسب قابل مشاهده است.

۲-۴. بررسی روش های سنجش خواص ضد میکروبی

برای سنجش خواص ضد میکروبی عصاره گزنه، چندین روش آزمایشگاهی وجود دارد که به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرند. از جمله این روش ها می توان به روش چاهک (Agar Well Diffusion)، روش قطره های عدم رشد و ارزیابی احیای رادیکال آزاد DPPH اشاره کرد.

۳-۴. روش چاهک

این روش یکی از قدیمی ترین و متداول ترین روش ها در زمینه بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره ها است. در این روش، عصاره ها در چاهک های حفر شده در محیط کشت قرار می گیرند و باکتری ها در اطراف چاهک ها کشت می شوند. پس از انکوباسیون، منطقه ای که در آن میکروارگانیسم ها قادر به رشد نیستند، به عنوان هاله عدم رشد شناسایی می شود. این روش به دلیل سادگی و قابلیت تکرار بالا، به طور گسترده ای در مطالعات مختلف به کار می رود.

۴-۴. روش قطره های عدم رشد



در این روش، دوغابی از باکتری‌ها بر روی محیط کشت پخش می‌شود و عصاره در نقاط مشخصی ریخته می‌شود. این روش به پژوهشگران این امکان را می‌دهد که تأثیر عصاره را در غلظت‌های مختلف بررسی کنند و هاله‌های عدم رشد در نقاط ریخته شده را مشاهده کنند. این تکنیک می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را برای ارزیابی خواص ضد میکروبی در اختیار قرار دهد.

۵-۴. روش ارزیابی احیای رادیکال آزاد (DPPH)

روش DPPH به عنوان یک متد استاندارد برای سنجش خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها شناخته می‌شود. DPPH یک رادیکال آزاد است که در صورت برقراری واکنش با ترکیبات آنتی‌اکسیدان، رنگ خود را از بنفش به زرد تغییر می‌دهد. این تغییر رنگ به عنوان معیاری برای سنجش توانایی عصاره در احیای رادیکال‌های آزاد استفاده می‌شود. این روش نه تنها فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره را نشان می‌دهد بلکه می‌تواند به عنوان یک اندیکاتور غیرمستقیم برای فعالیت‌های ضد میکروبی آن نیز مورد استفاده قرار گیرد.

تحقیقات انجام شده بر روی خواص ضد میکروبی عصاره گزنه نشان می‌دهد که این عصاره قادر است دامنه وسیعی از میکروارگانیسم‌ها را مهار کند. به عنوان مثال، در بسیاری از مطالعات، عصاره گزنه موفق به نشان دادن فعالیت‌های ضد باکتریایی قوی مقابل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی گردیده است. این امر می‌تواند ناشی از ترکیبات آنتی‌میکروبیال موجود در عصاره باشد که به خصوص در غلظت‌های بالا فعالیت بیشتری دارند.

علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهند که عصاره گزنه به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل می‌کند. توانایی عصاره در کاهش رادیکال‌های آزاد می‌تواند به واسطه ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن باشد. این ویژگی علاوه بر مزیت‌های بهداشتی، می‌تواند به عملکرد بهتر بدن در برابر عفونت‌ها کمک کند. این امر به ویژه در شرایطی که سیستم ایمنی بدن ضعیف تر است، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعات مختلف، عصاره گزنه به عنوان یک منبع طبیعی با خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی امیدوارکننده می‌تواند نقش مهمی در توسعه درمان‌های طبیعی ایفا کند. بررسی‌های بیشتری برای شناسایی ترکیبات فعال و ارزیابی اثرات آن‌ها در سیستم‌های زنده ضروری است. همچنین، توجه به شرایط کشت و روش‌های استخراج می‌تواند به حداکثر رساندن اثرات مفید عصاره گزنه کمک کند. در نهایت، با توجه به محبوبیت و قابلیت‌های بالای عصاره‌های گیاهی در درمان عفونت‌ها و بهبود سلامت، تحقیقات آینده باید در جهت ارائه روش‌های نوین برای استخراج و استفاده از این عصاره‌ها در صنایع دارویی و غذایی انجام شود. این امر می‌تواند به توسعه داروهای طبیعی و کم عارضه منجر شود که به ویژه در مواجهه با مقاومت میکروبی و تهدیدهای بهداشتی جهانی، اهمیت فراوانی دارد. در طی سالیان متمادی داروهای طبیعی به خصوص گیاهان دارویی اساس و حتی در برخی موارد تنها وسیله درمان محسوب می‌شوند. از آن جا که استفاده از داروهای گیاهی دیدگاهی است که امروزه در درمان و حفظ سلامتی تأکید بسیار بر آن است و از طرفی بسیاری از گیاهانی که در طب سنتی استفاده می‌شود، بومی هستند، بررسی‌هایی در میزان اثر بخشی گیاهان دارویی روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در نقاط مختلف جهان صورت گرفته است. در طب سنتی، استفاده از گیاهان دارویی برای بهبود و درمان ضایعات پوستی می‌باشد.



یکی از دلایل مهم تمایل جوامع پزشکی به استفاده از ترکیبات گیاهی عوارض جانبی پایین آن ها نسبت به داروهای شیمیایی بوده که طی سال ها مصرف در طب سنتی به اثبات رسیده است. همان طور که سازمان بهداشت جهانی در مورد استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک های رایج هشدار داده و نگرانی های جدی در رابطه با افزایش مقاومت در میکروارگانیسم های بیماری زا به وجود آمده است، تحقیقات در زمینه کشف مواد ضد میکروبی مؤثر بر روی این میکروارگانیسم های مقاوم به طور جدی آغاز شده است. در یک نتیجه گیری کلی می توان چنین بیان نمود که عصاره های گیاه گزنه دارای خاصیت و قابلیت ضد باکتریایی بر روی بیشتر باکتری های گرم مثبت و برخی باکتری های گرم منفی می باشند، با این حال اثر عصاره ها بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا در این مطالعه دیده نشد.

تحقیقات انجام شده بر روی خواص درمانی عصاره گیاه گزنه (*Urtica dioica*) به صورت گسترده ای پتانسیل های این گیاه را در حوزه های مختلف پزشکی و بهداشتی نمایش داده است. گزنه، با ویژگی های منحصر به فرد خود، به عنوان یک منبع طبیعی و با خواص ضد میکروبی، ضد دیابتی و بهبود زخم ها مطرح می شود.

۶-۴. خواص ضد میکروبی

مطالعات متعددی، نظیر پژوهش های (ریانی و همکاران، ۲۰۲۴)، به تأثیرات مثبت عصاره گزنه بر مهار باکتری های چندمقاوم اشاره کرده اند. نتایج نشان می دهد که عصاره برگ های گزنه دارای فعالیت تعدیل کنندگی قابل توجهی بر روی باکتری هایی چون اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس سیوری است. این قابلیت به ویژه در شرایطی که مقاومت ضد میکروبی به یک چالش جهانی تبدیل شده، اهمیت بالایی دارد.

۷-۴. مدیریت دیابت

از دیگر زمینه های پژوهش، تأثیر عصاره گزنه در کنترل قند خون و مدیریت دیابت نوع ۲ است که با یافته های (دانشخواه و همکاران، ۱۳۹۳) و دیگر محققان تأیید شده است. این گیاه می تواند با تسهیل ورود گلوکز به سلول ها، به عنوان یک گزینه درمانی طبیعی به بیماران دیابتی کمک کند. با توجه به شیوع روزافزون این بیماری، استفاده از عصاره گزنه به عنوان درمان مکمل می تواند رویکرد جدیدی در کنترل قند خون معرفی نماید.

۸-۴. درمان زخم ها

علاوه بر این، گزارشی از (شجاعی زاد و همکاران، ۱۳۹۹) تأکید بر اثرات مثبت عصاره گزنه در بهبود زخم ها دارد. خواص ضد التهابی و تسکین دهنده این گیاه می تواند به بهبود کیفیت درمان زخم ها و تسریع روند بهبودی کمک کند.

۹-۴. تناقضات و چالش ها



با این حال، برخی از تحقیقات، مانند مطالعه (هریسون و همکاران، ۲۰۲۲)، نسبت به شواهد قوی تر برای اثربخشی عصاره گزنه تردید دارند و تأکید می کنند که ممکن است اثرات مثبت این گیاه ناشی از ترکیبات دیگر موجود در استفاده های موضعی باشد. این نکته اهمیت انجام مطالعات کنترل شده و شفاف سازی اطلاعات را مشهود می سازد.

۱۰-۴. اهمیت مطالعات آینده

در مجموع، گرچه شواهد علمی موجود از خواص درمانی عصاره گزنه پشتیبانی می کند، اما نیاز به تحقیقات عمیق تر و منسجم تری برای تأیید قطعی این خواص و همچنین بررسی مکانیزم های اثر آن وجود دارد. شناخت دقیق تر اثرات جانبی، تداخلات دارویی و دوز مناسب مصرف عصاره گزنه می تواند به توسعه پروتکل های درمانی مؤثرتری منجر شود. در نهایت، عصاره گزنه به عنوان یک منبع غنی از ویژگی های درمانی، می تواند نه تنها در زمینه های پزشکی و داروسازی، بلکه در صنایع غذایی و تولید محصولات بهداشتی نیز مفید باشد. اقدامات مناسب برای سرمایه گذاری بر روی این گیاه می تواند به ایجاد راهکارهای جدید و مؤثر در درمان بیماری ها و ارتقاء بهداشت عمومی بینجامد.

۱۱-۴. پیشنهاد برای مطالعات آتی

پیشنهاد می شود مطالعات بیشتر و دامنه داری در شرایط *in vivo* محیطی انجام شود تا غلظت مؤثر این عصاره ها بر باکتری های موردنظر و سویه های بالینی، اثرات جانبی آنها در این غلظت های به کار رفته و فرمولاسیون دقیق آن، مورد ارزیابی قرار گیرد تا در نهایت بتوان پس از مراحل تکمیلی این عصاره ها را به عنوان یک داروی جدید ضد میکروبی به دنیا معرفی نمود.

منابع

- اصغریان، م، نیکومنش، س. (۱۳۹۶)، بررسی اثر آنتی اکسیدانی و سیتوتوکسیک عصاره اتانولی برگ گیاه گزنه بر روی رده سلولی A549 ، تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی، ۷(۲۶): ۲۷-۳۴.
- امینی، ک.، همت پور، ب.، مرادی، ص.، نظری، ز.، مهور، ت. (۱۳۹۳)، فعالیت ضد باکتریایی عصاره های اتانولی و آبی و بررسی ترکیب شیمیایی قسمت های مختلف گزنه انتشارات علمی جاده، ۰۲(۰۲): ۵۷-۶۵.
- حق جو، س، قنبرزاده، ب، آینه وند، س، الماسی، ه، (۱۳۹۲)، مقاله مروری بر خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی گیاه گزنه. کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ۰۵(۲۱): ۳۴-۳۹.
- رامتین، م.، مسیحا، ع.، خوش خلق، محمدرضا، عیسی زاده، خ.، اسمر، م.، ضرابی، س. (۱۳۹۳)، فعالیت ضد میکروبی در شرایط آزمایشگاهی زنبق سوداکروس و گزنه. زاهدان جی راس ۰۲(۰۳): ۶۶-۷۷.
- رئیی و انانی، و. عباسی بافطرت، ع. دلگرم، ع. جمشیدی کیا، ف. لری گوئینی، ز. قلی پور، ا. (۱۴۰۰)، اثر ضد باکتریایی عصاره خام و فرکشن های مختلف اندام هوایی گزنه بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در شرایط آزمایشگاهی، هفتمین کنگره دانشجویی پژوهشی منطقه جنوب غرب کشور، خرم آباد، <https://civilica.com/doc/1421347>



مجد، ا، مهراییان، ص، جعفری، ز. (۱۳۸۲)، بررسی خواص ضد میکروبی عصاره بخشهای گیاه گزنه دوپایه، مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۰۳(۱۹): ۲۸۷-۳۱۱.

محمدی، م، قنبرزاده، ب، همیشه کار، ح، رضایی مکرم، ر، محمدی فر، م.ا. (۱۳۹۳)، بررسی خواص فیزیکی نانولیپوزوم های حاوی ویتامین D3 تهیه شده به روش هیدراتاسیون- صوت لایه نازک. ایرانی نشریه علمی فنآوری مواد غذایی، ۰۸(۰۴): ۱۷۵-۱۸۸.

نسرین دانشخواه، ن، قادری، ح، بیگ محمدی، م. (۱۳۹۳)، مروری بر اثربخشی عصاره گیاه گزنه بر درمان دیابت نوع ۲، همایش پژوهشی سالیانه دانشگاه علوم پزشکی سمنان.

نوشاد، م، علیزاده بهبهانی، ب، رحمتی جنیدآباد، م، (۱۴۰۱)، ارزیابی فعالیت ضد میکروبی، قدرت آنتیاکسیدانی، فنولی و فلاونوئید کل عصاره گزنه: یک مطالعه آزمایشگاهی، مجله علوم و صنایع غذایی ایران، 125 (19): ۱۴۷-۱۵۷.

نیک نژاد، ح، ر، اصغریان، ع، م. (۱۳۹۴)، تعیین فعالیت های باکتریایی و آنتی اکسیدانی و تعیین ترکیبات شیمیایی اسانس برگ گیاه گزنه، مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ۰۴(۱۰۶): ۲۳۹-۲۳۴.

A. Rita, G. Costa, A. Figueirinha, J. Liberal, J.A.V. Prior, M. Celeste, M. Teresa, M. Urtica spp.: phenolic composition, safety, antioxidant and anti-inflammatory activities Food Res. Int., 99 (2017), pp. 485-494. 10.1016/j.foodres.2017.06.008.

Barish Gulhan, Filiz Yangilar (2024), The effect of nettle extract (*Urtica dioica*) on pathogenic microorganisms in yogurt production Magazine of Takirdagh Faculty of Agriculture, year 2024, period: 21, number: 3, 759 - 770, 27.05.2024

E. Garofulić I, Malin V, Repajić M, Zorić Z, Pedisić S, Sterniša M, Smole Možina S, Dragović-Uzelac V. Phenolic Profile, Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity (2021), of Nettle Leaves Extracts Obtained by Advanced Extraction Techniques. Molecules. 2021 Oct 12;26(20):6153. doi: 10.3390/molecules26206153. PMID: 34684733; PMCID: PMC8538125.

F. Harrison, J. Furner-Pardoe, Connolly E. (2022), An assessment of the evidence for antibacterial activity of stinging nettle (*Urtica dioica*) extracts. Access Microbiol. 2022 Mar 24;4(3):000336. doi: 10.1099/acmi.0.000336. PMID: 35693473; PMCID: PMC9175978.

F. Maria, Patricia C. and Manuel V. (2022), Antioxidant extracts of nettle leaves (Ultra-nettle): evaluation of extraction techniques and solvents, Analytical Chemistry Department, Faculty of Veterinary Medicine, University of Santiago de Compostela, 27002 Lugo, Spain, Molecules 2022, 27 (18), 6015; <https://doi.org/10.3390/molecules27186015>.

Liu, N., Park, H.J. (2010). Factors effect on the loading efficiency of Vitamin C loaded chitosan-coated nanoliposomes Colloids and Surfaces B. Biointerfaces, 76, 16-19.

M. Repajić, E. Cegledi, V. Kruk, S. Pedisić, F. Çınar, D.B. Kovačević, I. Žutić, V. Dragović-Uzelac Accelerated solvent extraction as a green tool for the recovery of polyphenols and pigments from wild nettle leaves Processes., 8 (2020), pp. 1-19, 10.3390/pr8070803.

Riani Pereira de Oliveira, Andre do Souza Santos, Bruno Bezra Aragao, Cosme Nogueira da Silva, Kathleen Ramos Diegan, Asonso Ferreira, Luis Alberto Lira Soares, Raiza Evelyn Scorsio Pineiro, Tiago Pereira Chavez and Verinaldo Aparcido Mota, determination of antimicrobial activity and resistance modulation Bacteremia by nettle extract (*Cnidioscolus urens*) in bacteria MDRs isolated from bovine mastitis.

S. Đurović, B. Pavlić, S. Šorgić, S. Popov, S. Savić, M. Pertonijević, M. Radojković, A. Cvetanović, Z. Zeković Chemical composition of stinging nettle leaves obtained by different analytical approaches J. Funct. Foods, 32 (2017), pp. 18-26, 10.1016/j.jff.2017.02.

Veterinary Medicine and Animal Production - Brief Communication Published: May 28, 2024 Volume 55, pages 2983-2989.

سنجش و بررسی محتوای کلروفیل، کاروتنوئید و آنتوسیانین در دو گونه سنبله کوهسری

(Stachys inflata) و *(Stachys acerosa)* ارغوانیحانیه آقاباباگلین^{۱*}، پوراندخت گلکار^۱، مصطفی ترکش اصفهانی^۱^۱ گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران. (Hanieh.bbg@gmail.com)

چکیده

جنس *Stachys* یکی از بزرگترین جنس‌های خانواده نعنائیان^۱ می‌باشد. گیاهان جنس *Stachys* به دلیل خواص دارویی متفاوتی که دارند به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این تحقیق به منظور بررسی و سنجش محتوای سه صفت کلروفیل، کاروتنوئید و آنتوسیانین در دوازده ژنوتیپ بومی ایران از دو گونه *Stachys* (*Stachys inflata* Benth. و *Stachys acerosa* Boiss.) انجام شد. برای سنجش محتوای آنتوسیانین، عصاره متانولی و برای سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید، عصاره استونی از نمونه‌های گیاهی تهیه شد. بر اساس مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های مختلف دو گونه گیاهی *S. inflata* و *S. acerosa*، بالاترین مقدار آنتوسیانین (۶۹/۵۴ نانومول / وزن تر) در ژنوتیپ *S. ac7* مشاهده شد، در صورتی که کمترین مقدار آن (۲۱/۶۰ نانومول / وزن تر) به ژنوتیپ *S. in1* اختصاص داشت. بیشترین میزان کلروفیل کل (۸۱/۷۰ میلی گرم / وزن تر) در ژنوتیپ *S. ac7* و بیشترین مقدار کاروتنوئید (۱/۵۱ میلی گرم / وزن تر) و (۱/۴۹ میلی گرم / وزن تر) در ژنوتیپ‌های *S. ac7* و *S. in2* به دست آمد در حالی که کمترین مقدار کل کلروفیل (۴۰/۳۵ میلی گرم / گرم وزن تر) در ژنوتیپ *S. ac3* و کمترین مقدار کاروتنوئید (۰/۹۰ میلی گرم / گرم وزن تر) و (۰/۹۱ میلی گرم / گرم وزن تر) در ژنوتیپ‌های *S. in1* و *S. ac3* نشان داده شد. تفاوت در میزان صفات اندازه‌گیری شده می‌تواند ناشی از تفاوت در شرایط اقلیمی و رویشگاهی باشد. تشخیص ژنوتیپ‌های برتر می‌تواند در تولید محصولات دارویی و صنعتی مورد نیاز نقش ارزنده‌ای ایفا نماید.

واژگان کلیدی: کاروتنوئید، کلروفیل کل، محتوای آنتوسیانین کل

^۱Lamiaceae



۱. مقدمه

گیاهان دارویی دارای خواص منحصر به فرد و ارزشمند بوده و بنابراین تا به امروز از توجه بالایی برخوردار بوده‌اند. اسانس‌های گیاهی به عنوان عطر یا طعم‌دهنده در غذاها و نوشیدنی‌ها و همچنین به عنوان داروی گیاهی مدت‌هاست که مورد استفاده قرار می‌گیرند (عالی و همکاران، ۱۳۹۶).

خانواده نعنائیان (*Lamiaceae*) یکی از خانواده‌های مهم گیاهان دارویی محسوب می‌شود (Kotsos et al., 2007). این خانواده دارای پراکنش جهانی گسترده و از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناسی، به شدت متنوع می‌باشد (Pederson, 2000). اغلب گیاهان خانواده نعنائیان تولیدکننده ترپن‌ها و انواع ترکیبات دیگر هستند که این ترکیبات (عمدتاً) در کرک‌های ترشحی غده‌ای برگ‌ها، ساقه‌ها و اندام‌های زایشی ذخیره می‌شوند. در بین گیاهان خانواده نعناع، گونه‌های مفید فراوانی وجود دارد که عده زیادی از آن‌ها در مصارف پزشکی و صنایع غذایی استفاده می‌شوند تعداد زیادی از این گونه‌ها نیز به علت داشتن گل‌های زیبا و معطر دارای ارزش زینتی بوده و در باغبانی مورد استفاده قرار می‌گیرند (زرگری، ۱۳۷۵).

جنس *Stachys* در جهان، با بیش از ۳۰۰ گونه به عنوان یکی از بزرگترین جنس‌های خانواده نعنائیان محسوب می‌گردد که اغلب در نواحی شمالی اروپا، جنوب غرب آسیا، جنوب آفریقا، شمال و جنوب آمریکا و نواحی گرم مدیترانه گسترش یافته‌اند (Bhattacharjee 1982; Kotsos et al., 2007). ایران به عنوان یکی از مراکز تنوع جنس *Stachys*، تقریباً ۳۵ گونه دارد که ۱۳ گونه آن بومی می‌باشد (Salmaki, 2011). جنس *Stachys* در زبان فارسی به نام‌های شاطرا، صور اسرافیل و یا سنبله‌ای معروف است و در ایران ۳۴ گونه گیاه علفی چند ساله دارد (مظفریان، ۱۳۷۶).

بسیاری از گونه‌های این جنس با نام‌های مختلفی در طب سنتی چندین کشور به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند. علاوه بر این، فرآورده‌های گیاهی *Stachys* spp به طور گسترده در طب عامیانه برای درمان طیف وسیعی از اختلالات و بیماری‌ها، از جمله استرس، التهابات پوستی، اختلالات معده و زگیل‌های تناسلی مصرف می‌شوند (Tomou et al., 2020). گیاه *Stachys acerosa* Boiss. با نام فارسی سنبله کوهسری یا سنبله خارآلود از جمله گونه‌های انحصاری در ایران و بومی رشته کوه‌های زاگرس می‌باشد که دارای خواص دارویی متعددی می‌باشد (مظفریان، ۱۳۷۶).

گیاه دارویی *Stachys inflata* Benth. یا سنبله ارغوانی متعلق به خانواده نعنائیان و جنس *Stachys* می‌باشد که در طب سنتی و بومی کشورمان کاربرد گسترده‌ای دارد (صالحی و کلوندی، ۱۳۹۹). این گیاه پراکنش جغرافیایی خوبی در مناطق رویشگاهی استان اصفهان دارد و در طب عامیانه ایران برای درمان عفونت، بیماری‌های روماتیسمی و ناراحتی‌های التهابی استفاده می‌شود (Ataei Azimi et al., 2011). این گونه دارای اثرات آنتی اکسیدانی بسیار قوی می‌باشند مطالعات نشان می‌دهد ترکیبات و خواص ضد باکتریایی این گیاه را مربوط به کاروکرول و اکسید کاریوفیلین می‌باشد (Salehi et al., 2007).

آنتوسیانین‌ها نیز از مهمترین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آنتی اکسیدان هستند که در شواهد آزمایشگاهی و بالینی از آنها به عنوان ضدسرطان، ضد التهاب و ضد عفونی کننده در پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی-عروقی، عصبی، دیابت‌ها و فشار خون نام برده می‌شود (Khanavi et al., 2009; Maharik et al., 2009). آنتوسیانین‌ها جزء رنگدانه‌های محلول در آب هستند که از مسیر فنیل پروپانوئید سنتز می‌شوند و در واکنش‌ها تجمع می‌یابند.



این ترکیبات بدون عطر بوده و مشابه تانن‌ها می‌توانند طعم گس را ایجاد نمایند. آنتوسیانین‌ها در برگ‌ها، ساقه‌ها، ریشه‌ها و میوه‌های گیاهان یافت می‌شوند (Jaganath & Crozier, 2010).

کاروتنوئیدها پلی‌فنول‌های ترپنوئیدی هستند که دارای باند مضاعف مزدوج ترانس هستند. این رنگیزه‌ها در گیاهان باعث ایجاد رنگ زرد تا نارنجی و قرمز می‌شوند و جذب حشرات و گرده‌افشانی را برای این گیاهان افزایش می‌دهند. کاروتنوئیدها محلول در چربی بوده و نقش مهمی در کاهش اکسیداسیون چربی‌ها دارا می‌باشند. (Hirschberg, 2001).

میزان کلروفیل موجود در گیاهان یکی از مهمترین فاکتورهای موثر در حفظ ظرفیت فتوسنتزی می‌باشد. به دلیل شدت نور متفاوتی که به گیاهان می‌تابد، نسبت کلروفیل a به کلروفیل b تغییر می‌یابد. کاروتنوئیدها با جذب طول موج‌هایی از نور که باعث اکسایش نوری کلروفیل می‌شوند، کلروفیل را محافظت می‌کنند (Sies & Stahl, 1995).

با توجه به اهمیت این دو گونه دارویی بومی ایران و وجود مطالعات اندک در ارتباط با محتوای کلروفیل، کاروتنوئید و آنتوسیانین در گونه‌های مختلف *Stachys* (Lachowicz-Wiśniewska et al., 2022 ; Paun et al., 2017) ; Khademian Amiri et al., 2022; Gada et al., 2022 ; یوسف‌زاده، ۱۴۰۰؛ مازندرانی و محمدی، ۱۳۹۴)، این مطالعه در جهت اندازه‌گیری و بررسی میزان محتوای کلروفیل، کاروتنوئید و آنتوسیانین در دوازده ژنوتیپ از دو گونه *Stachys* (سنبله کوهسری و سنبله ارغوانی) رویش یافته در رویشگاه‌های طبیعی استان اصفهان انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. منطقه مورد مطالعه

جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی سبله ارغوانی و سنبله کوهسری از رویشگاه‌های طبیعی این گونه‌ها و ۱۲ منطقه جغرافیایی اطراف اصفهان (شهرستان‌های فریدن، فریدونشهر، بوئین و میاندشت و نجف‌آباد)، در سال ۱۴۰۱ انجام گرفت (جدول ۱).

جدول ۱: ویژگی مناطق جمع‌آوری ژنوتیپ‌های گونه سنبله کوهسری و ارغوانی

شماره	ژنوتیپ	گونه	مخفف	منطقه جمع‌آوری	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع	اقلیم
۱		<i>S. acerosa</i>	<i>S. ac</i> (1)	فریدن، اصفهان	۵۰,۳۰۴۶۶ E	N۳۲,۹۵۶۷۵	۲۳۳۱/۴۵	سردسیر، کوهستانی
۲		<i>S. acerosa</i>	<i>S. ac</i> (2)	فریدن، اصفهان	۵۰,۳۱۰۵۸	۳۲,۹۴۰۲۸	۲۳۴۸/۸۸	سردسیر، کوهستانی
۳		<i>S. acerosa</i>	<i>S. ac</i> (3)	فریدن، اصفهان	۵۰,۳۰۸۶۳	۳۲,۹۳۸۶۷	۲۳۷۳/۴۵	سردسیر، کوهستانی
۴		<i>S. acerosa</i>	<i>S. ac</i> (4)	فریدن، اصفهان	۵۰,۲۹۳۲۴	۳۲,۹۵۷۴۹	۲۳۷۸/۷۱	سردسیر، کوهستانی
۵		<i>S. acerosa</i>	<i>S. ac</i> (5)	فریدن، اصفهان	۵۰,۲۸۳۹۶	۳۲,۹۵۱۵۳	۲۴۴۷/۶۰	سردسیر، کوهستانی
۶		<i>S. acerosa</i>	<i>S. ac</i> (6)	بوئین و میاندشت، اصفهان	۴۹,۹۹۶۶۲	۳۳,۰۹۱۶۲	۲۷۹۵/۱۰	کوهستانی، نیمه خشک و سرد
۷		<i>S. acerosa</i>	<i>S. ac</i> (7)	بوئین و میاندشت، اصفهان	۴۹,۹۹۰۷۰	۳۳,۰۸۴۲۵	۲۷۲۸/۷۹	کوهستانی، نیمه خشک و سرد



۸	<i>S. acerosa</i>	<i>S. ac</i> (8)	بوئین و میاندشت، اصفهان	۵۰,۰۳۰۵۱	۳۳,۰۹۲۲۸	۲۵۵۵/۰۸	کوهستانی، نیمه خشک و سرد
۹	<i>S. acerosa</i>	<i>S. ac</i> (9)	کوه هشتاد، فریدونشهر، اصفهان	۴۹,۵۸۲۰	۳۳,۱۵۵	۲۶۰۲	کوهستانی، خشک و سرد
۱۰	<i>S. inflata</i>	<i>S. in</i> (1)	میانکوه، نجف آباد، اصفهان	۵۱,۱۵۱۰	۳۲,۳۱۲۵	۲۱۰۰	دشت، خشک و کویری
۱۱	<i>S. inflata</i>	<i>S. in</i> (2)	بوئین و میاندشت، اصفهان	۴۹,۹۹۰۷۰	۳۳,۰۸۴۲۵	۲۷۲۸/۷۹	کوهستانی، نیمه خشک و سرد
۱۲	<i>S. inflata</i>	<i>S. in</i> (3)	بوئین و میاندشت، اصفهان	۴۹,۹۹۶۶۲	۳۳,۰۹۱۶۲	۲۷۹۵/۱۰	کوهستانی، نیمه خشک و سرد

۲-۲. روش تحقیق

۲-۲-۱. استخراج عصاره متانولی

در این تحقیق استخراج عصاره و تعیین میزان متابولیت‌های ثانویه در بخش هوایی از ژنوتیپ‌های گیاهی سنبه ارغوانی و سنبه کوهسری به صورت جداگانه انجام شد. مقدار ۰/۲ گرم از نمونه گیاهی کامل خشک و آسیاب شده با ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی عصاره‌گیری شد سپس درون فالكون‌های استریل ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای سرد یخچال نگهداری گردید. عصاره‌ها پس از سانتریفیوژ (دور ۴۰۰۰ و مدت زمان ۲۰ دقیقه) درون ویال‌های کامال استریل ریخته و آماده برای انجام آزمایشات بعدی شدند. جهت اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی از هر نمونه گیاهی ۳ بار استخراج جداگانه صورت گرفت.

۲-۲-۲. سنجش میزان آنتوسیانین

برای سنجش مقدار آنتوسیانین ابتدا ۰/۲ گرم نمونه گیاهی تر داخل هاون با ۳ سیسی متانول اسیدی ساییده و داخل فالكون ریخته شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد و جذب محلول رویی در طول موج ۵۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید. از محلول متانول به عنوان محلول بلنک استفاده شد. مقدار آنتوسیانین با استفاده از فرمول $A = \epsilon b c$ که در آن ϵ یا ضریب خاموشی معادل $3300 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ، مقدار جذب، b عرض کووت اندازه‌گیری برابر ۱ سانتی‌متر و c مقدار آنتوسیانین بر حسب مول بر گرم وزن تر گیاه می‌باشد. در نهایت میزان آنتوسیانین بر حسب نانو مول در گرم وزن تر برگ بیان گردید. داده‌های خروجی از دستگاه برای هر نمونه یادداشت گردید (Masukasu et al., 2003).

۲-۲-۳. سنجش کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید

جهت سنجش محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید نمونه‌های برگ میزان ۰/۱ گرم از نمونه گیاهی تر داخل هاون با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ ساییده و داخل فالكون ریخته شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. میزان جذب محلول رویی با دستگاه اسپکتروفوتومتر در سه طول موج ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت گردید. سپس غلظت کلروفیل a و کلروفیل b بر حسب میلی‌گرم بر گرم ماده تر بیان شد (Lichtenthaler et al., 1983).

$$\text{Chla (mg/g FW)} = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645}) \text{ V}/100\text{W Chl}$$

$$\text{Chl b (mg/g FW)} = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663}) \text{ V}/100\text{W}$$



Chl total (mg/g FW) = Chlorophyll a + Chlorophyll b

A: جذب نور در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر

V: حجم محلول صاف شده (عصاره رویی حاصل از سانتریفیوژ)

W: وزن تر نمونه بر حسب گرم

به منظور محاسبه کاروتنوئید بر حسب (میلی گرم در گرم وزن تر) از فرمول گراس (۱۹۹۰) استفاده شد:

$$\frac{\mu\text{g carotenoid}}{g} = \frac{A \times V \times 10^6}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times 100 \times G}$$

A: جذب نور در طول موج ۴۷۰ نانومتر

V: حجم محلول عصاره

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$: ۲۵۰۰ برای جذب کاروتنوئید در استون

W: وزن تر نمونه بر حسب گرم

۳. نتایج

۳-۱. محتوای متابولیت های ثانویه در ژنوتیپ های مورد مطالعه

در این تحقیق نتایج تجزیه واریانس ناشی از بررسی محتوای متابولیت های ثانویه در ۱۲ ژنوتیپ دو گونه سنبله کوهسری و سنبله ارغوانی نشان دهنده آن است که همه ژنوتیپ های مورد مطالعه تفاوت معنی داری از نظر صفات مطالعه شده نشان دادند (جدول ۲).

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات بیوشیمایی در دو گونه سنبله کوهسری و سنبله ارغوانی

صفات				
منابع تغییر	درجه آزادی	آنتوسیانین	کلروفیل کل	کاروتنوئید
ژنوتیپ	۱۱	۴۳۵/۷**	۴۴۹/۹۵**	۰/۱۴**
خطا	۲۴	۰/۰۰۳	۰/۱۲	۰/۰۰۰۵

* و ** به ترتیب نشان دهنده معنی دار بودن در سطح پنج درصد و یک درصد می باشد.

۳-۲. مقایسه میانگین صفات بیوشیمایی در ژنوتیپ های مختلف

در این بررسی بالاترین مقدار آنتوسیانین (۶۹/۵۴ نانومول / وزن تر) در ژنوتیپ *S. ac7* مشاهده شد، درحالی که کمترین مقدار آن (۲۱/۶۰ نانومول / وزن تر) به ژنوتیپ *S. in1* اختصاص داشت. بیشترین میزان کلروفیل کل (۸۱/۷۰ میلی گرم / وزن تر) در ژنوتیپ *S. ac7* و بیشترین مقدار کاروتنوئید (۱/۵۱ میلی گرم / وزن تر) و (۱/۴۹ میلی گرم / وزن تر) در ژنوتیپ های *S. ac7* و *in2* به دست آمد در حالی که کمترین مقدار کلروفیل کل (۴۰/۳۵ میلی گرم / گرم وزن تر) در ژنوتیپ *S. ac3* و



کمترین مقدار کاروتنوئید (۰/۹۰ میلی گرم/ گرم وزن تر) و (۰/۹۱ میلی گرم/ گرم وزن تر) در ژنوتیپ‌های *S. in1* و *S. ac3* نشان داده شد (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه میانگین برای صفات بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های مختلف گونه‌های

ژنوتیپ	آنتوسیانین کل (نانومول/ گرم)	کلروفیل کل (میلی گرم/ گرم وزن تر)	کاروتنوئید (میلی گرم/ گرم وزن تر)
<i>S. ac1</i>	۰/۰۱ ^d ± ۴۱/۲۸	۰/۲۵ ^f ± ۶۴/۱۱	۰/۰۰۶ ^b ± ۱/۳۰
<i>S. ac2</i>	۰/۰۱۷ ^g ± ۳۶/۸۸	۰/۸ ⁱ ± ۲۵/۰۵	۰/۰۰۸ ^c ± ۱/۱
<i>S. ac3</i>	۰/۰۳ ^d ± ۴۱/۲۶	۰/۱۲ ^k ± ۴۰/۳۵	۰/۰۰۸ ^f ± ۰/۹۱
<i>S. ac4</i>	۰/۰۰۹۱ ^f ± ۴۰/۳۸	۰/۲۶ ^g ± ۵۹/۴۶	۰/۰۰۷ ^d ± ۱/۰۳
<i>S. ac5</i>	۰/۰۲ ^c ± ۴۶/۳۴	۰/۲۵ ^c ± ۷۱/۹۰	۰/۰۰۲ ^a ± ۱/۴۶
<i>S. ac6</i>	۰/۰۲۱ ^e ± ۴۰/۶۷	۰/۰۳ ^d ± ۶۶/۶۳	۰/۰۰۱ ^d ± ۱/۰۵
<i>S. ac7</i>	۷/۰۷ ^a ± ۶۹/۵۴	۰/۲۳ ^a ± ۸۱/۷۰	۰/۰۰۲ ^a ± ۱/۵۱
<i>S. ac8</i>	۰/۰۰۶ ⁱ ± ۳۱	۰/۰۶ ^h ± ۵۸/۱۶	۰/۰۰۷ ^d ± ۱/۰۴
<i>S. ac9</i>	۰/۰۲۴ ^b ± ۵۱/۶۶	۰/۰۵ ^j ± ۴۷/۲۸	۰/۰۰۴ ^e ± ۰/۹۵
<i>S. in1</i>	۰/۰۲ ^k ± ۲۱/۶۰	۰/۰۸ ⁱ ± ۵۱/۲۵	۰/۰۰۵ ^f ± ۰/۹۰
<i>S. in2</i>	۰/۰۳۸ ^h ± ۳۵/۶	۰/۰۷ ^b ± ۷۶/۶۳	۰/۰۰۲ ^a ± ۱/۴۹
<i>S. in3</i>	۰/۰۶ ⁱ ± ۳۰/۰۲	۰/۱۲ ^e ± ۶۵/۸۰	۰/۰۰۵ ^c ± ۱/۱۳

در هر ستون وجود حداقل یک حرف لاتین مشترک نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از گیاهان دارویی بومی که علاوه بر سازگاری‌های اکولوژیکی قادرند با سنتز مواد موثره ثانوی و فعال در بحث پیشگیری و درمان بیماری‌ها موثر واقع شوند، در سال‌های اخیر جایگاه ویژه‌ای در علم پزشکی یافته‌است (Mazandarani and Khormali, 2015).

شناسایی رویشگاه‌های مختلف و ارزیابی تأثیر عوامل محیطی بر صفات ریختی و عملکرد کمی و کیفی مواد موثره

گیاهان دارویی، کمک مهمی برای اهلی کردن و حفظ تنوع ژنتیکی این گیاهان به حساب می‌آید (Yavari et al., 2010).

کاروتنوئیدها به عنوان حامی رنگیزه‌های فتوسنتزی و غیرفتوسنتزی شناخته شده‌اند که می‌توانند انرژی اضافی طول موج‌های کوتاه را بگیرند و اکسیژن یک‌تایی را به اکسیژن سه‌تایی تبدیل کرده و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده نقش آنتی‌اکسیدانی از خود بروز دهند (Inze and Muntagu, 2000). با توجه به بررسی‌های انجام شده، میزان



کاروتنوئید در *S. aegyptiaca* (۴/۱۲ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) (Gada et al., 2022) و در *S. byzantine* (۰/۱۴ - ۰/۸ میکروگرم در گرم وزن خشک) (Khademian Amiri et al., 2022) اندازه گیری شد.

در رنگ سبز گیاهان، باکتری ها و برخی از جلبک ها عامل اصلی جذب نور خورشید هستند. یکی از مهمترین رنگدانه های موثر در فتوسنتز گیاهان، کلروفیل است. میزان وجود کلروفیل در رشد و نمو گیاهان اهمیت زیادی دارد. افزایش غلظت کلروفیل باعث افزایش توانایی گیاهان در استفاده از نور خورشید می شود و در نتیجه گیاهان بهتر می توانند شدت های مختلف نور را تحمل کنند (عبادالهی و عرب رحمتی پور، ۱۳۹۹). مقایسه محتوای رنگیزه های فتوسنتزی در برگ های گیاه فراسیون (*Marrubium vulgare*) نشان داد گیاهان جمع آوری شده از بیشترین ارتفاع از سطح دریا در مقایسه با کمترین ارتفاع مقادیر کلروفیل و کاروتنوئید بیشتری داشتند (Habibi, 2020).

آنتوسیانین ها، مسئول ایجاد رنگ های قرمز، بنفش و آبی در بسیاری از گل ها، میوه ها و سبزیجات هستند. تحقیقات نشان داده است که غلظت رنگیزه های آنتوسیانین به عوامل متعددی از جمله شدت نور، ارتفاع و دما بستگی دارد (Nikkhah et al., 2012). تحقیقات نشان می دهد فعالیت پاداکسایشی آنتوسیانین ها به دلیل توانایی آن ها در افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مثل سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتیون پراکسیداز می باشد (Zhao et al. 2005). افزایش شدت نور و تابش اشعه ماوراء بنفش بواسطه افزایش ارتفاع از سطح دریا از مهمترین عواملی هستند که می توانند بیوسنتز آنتوسیانین ها و فلاونوئیدهای برگ گیاه را تحریک کنند (Li et al., 2020). در این رابطه مطالعات نشان داد که در گیاه آقطی (*Sambucus ebulus* L.) با افزایش ارتفاع از سطح دریا میزان آنتوسیانین به طور معنی داری افزایش یافت (Jamshidi et al., 2010). محتوای آنتوسیانین در برخی از گونه های *Stachys* شامل *S. palustris* (Lachowicz-Wiśniewska et al., 2022) و *S. officinalis* (Paun et al., 2017) و *S. byzantine* (Khademian Amiri et al., 2022) مطالعه شده است. همچنین عصاره *S. officinalis* حاوی جنیستین و سیانیدین به عنوان آنتوسیانیدین های اصلی است (Paun et al., 2017). ژنوتیپ های برتر *Stachys* که حاوی آنتوسیانین بالا هستند، با توجه به تاثیر این ترکیب در سلامت و کاربردهای گسترده آن به عنوان رنگ در صنایع غذایی، می توانند حائز اهمیت باشند. بر اساس مطالعه حاضر به عنوان یک رنگ خوراکی، *S. acerosa* می تواند منبع غنی آنتوسیانین باشد.

با بررسی عصاره اندام های مختلف گیاه دارویی *Stachys inflata* محتوای فنل کل ($129/96 \pm 5/6$) میلی گرم گالیک اسید بر گرم) فلاونوئید کل ($29/62 \pm 5/6$) میلی گرم کوئرستین بر گرم) و آنتوسیانین کل ($0/21 \pm 0/01$) میکروگرم بر گرم) در عصاره سرشاخه های گیاه تقریباً ۱/۵ تا ۳ برابر عصاره ریشه بود. عصاره سرشاخه ها به دلیل کثرت مواد موثره ثانوی نسبت به ریشه از پتانسیل بیشتری در مهار رادیکالهای آزاد با میزان برخورداری بود (مازندرانی و محمدی، ۱۳۹۴). نتایج حاصل از بررسی ویژگی های کمی و کیفی گیاه پولک (*Stachys inflata*) تحت تاثیر ارتفاع و خاک در استان آذربایجان شرقی نشان داد که ارتفاع در مقایسه با خصوصیات خاک بیشترین تأثیر را در درصد اسانس، میزان کلروفیل و آنتوسیانین داشت. بیشترین تجمع کلروفیل و آنتوسیانین در جمعیت یام در بیشترین ارتفاع از سطح دریا مشاهده گردید (یوسف زاده، ۱۴۰۰). در مطالعه ای با



بررسی *S. byzantine* تحت تاثیر شرایط اقلیمی، میزان کلرووفیل و کارتونید را نیز اندازه کردند (Khademian Amiri et al., 2022).

در این مطالعه تشخیص و شناسایی ژنوتیپ‌های برتر سنبله ارغوانی و سنبله کوهسری از نظر میزان بالای محتوای آنتوسیانین، کلرووفیل کل و کاروتنوئید، می‌تواند راهنمای مناسبی برای تولید محصولات ارزنده دارویی و غذایی و تدوین برنامه‌های اصلاحی در آینده باشد.

منابع

- زرگری، ع. ۱۳۷۵. گیاهان دارویی انتشارات دانشگاه تهران.
- صالحی، م. و کلوندی، ر. ۱۳۹۹. بررسی میزان تغییرات خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی جمعیت‌های مختلف پولک (*Stachys inflata Benth*) در استان همدان. علوم باغبانی ۳۴(۲): 260-247.
- عالی، ا؛ محمودی، ر؛ کاظمی‌نیا، م؛ حضرتی، ر. و آذربی، ف. ۱۳۹۶. اسانس‌های گیاهی به‌عنوان ترکیبات دارویی طبیعی. مقاله مروری. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران ۷۵(۷): 489-480.
- عبادالهی، ع. ر. و عرب رحمتی‌پور، غ. ر. ۱۳۹۹. بررسی میزان کلرووفیل، کاروتنوئید تام و بتاکاروتن در هویج و تأثیر آب و هوا بر آنها. فصلنامه گیاهان دارویی ۷۵(۱۹): 265-254.
- مازندرانی، م. و محمدی، ا. ۱۳۹۴. بررسی نیازهای اکولوژیکی، اتنوفارماکولوژیکی، ارزیابی فنل و فلاونوئید کل، آنتی‌اکسیدانی عصاره اندام‌های مختلف گیاه دارویی *Stachys inflata Benth.* و تهیه طیف فلورستیک گیاهان کوهستان چهارباغ (شمال ایران). فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی ۱۱(۳): 73-62.
- مظفریان، و. ا. ۱۳۷۵. فرهنگ نامه ای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر.
- یوسف‌زاده، س. ۱۴۰۰. بررسی ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه پولک (*Stachys inflata Benth*) تحت تاثیر ارتفاع و خاک در استان آذربایجان شرقی. تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک / 3 (۲): 220-207.
- Ataei Azimi, O.; Rashidian Dezfooly, B. & Delnavaz Hashemloian, B. 2011. Journal of Medicinal Plants 10 (39): 103-112.
- Bhattacharjee, R. 1982. *Stachys*. In: Davis P. H. (ed.), Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press, Edinburgh, 7: 199-262.
- Gada, A., Elewa, A., Elhamahmy, M., Ibrahim, Y., Abdel-Razik, E. 2022. Physiological studies on some Medicinal Plants of the Family *Lamiaceae* Grown Wildly in Saint Catherine Peninsula. Journal of Plant Production Sciences. 11 (1): 57-70.
- Habibi, Gh. 2020. Effects of the altitudinal gradient on the daily rhythm of antioxidant capacity and dynamic photo inhibition in *Marrubium vulgare*. Iranian Journal of Plant Biology, 12(3): 57-72. (In Persian).
- Hirschberg, J. 2001. Carotenoid biosynthesis in flowering plants. Current opinion in plant biology 4(3): 210-218.
- Inze, D and Montagu, M.V. 2000. Oxidative stress in plants. Cornavall, Great Britain p: 105- 135.
- Jaganath, I. B. & Crozier, A. 2010. Dietary flavonoids and phenolic compounds. In Plant Phenolics and Human Health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology (edited by Cesar G. Fraga). John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey 593 p.
- Jamshidi, M., Mazandarani, M. and Fathi azad, F. 2010. The effect of height on the secondary metabolites fruit *Sambucus Sambucus ebulus* L. National Conference of Iranian Medicinal Plants.



- Khademian Amiri, S., Aghajanzadeh, T., Jafari, N., Mahmoud, M. 2022. Antioxidative compounds, enzymes activity and nutrient elements in *Stachys byzantina* are altered by climate conditions not by soil parameters. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 20(5) : 1099-1115.
- Khanavi, M., Mannan Hajimahmoodi, M., Cheraghi-Niroomand, M., Kargar, Z., Ajani, Y., Hadjiakhoondi, A., and Oveisi, MR. 2009. Comparison of the antioxidant activity and total phenolic contents in some *Stachys* species. *African Journal of Biotechnology* 8 (6): 1143-1147.
- Kotsos, M. P.; Aligiannis, N. & Mitakou, S. 2007. A new flavonoid diglycoside and triterpenoids from *Stachys spinosa* L. (Lamiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 35: 381-385.
- Lachowicz-Wiśniewska, S., Pratap-Singh, A., Kapusta, I., Kruszyńska, A., Rapak, A., Ochmian, I., Cebulak, T., Zukiewicz-Sobczak, W., Rubiński, P. 2022. Flowers and leaves extracts of *Stachys palustris* L. exhibit stronger anti-proliferative, antioxidant, anti-diabetic, and anti-obesity potencies than stems and roots due to more phenolic compounds as revealed by UPLC-PDA-ESI-TQD-MS/MS. *Pharmaceuticals*, 15, 785.
- Li, W., Tan, L., Zou, Y., Tan, X., Huang, J., Chen, W. and Tang, Q. 2020. The Effects of Ultraviolet A/B Treatments on Anthocyanin Accumulation and Gene Expression in Dark-Purple Tea Cultivar ‘Ziyan’ (*Camellia sinensis*). *Molecules*, 15:25(2):354
- Lichtenthaler, H. & Wellburn, A. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592.
- Maharik, N., Elgengaihi, S., and Taha, H. 2009. Anthocyanin production in callus cultures of *Crataegus sinaisa* Boiss. *International Journal of Academic Research*, 1(1): 30-34.
- Masukasu, H., Karin, O., & Kyoto, H. 2003. Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyls. *Plant Science*. 164(2): 259-265.
- Mazandarani, M., and Khormali, A. 2015. Autecology, ethnopharmacology, total phenol and flavonoids and antioxidant activity of *Ditrichia graveolens* (L.) Greuter. In different extraction from Bandargaz region. *Ecophytochemical Journal*, 6 (2):69- 78.
- Nikkhah, E.K., Khayyami, M. and Heidari, R. 2012. Effect of some chemicals on stability of anthocyanins from blackberry (*Morus nigra*). *Iranian Journal of Biology*, 25(1): 32-43. (In Persian).
- Paun, G., Neagu, E., Moroeanu, V., Ungureanu, O., Cretu, R., Ionescu, E., Tebrencu, C.E., Ionescu, R., Stoica, I. and Radu, G.L., 2017. Phytochemical analysis and *in vitro* biological activity of *Betonica officinalis* and *Salvia officinalis* extracts. *Romanian Biotechnological Letters*, 22(4): 12751-12761.
- Pederson, J. A. 2000. Distribution and taxonomic implications of some phenolic in the family Lamiaceae determined by ESR spectroscopy. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28: 229- 253.
- Salehi, P.; Sonboli, A. & Asghari, B. 2007. Chemical composition of the essential oil of *Stachys acerosa* and its antibacterial and antioxidant activities. *Chemistry of Natural Compounds* 43: 339-341.
- Salmaki, Y.; Zarre, Sh.; Lindqvist, Ch.; Heubl, G. & Brauchler, C. 2011. Comparative leaf anatomy of *Stachys* (Lamiaceae: Lamioideae) in Iran with a discussion on its subgeneric classification. *Plant Systematic and Evolution*, 294: 109-125.
- Sies, H. & Stahl, W. 1995. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition* 62(6): 1315-1321.
- Tomou, E. M.; Barda, Ch. & Skaltsa, H. 2020. *Medicines* 7 (10): 63.
- Yavari, A.R., Nazeri, V., Sefidkon, F. and Hassani, M.E. (2010). Evaluation of some ecological factors, morphological traits and essential oil productivity of *Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 26(2): 227-238.
- Zhao, J.; Davis, L. C. & Verpoorte, R. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances* 23(4): 283.

ارزیابی رشد و عملکرد گیاه نعناع فلفلی تحت تأثیر نیتروژن و دمای آب آبیاری

سعید حضرتی^۱، فرهاد حبیب زاده^{۲*}، ندا عزیزی^۱ و خدیجه خانی^۱

^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز.

^{۲*} گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین.

(habibzadeh_f@eng.ikiu.ac.ir)

چکیده

نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) یک گیاه دارویی چندساله و از تیره نعنائیان است که به طور گسترده در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. نیتروژن به عنوان یکی از عناصر پرمصرف و ضروری، نقش کلیدی در کمیت و کیفیت تولیدات گیاهی ایفا می‌کند و مدیریت صحیح آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. دمای آب آبیاری با تعدیل دمای خاک، علاوه بر تأثیر بر انتشار و جذب عناصر غذایی، رشد گیاه را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. این پژوهش با هدف بررسی اثر متقابل دمای آب آبیاری (۲۲، ۲۷، ۳۲ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد) و سطوح مختلف نیتروژن (صفر، ۱ و ۱/۵ گرم در گلدان) بر رشد و عملکرد نعناع فلفلی، به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان اجرا شد. نتایج نشان داد که کاربرد یک گرم نیتروژن در هر گلدان و افزایش مناسب دمای آب توانست میزان شاخص کلروفیل (اسپد) و ارتفاع گیاه را افزایش و در نتیجه به افزایش وزن تر گیاه نعناع فلفلی کمک کند. این مطالعه نشان داد که توجه به دمای آب آبیاری، به ویژه در محیط‌های کنترل شده، می‌تواند به عنوان عاملی مهم در افزایش کارایی مصرف نیتروژن و بهبود رشد و عملکرد گیاه عمل کند.

واژگان کلیدی: آبیاری، خاک، دما، رشد، نیتروژن



۱. مقدمه

در میان گیاهان دارویی، نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) یکی از گیاهانی است که به طور گسترده در سراسر جهان مورد استفاده قرار می گیرد. این گیاه دارویی یکی از مهم ترین گیاهان دارویی معطر و چند ساله از تیره نعنائیان می باشد. تکثیر این گیاه از طریق روشی بوده و توسط استولون های آن انجام می گیرد. این گیاه به طور کلی در مکان های مرطوب و سایه دار و به صورت خودرو در زیستگاه های مرطوب، از جمله کناره های جویبار و خندق های زهکشی رشد مطلوب دارد. به منظور استفاده بهتر از این گیاه می توان کل اندام هوایی آن را در مرحله گلدهی کامل جمع آوری کرد (Gholamipourfard et al., 2021). دمای آب آبیاری، پتانسیل تعدیل دمای خاک را از طریق رویدادهای آبیاری دارد و در نتیجه بر رشد و دوره فنولوژیکی گیاه تأثیر می گذارد. دمای خاک در ناحیه ریشه، بر میزان جذب عناصر غذایی توسط گیاه تأثیر مهمی داشته و چنانچه دمای این ناحیه در محدوده مناسب نباشد، می تواند بر رشد و عملکرد محصول تأثیر منفی بگذارد (Wu et al., 2023). کارایی جذب عناصر غذایی تاحد زیادی تحت تأثیر دمای آب و دمای ناحیه ریشه قرار می گیرد. بهینه نبودن دمای ناحیه ریشه موجب می شود که جذب و انتقال آب و عناصر غذایی بخوبی انجام نشود. استفاده از آب آبیاری با دمای پایین ممکن است به کاهش ظرفیت جذب آب به دلیل کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه و تأثیر منفی بر ظرفیت انتقال شیره آوند چوبی منجر شود. افزایش دمای آب آبیاری رشد ریشه گیاه را تحریک نموده و متعاقباً بر سطح مصرف نیتروژن خاک تأثیر می گذارد (Yang et al., 2023; Wu et al., 2023).

یکی از عناصر ضروری برای تغذیه گیاه، عنصر نیتروژن است که در کلیه مراحل رشد، ضروری بوده و در بسیاری از فرآیندهای متابولیکی گیاه نقش اساسی دارد. اثر مثبت و معنی دار نیتروژن بر افزایش میزان محصول، و از طرف دیگر روند کاهشی مقدار آن در خاک موجب گردیده که مطالعات متعددی در خصوص بررسی تأثیر کودهای حاوی نیتروژن بر عملکرد کمی و کیفی گیاهان انجام گردد. گزارش گردیده که در گیاه نعناع فلفلی، عملکرد بالای زیست توده و اسانس در شرایطی بدست می آید که نیتروژن زیاد مصرف شود (پشت دار و همکاران، ۱۳۹۵). با توجه به اینکه تأثیر دمای آب آبیاری بر میزان جذب نیتروژن و در نهایت بر رشد و عملکرد گیاه نعناع فلفلی تاکنون مورد مطالعه قرار نگرفته است، این پژوهش به منظور ارزیابی میزان رشد و عملکرد گیاه نعناع فلفلی تحت تأثیر تیمار دماهای مختلف آب آبیاری و نیتروژن اجرا گردید.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. منطقه مورد مطالعه

آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان با شدت نور ۴۵۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه، تناوب نوری ۱۶ روزه و ۸ ساعت تاریکی، تناوب دمایی ۲۵ درجه سانتی گراد روز و ۲۰ درجه سانتی گراد شب و رطوبت نسبی ۶۵ درصد در طی سال ۱۴۰۲ اجرا گردید. منطقه ای که در آن آزمایش صورت پذیرفت دارای موقعیت مکانی با عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۸۱ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۵ درجه و ۹۳ دقیقه شرقی، در ارتفاع ۱۳۱۸۸ متری از سطح دریای آزاد بود.

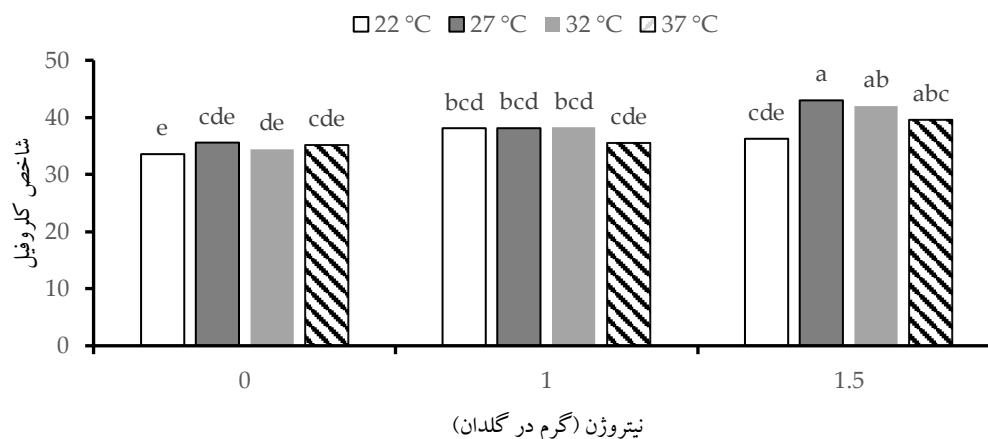


۲-۲. روش تحقیق

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل نیتروژن در سه سطح (عدم کاربرد (شاهد)، ۱ و ۱/۵ گرم در گلدان) و دمای آب آبیاری در چهار سطح (۲۲ درجه سانتی گراد (دمای معمولی به عنوان شاهد)، ۲۷، ۳۲ و ۳۷ درجه سانتی گراد) بود. قلمه‌های نعنای فلفلی با ارتفاع یکنواخت ۱۰-۱۲ سانتی متر به صورت تصادفی انتخاب و به گلخانه منتقل شدند. گلدان‌های ۸ لیتری با خاک مناسب کشت نعنای پر شدند. پس از آبیاری اولیه و رسیدن خاک به ظرفیت زراعی (۴۸ ساعت)، کشت قلمه‌ها انجام شد. آبیاری به صورت هفتگی و بر اساس نیاز گیاه با آب در دمای تعیین شده برای هر تیمار صورت گرفت. دو ماه پس از کشت و در مرحله شروع گلدهی، نمونه‌برداری انجام شد. صفت مورفولوژیک ارتفاع بوته، در هر بوته اندازه‌گیری شد. شاخص کلروفیل (اسپد) با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج TYS-4N (ساخت چین) اندازه‌گیری شد. اندام هوایی از ارتفاع ۵ سانتی متری سطح خاک با قیچی استریل برداشت و وزن تر آن با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. نتایج به دست آمده برای هر صفت با رعایت اصول آماری و قوانین تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS در پایان مورد تجزیه قرار خواهد گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excell ورژن ۲۰۱۳ استفاده گردید.

۳. نتایج

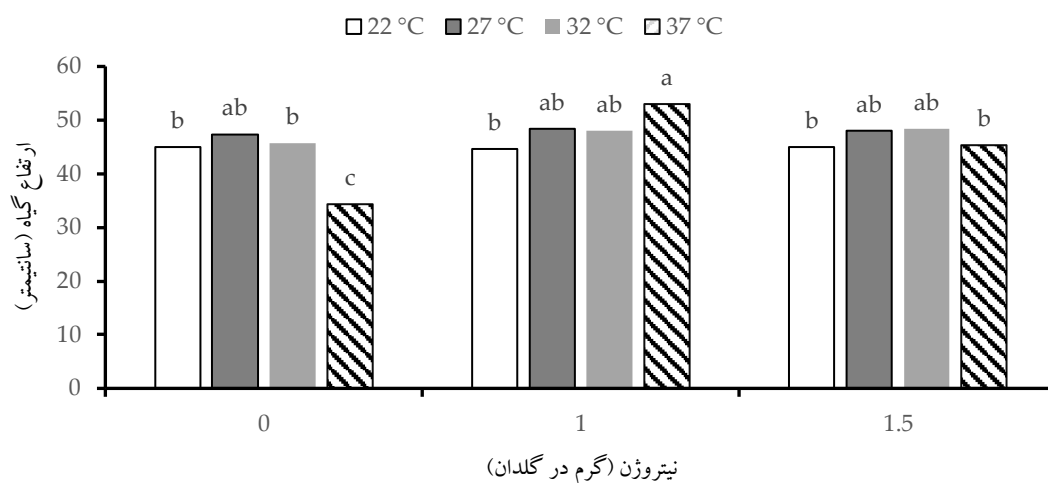
نتایج نشان داد اثر متقابل نیتروژن و دمای آب بر شاخص کلروفیل (اسپد) در گیاه نعنای تاثیر معنی‌داری دارد، به طوریکه بیشترین میزان شاخص کلروفیل گیاه نعنای فلفلی با مصرف ۱/۵ گرم نیتروژن در گلدان همراه آبیاری با آب به دمای ۲۷ درجه سانتیگراد به دست آمد که البته (از نظر آماری) با دماهای ۳۲ و ۳۷ درجه در یک گروه قرار گرفت. کمترین میزان شاخص کلروفیل نیز به آبیاری با آب به دمای ۲۲ درجه سانتیگراد مرتبط بود و با افزایش کاربرد نیتروژن و دمای آب، شاخص کلروفیل افزایش پیدا کرد (شکل ۱).





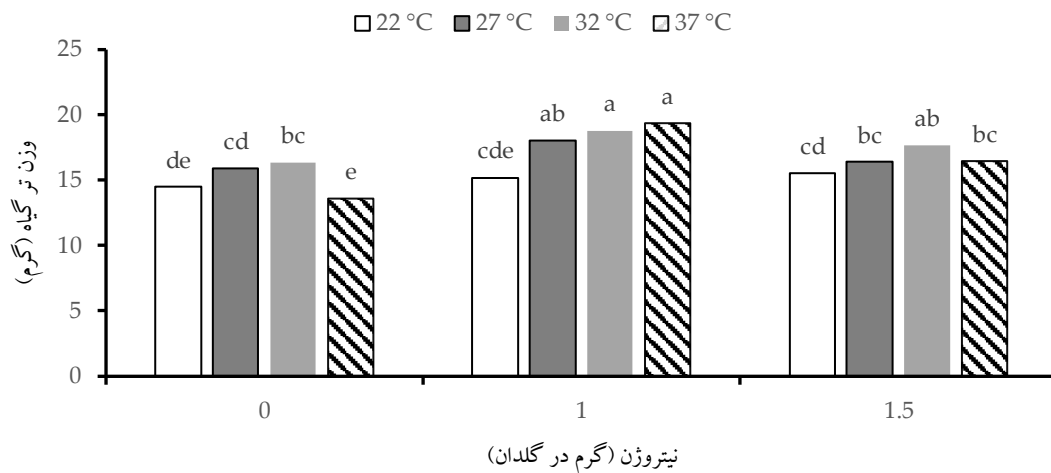
شکل ۱- تاثیر دمای آب آبیاری (۲۲، ۲۷، ۳۲ و ۳۷ درجه سانتیگراد) و نیتروژن بر شاخص کلروفیل گیاه نعناع فلفلی. (میانگین‌های دارای حروف مشترک، در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند)

نتایج نشان داد اثر متقابل نیتروژن و دمای آب، بر ارتفاع گیاه نعناع فلفلی تاثیر معنی‌داری دارد؛ به طوریکه، بیشترین ارتفاع گیاه با مصرف یک گرم نیتروژن در گلدان همراه آبیاری با آب به دمای ۳۷ درجه سانتیگراد بدست آمد. البته، دماهای ۲۷ و ۳۲ درجه سانتیگراد همراه با مصرف این مقدار نیتروژن نیز از لحاظ آماری در گروه مشابهی قرار گرفتند (شکل ۲).



شکل ۲- تاثیر دمای آب آبیاری (۲۲، ۲۷، ۳۲ و ۳۷ درجه سانتیگراد) و نیتروژن بر ارتفاع گیاه نعناع فلفلی. (میانگین‌های دارای حروف مشترک، در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند)

نتایج نشان داد که اثر متقابل نیتروژن و دمای آب آبیاری بر وزن گیاه نعناع فلفلی تاثیر معنی‌داری دارد؛ به طوریکه، بیشترین وزن تر گیاه با مصرف یک گرم نیتروژن در هکتار به ترتیب با دمای ۳۲ و ۲۷ درجه سانتیگراد به دست آمد که از نظر آماری با دمای ۳۷ درجه نیز تفاوت معنی‌داری نداشت. بر اساس نتایج، با افزایش دمای آب آبیاری تاثیر مثبت بر وزن تر گیاه در همه سطوح نیتروژن مشاهده شد که بر اساس نتایج، افزایش مناسب دمای آب بر جذب و فراهمی نیتروژن تاثیر مثبت گذاشته و در نتیجه منجر به افزایش وزن تر گیاه نعناع فلفلی گردید (شکل ۳).



شکل ۳- تاثیر دمای آب آبیاری (۲۲، ۲۷، ۳۲ و ۳۷ درجه سانتیگراد) و نیتروژن بر وزن تر گیاه نعناع فلفلی. (میانگین‌های دارای حروف مشترک، در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند)

۴. بحث و نتیجه‌گیری

دمای آب آبیاری از پتانسیل قابل توجهی در تعدیل دمای خاک از طریق رویدادهای آبیاری برخوردار است که این امر به طور مستقیم بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و رشد گیاه تأثیرگذار است (Wu et al., 2023). پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که افزایش متعادل دمای آب آبیاری، همراه با بهره‌گیری از فناوری آبیاری هوادهی (Zhu et al., 2019)، می‌تواند با افزایش تنفس خاک، توسعه سیستم ریشه‌ای و رشد اندام‌های هوایی را تقویت نموده و در نهایت به بهبود عملکرد گیاه منجر شود. نتایج این پژوهش نشان داد که برای دستیابی به عملکرد مطلوب در گیاه نعناع فلفلی، تنظیم دمای آب آبیاری در محدوده ۲۷ تا ۳۲ درجه سانتی‌گراد ضروری است. دمای ناحیه ریشه نقش دوگانه‌ای را ایفا می‌کند: از یک سو بر جذب عناصر غذایی تأثیر می‌گذارد و از سوی دیگر، میزان انحلال و دسترسی به اکسیژن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. دمای بیش از حد بالای آب می‌تواند منجر به کمبود شدید اکسیژن در محیط ریشه شود، در حالی که دمای بسیار پایین می‌تواند با ایجاد شوک دمایی به ریشه‌ها، کاهش سرعت متابولیسم و در نتیجه افت رشد گیاه را به دنبال داشته باشد.

با توجه به اینکه هر گونه گیاهی دارای محدوده دمایی بهینه خاص خود در ناحیه ریشه است، پیشنهاد می‌شود مطالعات گسترده‌تری برای تعیین این محدوده در گونه‌های مختلف گیاهی انجام شود. این امر می‌تواند به بهینه‌سازی شرایط رشد و افزایش بهره‌وری در سیستم‌های کشت گلخانه‌ای و فضای باز کمک شایانی نماید. همچنین، تحقیقات آینده می‌تواند روی برهم‌کنش دمای آب آبیاری با سایر عوامل محیطی و تغذیه‌ای و تأثیر آن بر کیفیت و کمیت متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی متمرکز شود.

منابع

- پشت‌دار، ع.، ابدالی مشهدی، ع.ر.، مرادی، ف.، سیادت، س.ع. و بخشنده، ع. ۱۳۹۵. اثر نوع و میزان کود نیتروژن بر عملکرد و کارایی مصرف آب و نیتروژن در نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.). مجله علوم زراعی ایران. ۱۸(۱): ۱۴-۳۱.
- Gholamipourfard, K., Salehi, M., and Banchio, E. (2021). *Mentha piperita* phytochemicals in agriculture, food industry and medicine: Features and applications. South African Journal of Botany, 141: 183-195.
- Wu, X.D., Wang, Z.H., Guo, L., Liu, J., Dhital, Y.P., Zhu, Y., Song, L.B., and Wen, Y. (2023). Timing and water temperature of drip irrigation regulate cotton growth and yield under film mulching in arid areas of Xinjiang (Early Access.). Journal of the Science of Food and Agriculture, 103, 12: 5754-5769.
- Yang, W.Z., Hu, Y.L., Song, C.N., Yu, Y.Z., and Jiao, Y. (2023). Interactive effects of soil moisture, nitrogen fertilizer, and temperature on the kinetic and thermodynamic properties of ammonia emissions from alkaline soil. Atmospheric Pollution Research, 14, 101805.
- Zhu, Y., Dyck, M., Cai, H.J., Song, L.B., and Chen, H. (2019). The effects of aerated irrigation on soil respiration, oxygen, and porosity. Journal of Integrative Agriculture, 18:2854–2868.



تأثیر کلرید سدیم و پتاسیم بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی دانه کلزای تیمار شده با نمک‌های کلریدی

علی غلامعلی تبار^۱، طاهره السادات آقاخانزاده^{*۱}

^۱گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر. (t.aghajan-zadeh@umz.ac.ir)

چکیده

شوری یکی از اصلی‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که با کاهش جوانه‌زنی، بنیه گیاه و عملکرد محصول، بر بهره‌وری محصولات کشاورزی تأثیر منفی می‌گذارد. دانه روغنی گیاه کلزا به دلیل ترکیباتی مانند پلی فنل، توکوفرول، فیتواسترول و فسفولیپید دارای خواص دارویی می‌باشد که برای بهبود سلامتی و پیشگیری از برخی بیماری‌ها مفید است. هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان جوانه زنی و پاسخ آنزیم‌های آنتی اکسیدانی تحت تنش شوری حاصل از نمک‌های کلرید سدیم و پتاسیم در جوانه‌های نسل دوم گیاه کلزای تیمار شده با نمک‌های کلریدی می‌باشد. جهت انجام آزمایش‌ها، بذرهای گیاه کلزای تیمار شده با نمک‌های کلریدی در شرایط استریل در شرایط آزمایشگاه با غلظت‌های ۸۰ و ۱۶۰ و ۲۴۰ میلی مولار نمک‌های کلرید سدیم و پتاسیم تیمار شدند. در مدت زمان ۵ روز درصد جوانه زنی بذرهای ثبت و دانه رست‌ها جهت سنجش میزان H_2O_2 و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز کل و ایزوآنزیم‌های آن جمع‌آوری شدند. نتایج نشان داد که تحت تنش شوری حاصل از نمک‌های کلریدی میزان H_2O_2 و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کل در تمامی غلظت‌ها نسبت به گیاه شاهد افزایش یافت. فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در غلظت‌های ۸۰ و ۱۶۰ میلی مولار در هر دو نمک کلریدی افزایش یافت. درحالی‌که همانند آنزیم پراکسیداز فعالیت آن در غلظت ۲۴۰ میلی مولار در هر دو نمک کاهش یافت که ممکن است به دلیل اکسیداسیون گروه‌های سولفیدریل (SH) آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و غیرفعال شدن آنها به جهت افزایش بیش از حد میزان پراکسید هیدروژن نسبت داد.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، جوانه‌زنی، کلزا، نمک‌های کلریدی



۱. مقدمه

رشد گیاهان توسط استرس‌های محیطی تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Langridge et al., 2006). شوری خاک به عنوان یک تنش مخرب بر عملکرد گیاهان در نظر گرفته می‌شود (Egamberdieva et al, 2019). تنش شوری بر تمام فرآیندهای اصلی مانند جوانه زنی، رشد، رنگدانه‌های فتوسنتزی و فتوستتیز، تعادل مواد مغذی و عملکرد فیزیولوژیک گیاه تأثیر می‌گذارد (Othman et al., 2006). همچنین تنش شوری باعث تجمع بالای نمک در ریشه و در سراسر گیاه شده و به دنبال آن جذب آب توسط گیاه کاهش می‌یابد (Zadeh and Naeini, 2007). سطوح بالای شوری خاک به دلیل اثرات ترکیبی پتانسیل اسمزی بالا و سمیت یونی خاص می‌تواند به طور قابل توجهی از جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه جلوگیری کند (Cuartero et al., 2006). جوانه زنی بذر، ظهور گیاهچه و بقای اولیه گیاهان به شرایط استرس زا مخصوصا شوری حساس هستند (Sakr et al., 2007). تنش شوری می‌تواند از طریق اثرات اسمزی بر جوانه زنی بذر تأثیر بگذارد (Munns, 2005). تولید پراکسید هیدروژن نیز به عنوان یکی از آثار مخرب تنش شوری در نظر گرفته می‌شود که به اجزای سلول آسیب وارد می‌کند (Abdul et al., 2009). تنش اکسیداتیو یک پدیده فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پیچیده است که حاصل تولید و تجمع بالای گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد (Gautam and Singh, 2009). علاوه بر تاثیر مستقیم تنش شوری بر گیاهان، یکی از پیامدهای رایج تنش شوری، القای تجمع بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن و ایجاد تنش اکسیداتیو می‌باشد که می‌تواند باعث پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، آسیب DNA و یا تعامل با سایر اجزای حیاتی سلول‌های گیاهی شود (Parida and Das, 2005). از این رو، تنظیم میزان گونه‌های فعال اکسیژن یک فرآیند حیاتی برای جلوگیری از سمیت سلولی ناخواسته و آسیب اکسیداتیو است (Sinaki et al., 2007). تنش‌های اکسیداتیو به وسیله سیستم‌های دفاعی که شامل آنزیم‌های مختلف مانند سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز می‌باشند کنترل می‌شود (Taffouo, 2006).

کلزا (*Brassica napus* L.)، یک گیاه علفی یکساله از خانواده Cruciferous، سرده کلم می‌باشد که یکی از گیاهان دارویی کشت شده در آسیای میانه، شمال آفریقا و غرب اروپا است (Ahmadi, 1991; Mozaffarian, 1996). کلزا به عنوان یکی از بزرگترین منابع روغن خوراکی در جهان شناخته می‌شود و روغن را برای مصارف انسان و سوخت‌های زیستی فراهم می‌کند (Rakow, 2004). کلزا نه تنها یک محصول اقتصادی کلیدی است، بلکه حاوی آنتی اکسیدان‌ها و فنولیک‌ها در برگ‌ها است (Schmidt and Bancroft., 2011). همچنین دانه‌های کلزا حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع، کاروتنوئیدها، فیتواسترول‌ها، فلاونوئیدها، ویتامین‌ها، گلوکوزینولات‌ها و عناصر میکرو هستند (Tileuberdi et al., 2022). کلزا به عنوان یک سبزی نیز مصرف می‌شود، اما استفاده اصلی آن به عنوان منبع روغن است (Abdel-Farid et al., 2007). روغن دانه کلزا معمولاً برای اهداف دارویی یا غذایی استفاده می‌شود. در طب سنتی ایران از قسمت‌های ریشه کلزا به عنوان مدر، ضد اسکوربوت و ضد التهاب مثانه استفاده می‌شد (Zargari, 2001). همچنین، بذرهای کلزا برای درمان قولنج کبدی و کلیوی مورد استفاده قرار می‌گرفتند. دانه‌های کلزا در طب سنتی شرقی نیز به عنوان درمانی برای برونشیت استفاده می‌شود (Evans, 1997; Zargari, 2001). برخی از مطالعات نشان می‌دهد که کلزا می‌تواند به عنوان یک عامل ضد التهابی، آنتی اکسیدانی، ضد ویروسی، کاهش دهنده قند خون و ضد سرطان استفاده شود. در صنعت داروسازی، استفاده از کلزا به عنوان یک ماده فعال ممکن است به تولید



داروهای جدید با طیف وسیعی از اثرات درمانی کمک کند (Tileuberdi et al., 2022). هر قسمت از کلزا (گل، دانه، برگ، ساقه و ریشه) برای مصارف غذایی، دارویی و آرایشی استفاده می شود. دانه ها مهمترین قسمت هستند زیرا به عنوان منبع روغن و پروتئین استفاده می شوند (Tileuberdi et al., 2022).

استفاده از روغن کلزا به عنوان یک محصول غذایی و همچنین در تولید محصولات غیر تغذیه ای مانند گریس ها، روغن - های روان کننده و به ویژه سوخت زیستی ممکن است باعث افزایش تولید کلزا در جهان شود (Saeidnia and Gohari, 2012). کلزا پتانسیل زیادی برای توسعه کشت و صنعت دارد و بنابراین یک هدف اصلی برای بهبود محصول است. برای این منظور، محققان و پرورش دهندگان با پشتکار تلاش می کنند تا انواع جدیدی از کلزا را با ویژگی های زراعی بهبود یافته مانند مقاومت در برابر بیماری، مقاومت به علف کش ها و افزایش مقاومت در برابر برخی تنش های زیستی و غیرزیستی تولید کنند (Malik, 1990). شوری یکی از بزرگترین مشکلات کشت و تولید گیاه کلزا می باشد (Purty et al., 2008). مرحله جوانه زنی نیز یکی از حساس ترین مراحل رشد و زندگی در گیاهان است که به شرایط محیطی نامطلوب از جمله شوری بسیار حساس است. مطالعات زیادی در مورد اثرات نامطلوب شوری بر گیاهان زراعی صورت گرفته است. درحالی که مطالعه محدودی در ارتباط با پاسخ دانه نسل دوم گیاه تیمار شده با شوری صورت گرفته است. هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر شوری (کلرید سدیم و کلرید پتاسیم) بر جوانه زنی دانه نسل دوم گیاه کلزای تیمار شده با نمک های کلریدی می باشد. همچنین پاسخ های آنتی اکسیدانی و فیزیولوژیکی دانه رست های حاصل از دانه نسل دوم گیاه کلزای تیمار شده با نمک های کلریدی در مواجهه با تنش نمک های کلریدی (کلرید سدیم و کلرید پتاسیم) ارزیابی خواهد شد.

۲. مواد و روش ها

جهت کشت نسل دوم گیاه کلزا ابتدا بذرهای نسل اول گیاه کلزا که تحت تیمار نمک های کلرید سدیم و کلرید پتاسیم قرار گرفته بودند جمع آوری شد. بذرها در هیپوکلریت سدیم (آب ژاول) یک درصد به مدت ۲ دقیقه استریل و سپس در پلیت های استریل که حاوی کاغذ صافی استریل بودند قرار گرفتند. جهت تیماردهی بذرها گیاه کلزا محلولی از نمک های کلرید سدیم و کلرید پتاسیم با غلظت های ۸۰، ۱۶۰ و ۲۴۰ میلی مولار تهیه شد و به پلیت های حاوی بذر اضافه گردید. سپس بذرها برای جوانه زنی به مدت پنج روز در انکوباتور با دمای ۲۷ درجه سانتی گراد و بدون نور قرار گرفتند. به منظور سنجش درصد جوانه زنی تعداد بذرها زده در هر روز شمارش و ثبت شد و در پنجمین روز جوانه ها به منظور سنجش فعالیت آنزیم ها جمع آوری شد. درصد جوانه زنی بذرها از طریق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{Germination percentage (\%)} = n/N \times 100$$

$$N = \text{تعداد کل بذرها} \quad n = \text{تعداد بذرها زده}$$

به منظور سنجش میزان H_2O_2 ، به یک گرم نمونه تازه گیاهی، ۱۰ میلی لیتر اسید تری کلرواستیک (TCA ۰/۱ درصد) اضافه و سپس با استفاده از هاون نمونه گیاهی به خوبی کوبیده شد. سپس عصاره بدست آمده با استفاده از کاغذ صافی صاف شد. محلول حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از آن ۰/۵ میلی لیتر محلول رویی جدا گردید



و با ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم (۱۰ میلی مولار، pH=۷) به همراه یک میلی لیتر یدید پتاسیم (۱ مولار) مخلوط شد. سپس به مدت یک ساعت در تاریکی قرار گرفت. پس از آن میزان جذب محلول فوق در طول موج ۳۹۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر ثبت گردید. محتوای H_2O_2 بر اساس منحنی استاندارد محاسبه شد (Velikova et al., 2000).

جهت استخراج عصاره آنزیمی به یک گرم نمونه گیاهی تازه ۱۰ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار سرد اضافه و در هاون به خوبی سائیده شد. سپس محلول حاصل با استفاده از کاغذ صافی، صاف و به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۶۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. محلول رویی جدا و جهت سنجش فعالیت آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت (Bradford, 1976).

برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز، به محلول حاوی ۲/۴۷۰ میکرولیتر بافر استخراج فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار، ۸۰ میکرولیتر معرف گایاکل ۲۰ میلی مولار، ۲۵۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۴۰ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد. جذب مخلوط واکنش آنزیمی با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر در زمان شروع و یک دقیقه پس از آن خوانده شد. واحد فعالیت آنزیمی بر اساس میزان تترایاکسیل تشکیل شده پس از زمان یک دقیقه محاسبه گردید (Nakano and Asada, 1981).

جهت سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کل، به ۱/۹ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار حاوی EDTA ۰/۱ میلی مولار، متیونین ۱۳ میلی مولار، ریوفلاوین ۲۴ میکرومولار و NBT ۷۵ میکرومولار، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه کرده و سپس به مدت ۵ دقیقه در فاصله ۱۰ سانتی متری از منبع نور قرار داده شد. پس از آن جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر ثبت شد (Beauchamp and Fridovich, 1971).

به منظور سنجش فعالیت آنزیم منگنز/آهن سوپراکسید دیسموتاز، به ۱۷۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار حاوی EDTA ۰/۱ میلی مولار، متیونین ۱۳ میلی مولار، ریوفلاوین ۲۴ میکرومولار و NBT ۷۵ میکرومولار، ۲۰۰ میکرولیتر سیانید پتاسیم ۳۰ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. سپس به مدت ۵ دقیقه نمونه‌ها در فاصله ۱۰ سانتی متری از منبع نور قرار گرفته و جذب آن‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر خوانده شد (Weisiger and Fridovich, 1973).

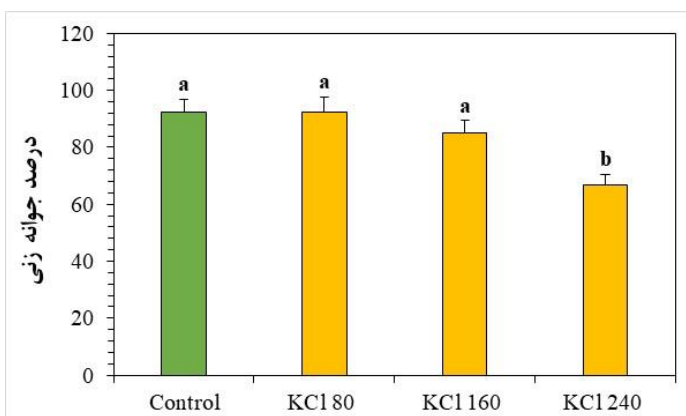
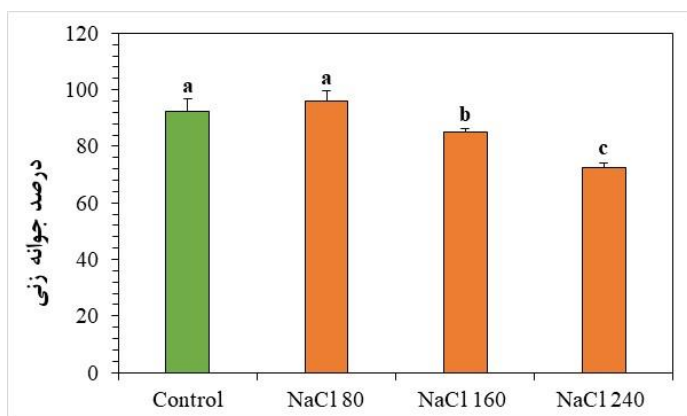
برای سنجش فعالیت آنزیم مس/روی سوپراکسید دیسموتاز، نسبت مساوی از محلول کلروفرم و اتانول (به نسبت ۳ به ۵) و عصاره آنزیمی به خوبی مخلوط و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. ۱۰۰ میکرولیتر از فاز رویی جدا و به ۱۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار حاوی EDTA ۰/۱ میلی مولار، متیونین ۱۳ میلی مولار، ریوفلاوین ۲۴ میکرومولار و NBT ۷۵ میکرومولار اضافه گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در فاصله ۱۰ سانتی متری از منبع نور قرار گرفتند و جذب آن‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر خوانده شد (Beauchamp and Fridovich, 1971; Weisiger and Fridovich, 1973). فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز کل و ایزوآنزیم‌ها بر حسب واحد بر میلی گرم وزن تر محاسبه شد (Govinda et al., 2017).

جهت سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز، به ۱/۸ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی مولار، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استخراج شده و ۱۰۰ میکرولیتر محلول کاتکول ۲۰ میلی مولار اضافه شد. سپس محلول حاصل به مدت ۲ دقیقه هوادهی

شد. پس از هوادهی جذب محلول در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر ثبت شد (Hu-zhe et al., 2005).

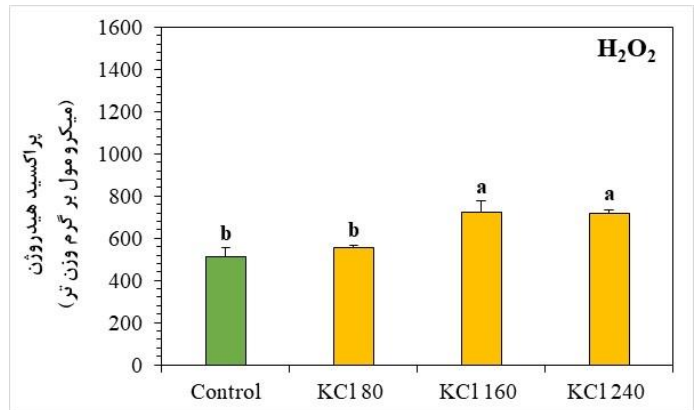
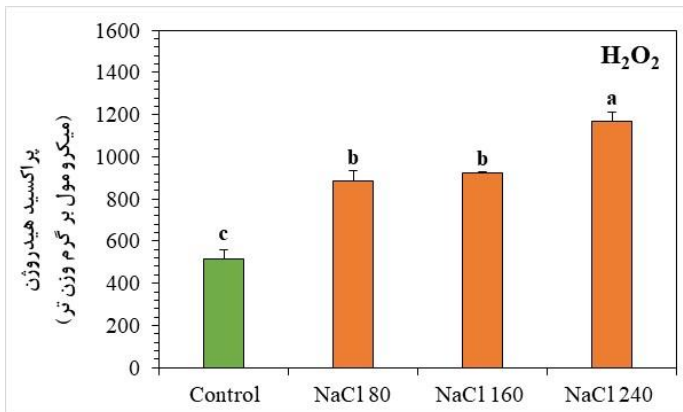
۳. نتایج

نتایج نشان داد تحت تنش شوری ناشی از نمک کلرید سدیم درصد جوانه زنی در غلظت ۸۰ میلی مولار نسبت به گیاه شاهد از لحاظ آماری تفاوت معنی داری را نشان نداد. درحالیکه در غلظت‌های ۱۶۰ و ۲۴۰ میلی مولار نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۸ و ۲۰ درصد کاهش یافت. در گیاهان تحت تنش شوری حاصل از نمک کلرید پتاسیم درصد جوانه زنی در غلظت‌های ۸۰ و ۱۶۰ میلی مولار نسبت به گیاه شاهد اختلاف معنی داری نداشت. درحالیکه در غلظت ۲۴۰ میلی مولار ۲۶ درصد کاهش یافت (شکل ۱).



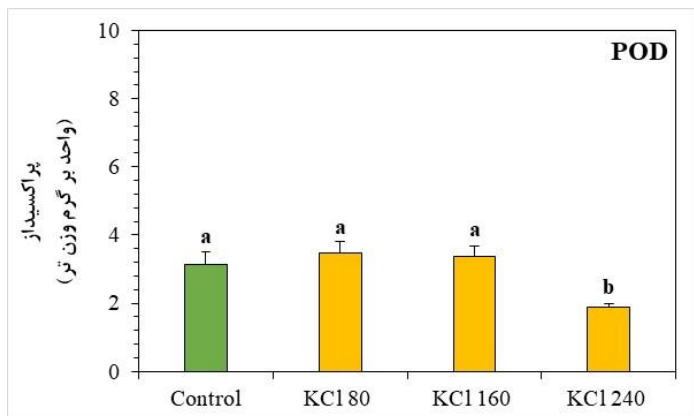
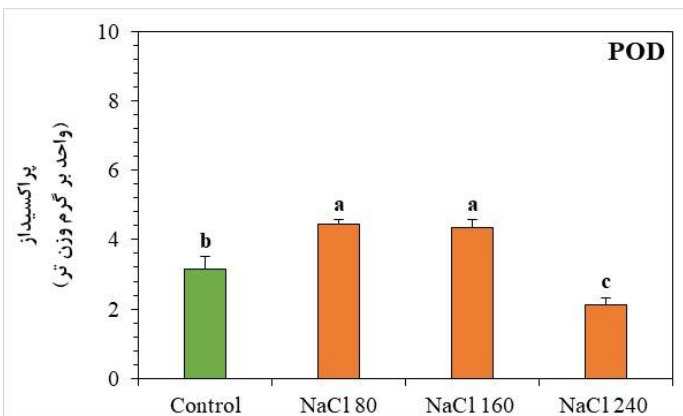
شکل ۱: تاثیر تنش شوری ناشی از نمک‌های کلرید سدیم (NaCl) و کلرید پتاسیم (KCl) بر میزان درصد جوانه زنی جوانه‌های نسل دوم گیاه کلزا. حروف غیر مشابه روی ستون‌های نمودار نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

بر اساس نتایج بدست آمده تحت تنش شوری حاصل از نمک کلرید سدیم میزان پراکسید هیدروژن در غلظت‌های ۸۰، ۱۶۰ و ۲۴۰ میلی مولار نسبت به گیاه شاهد به ترتیب به میزان ۱/۷، ۱/۸ و ۲/۲ برابر افزایش یافت. میزان پراکسید هیدروژن تحت تنش شوری ناشی از نمک کلرید پتاسیم در غلظت ۸۰ میلی مولار نسبت به گیاه شاهد از لحاظ آماری تفاوت معنی داری را نشان نداد. درحالیکه میزان آن در غلظت‌های ۱۶۰ و ۲۴۰ میلی مولار نسبت به گیاه شاهد به صورت معنی دار و به میزان ۴۱ درصد افزایش یافت (شکل ۲).



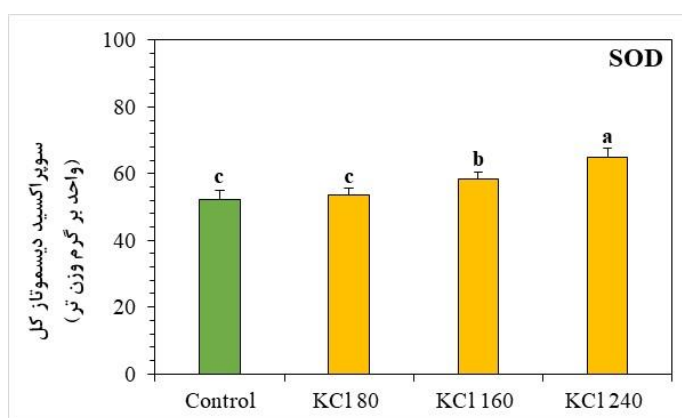
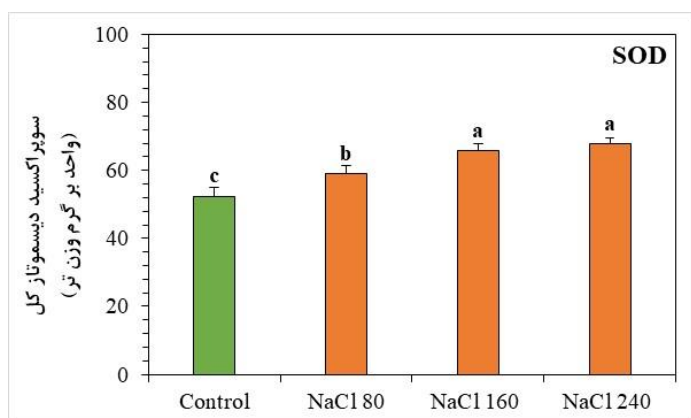
شکل ۲: تاثیر تنش شوری ناشی از نمک‌های کلرید سدیم (NaCl) و کلرید پتاسیم (KCl) بر میزان پراکسید هیدروژن جوانه‌های نسل دوم گیاه کلزا. حروف غیر مشابه روی ستون‌های نمودار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌ها نشان داد که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تنش شوری ناشی از نمک کلرید سدیم در غلظت‌های ۸۰ و ۱۶۰ میلی مولار نسبت به فعالیت این آنزیم در گیاه شاهد به ترتیب ۴۱ و ۳۸ درصد افزایش یافت. درحالی‌که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در غلظت ۲۴۰ میلی مولار نسبت به گیاه شاهد ۳۳ درصد کاهش یافت. تنش شوری حاصل از نمک کلرید پتاسیم در غلظت‌های ۸۰ و ۱۶۰ میلی مولار میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را نسبت به میزان فعالیت این آنزیم در گیاه شاهد از نظر آماری به صورت معنی‌دار تغییری نداد. اما سبب کاهش ۴۰ درصدی فعالیت این آنزیم در غلظت ۲۴۰ میلی مولار شد (شکل ۳).



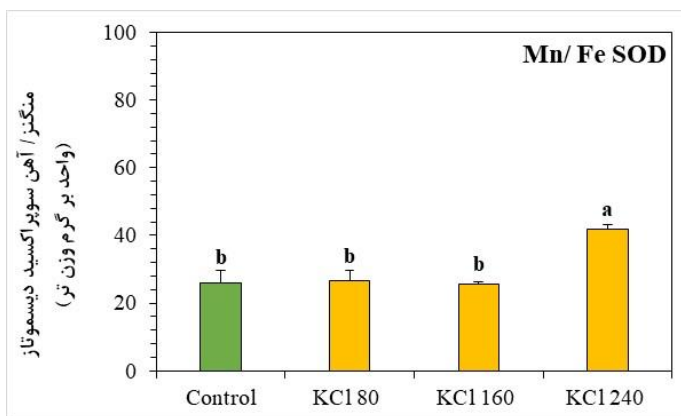
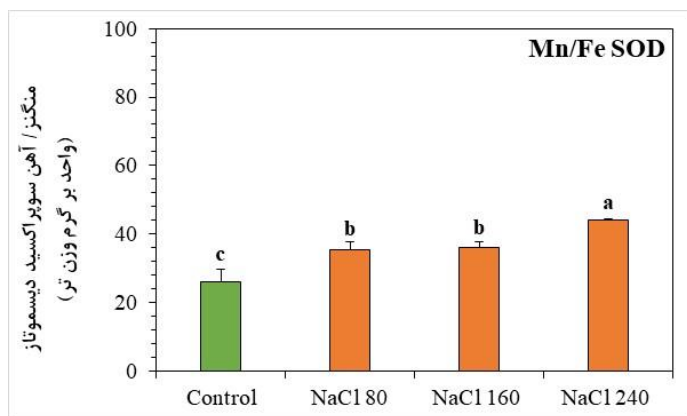
شکل ۳: تاثیر تنش شوری ناشی از نمک‌های کلرید سدیم (NaCl) و کلرید پتاسیم (KCl) بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز جوانه‌های نسل دوم گیاه کلزا. حروف غیر مشابه روی ستون‌های نمودار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کل در گیاهان تحت تنش شوری ناشی از کلرید سدیم در هر سه غلظت نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۱۳، ۲۶ و ۳۰ درصد افزایش یافت. تنش شوری حاصل از نمک کلرید پتاسیم در غلظت ۸۰ میلی مولار میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را نسبت به گیاه شاهد به صورت معنی دار تغییر نداد. درحالیکه میزان فعالیت این آنزیم را در غلظت‌های ۱۶۰ و ۲۴۰ میلی مولار نسبت به گیاه شاهد به ترتیب به میزان ۱۲ و ۲۴ درصد افزایش داد (شکل ۴).



شکل ۴: تاثیر تنش شوری ناشی از نمک‌های کلرید سدیم (NaCl) و کلرید پتاسیم (KCl) بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کل جوانه‌های نسل دوم گیاه کلزا. حروف غیر مشابه روی ستون‌های نمودار نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

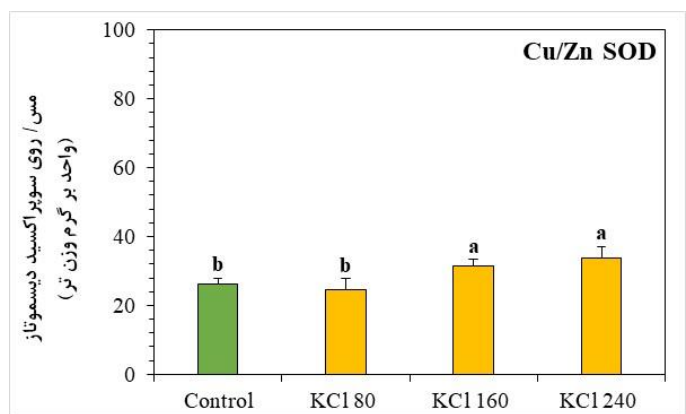
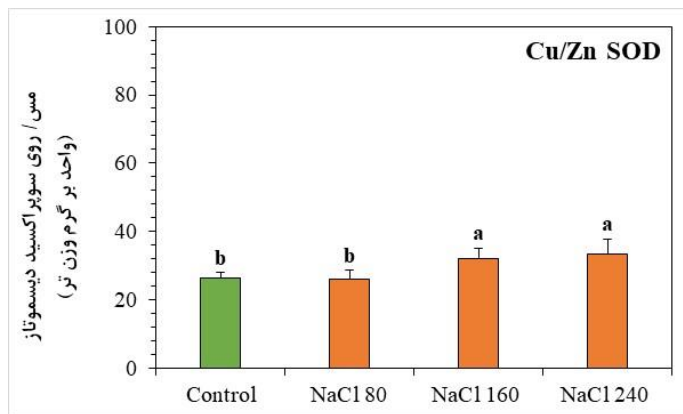
بررسی نتایج مشخص کرد که تنش شوری ناشی از نمک کلرید سدیم در هر سه غلظت میزان فعالیت آنزیم منگنز/آهن سوپراکسید دیسموتاز را نسبت به گیاه شاهد به صورت معنی دار و به ترتیب به میزان ۳۵، ۳۸ و ۶۹ درصد افزایش داد. درحالیکه تنش شوری حاصل از نمک کلرید پتاسیم در غلظت‌های ۸۰ و ۱۶۰ میلی مولار تفاوت معنی داری را در میزان فعالیت آنزیم منگنز/آهن سوپراکسید دیسموتاز به وجود نیاورد و فقط در غلظت ۲۴۰ میلی مولار سبب افزایش ۶۰ درصدی فعالیت این آنزیم نسبت به گیاه شاهد شد (شکل ۵).





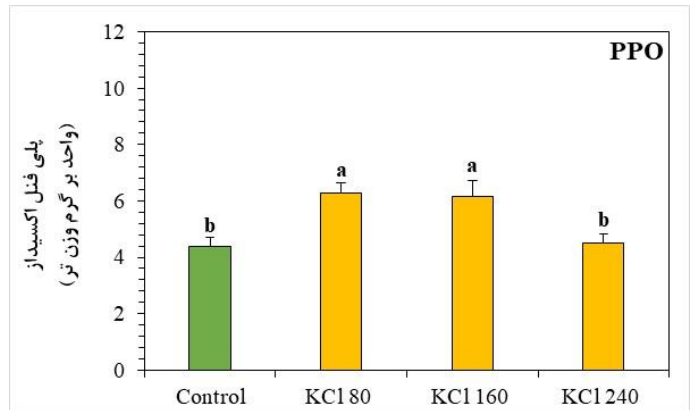
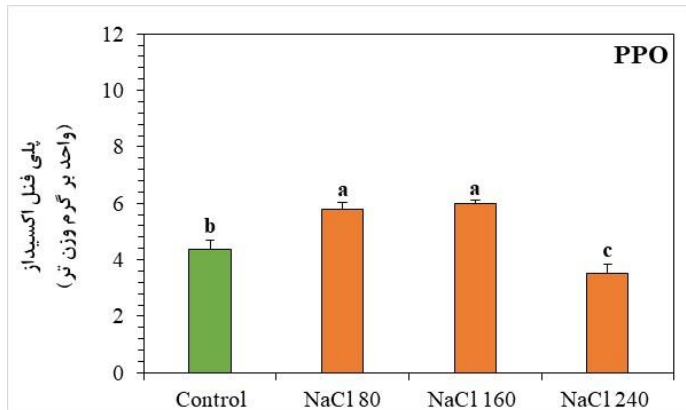
شکل ۵: تاثیر تنش شوری ناشی از نمک‌های کلرید سدیم (NaCl) و کلرید پتاسیم (KCl) بر میزان فعالیت آنزیم منگنز/آهن سوپراکسید دیسموتاز جوانه‌های نسل دوم گیاه کلزا. حروف غیر مشابه روی ستون‌های نمودار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

بر اساس نتایج بدست آمده میزان فعالیت آنزیم مس/روی سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان تحت تنش شوری ناشی از کلرید سدیم در غلظت ۸۰ میلی مولار نسبت به میزان فعالیت این آنزیم در گیاه شاهد از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. درحالی‌که میزان فعالیت آنزیم مس/روی سوپراکسید دیسموتاز در غلظت‌های ۱۶۰ و ۲۴۰ میلی مولار به ترتیب ۲۳ و ۲۸ درصد افزایش یافت. همچنین در گیاهان تحت تنش شوری حاصل از کلرید پتاسیم نیز در غلظت ۸۰ میلی مولار میزان فعالیت آنزیم منگنز/آهن سوپراکسید دیسموتاز نسبت به گیاه شاهد از نظر آماری به صورت معنی‌دار تغییر نکرد. درحالی‌که در غلظت‌های ۱۶۰ و ۲۴۰ میلی مولار میزان فعالیت این آنزیم به ترتیب ۲۱ و ۲۹ درصد نسبت به گیاه شاهد افزایش یافت (شکل ۵).



شکل ۵: تاثیر تنش شوری ناشی از نمک‌های کلرید سدیم (NaCl) و کلرید پتاسیم (KCl) بر میزان فعالیت آنزیم منگنز/آهن سوپراکسید دیسموتاز جوانه‌های نسل دوم گیاه کلزا. حروف غیر مشابه روی ستون‌های نمودار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

نتایج نشان داد که در گیاهان تیمار شده با شوری حاصل از کلرید سدیم در غلظت‌های ۸۰ و ۱۶۰ میلی مولار فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نسبت به گیاه شاهد ۳۳ و ۳۷ درصد افزایش یافت. درحالی‌که در غلظت ۲۴۰ میلی مولار ۲۰ کاهش یافت. همچنین در گیاهان تیمار شده با شوری ناشی از نمک کلرید پتاسیم نیز میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در غلظت‌های ۸۰ و ۱۶۰ میلی مولار نسبت به گیاه شاهد به ترتیب ۴۴ و ۴۱ درصد افزایش یافت. درحالی‌که در غلظت ۲۴۰ میلی مولار میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نسبت به گیاه شاهد از لحاظ آماری به صورت معنی‌دار تغییر نکرد (شکل ۶).



شکل ۶: تاثیر تنش شوری ناشی از نمک‌های کلرید سدیم (NaCl) و کلرید پتاسیم (KCl) بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز جوانه‌های نسل دوم گیاه کلزا. حروف غیر مشابه روی ستون‌های نمودار نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

سطح شوری بالا منجر به عدم تعادل یونی، اختلالات تنظیم اسمزی و در نهایت کاهش جذب آب توسط بذرها می‌شود (Bybordi, 2010). دسترسی به آب و جذب مواد مغذی توسط ریشه گیاه به دلیل پتانسیل اسمزی بالا و سمیت یون‌های سدیم و کلر محدود می‌شود و در نتیجه باعث عدم تعادل تغذیه‌ای و استرس اکسیداتیو می‌شود (Bybordi et al., 2010a). علاوه بر این، Na^+ می‌تواند جایگزین یون‌ها، به ویژه K^+ ، در واکنش‌های آنزیمی کلیدی شود، که بر متابولیسم سیتوزول و اندامک‌ها به دلیل نسبت Na^+/K^+ ، که برای عملکرد سلول در شرایط شوری حیاتی است، تأثیر می‌گذارد (Wangsawang et al., 2018; Woodrow et al., 2017; El-Badri et al., 2021). در مطالعه‌ی حاضر نیز درصد جوانه زنی در غلظت‌های ۱۶۰ و ۲۴۰ میلی مولار کلرید سدیم و همچنین در غلظت ۲۴۰ میلی مولار کلرید پتاسیم کاهش یافت.

پراکسید هیدروژن پایدارترین گونه از گونه‌های فعال اکسیژن است که عمدتاً در سلول‌های گیاهی در طی فتوسنتز و تنفس نوری و به میزان کمتری در فرآیندهای تنفسی تولید می‌شود. علاوه بر این، عوامل خارج سلولی نقش مهمی در تولید پراکسید هیدروژن دارد. پراکسید هیدروژن به عنوان یک عامل اکسید کننده ضعیف شناخته می‌شود که می‌تواند به عنوان یک سیگنال در مکانیسم‌های تحمل به استرس عمل کند. با این وجود افزایش میزان پراکسید هیدروژن می‌تواند با اکسیداسیون گروه‌های سولفیدریل (SH) بسیاری از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و چرخه کالوین آن‌ها را غیرفعال کند (Abdelaal et al., 2020). همچنین پراکسید هیدروژن می‌تواند با یون‌هایی مانند آهن (Fe^{2+}) و مس (Cu^{2+}) واکنش داده و رادیکال‌های هیدروکسیل را تشکیل دهد و در نهایت منشا بسیاری از اثرات سمی مانند عدم تثبیت دی اکسید کربن، مهار فرآیند فتوسنتز و افزایش آسیب اکسیداتیو در گیاهان شود. بنابراین تنظیم میزان پراکسید هیدروژن در گیاه بسیار ضروری است (Yao et al., 2010; Roychoudhury and Ghosh, 2013). نتایج مطالعه حاضر افزایش معنی داری را در میزان پراکسید هیدروژن در هر دو نوع نمک نشان داده است که این افزایش در گیاهان تحت تیمار نمک کلرید سدیم بالاتر بوده است که ممکن است به عدم توانایی



مهار رادیکال‌های آزاد و تبدیل آنها به پراکسید هیدروژن و فعال شدن سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی تحت تنش شوری نسبت داد.

سوپراکسید دیسموتاز یک آنزیم آنتی اکسیدان درون زا است که به عنوان اولین خط دفاعی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌کند. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز دارای توانایی مهار اکسیژن منفرد و تبدیل آن به پراکسید هیدروژن و اکسیژن است. آنزیم پراکسیداز نیز توانایی تجزیه پراکسید هیدروژن و تبدیل آن به آب و اکسیژن را دارد (Siddiqui et al., 2009; Zhang et al., 2013; Alagoz and Toorchi, 2018). همچنین سوپراکسید دیسموتاز یک متالوآنزیم است و از این رو برای فعالیت خود به یک کوفاکتور فلزی نیاز دارد. بر اساس نوع یون فلزی مورد نیاز به عنوان کوفاکتور، اشکال مختلفی از آنزیم سوپراکسید دیسموتاز وجود دارد (Dringen et al., 2005). یون‌های فلزی که معمولاً با سوپراکسید دیسموتاز همراه هستند عبارت از آهن، روی، مس و منگنز می‌باشند. بنابراین سوپراکسید دیسموتاز در انواع مختلفی وجود دارد (Gill and Tuteja, 2010; Karuppanapandian et al., 2011). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتازها در هر دو نوع نمک به طور معنی‌داری افزایش یافت. البته افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتازها در نمک کلرید سدیم محسوس تر بوده است. همانطور که گفته شد سوپراکسید دیسموتازها قادر به از بین بردن اثرات مضر گونه‌های فعال اکسیژن و تبدیل آنها به پراکسید هیدروژن و اکسیژن هستند. بنابراین افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز باعث افزایش میزان پراکسید هیدروژن در گیاه کلزا تحت تنش شوری نمک‌های کلرید سدیم و کلرید پتاسیم شده است. از طرفی دیگر در مطالعه حاضر، فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تنش شوری در نمک کلرید سدیم در غلظت‌های ۸۰ و ۱۶۰ میلی مولار افزایش یافته است که به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز جهت حذف پراکسید هیدروژن تولید شده توسط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد. درحالی‌که در غلظت‌های ۸۰ و ۱۶۰ میلی مولار کلرید پتاسیم میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به گیاه شاهد به صورت معنی‌دار تغییر نکرد که علت آن ممکن است سمیت بیشتر یون سدیم نسبت به پتاسیم باشد. همچنین کاهش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در غلظت ۲۴۰ میلی مولار نمک‌های کلرید سدیم و کلرید پتاسیم را می‌توان به اکسیداسیون گروه‌های سولفیدریل (SH) آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و غیرفعال شدن آنها به دلیل افزایش بیش از حد پراکسید هیدروژن نسبت داد. پلی فنل اکسیدازها آنزیم‌هایی هستند که تقریباً تمام فعالیت‌های پراکسیداز مانند محافظت در برابر بیماری، استرس و آفات را دارند (Singh et al., 1999). افزایش و کاهش فعالیت این آنزیم می‌تواند به ژنوتیپ، نوع تنش و کارایی آنزیم در شرایط تنش و سایر عوامل مختلف بستگی داشته باشد. گزارش‌های مختلفی از افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط استرس وجود دارد (Agarwal and Pandey, 2004). همچنین نشان داده شده است که فعالیت پلی فنل اکسیدازها با افزایش شدت تنش و آسیب‌های اکسیداتیو آن در نهال‌های کلزا افزایش می‌یابد (Baziar et al., 2015). در مطالعه حاضر نیز میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در گیاهان تیمار شده با شوری حاصل از نمک‌های کلرید سدیم و کلرید پتاسیم نسبت به گیاه شاهد به صورت معنی‌دار افزایش یافت.



منابع

- Abdelaal, K. A., Mazrou, Y. S., & Hafez, Y. M. (2020). Silicon foliar application mitigates salt stress in sweet pepper plants by enhancing water status, photosynthesis, antioxidant enzyme activity and fruit yield. *Plants*, 9(6): 733.
- Abdel-Farid, I. B., Kim, H. K., Choi, Y. H., & Verpoorte, R. (2007). Metabolic characterization of *Brassica rapa* leaves by NMR spectroscopy. *J. of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19): 7936-7943.
- Agarwal, S., & Pandey, V. (2004). Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 48(4): 555-560.
- Ahmadi, M.V. (1991). Botanical characterizations and some main principles in cultivation of Colza. *Zeitoon Mon. Mag.*, 104: 18-23.
- Alagoz, S. M., & Toorchi, M. A. H. M. O. U. D. (2018). An investigation of some key morpho-physiological attributes and leaf proteome profile in canola (*Brassica napus* L.) under salinity stress. *Pak. J. Bot*, 50(3): 847-852.
- Baziar, M., Bandehagh, A., & Faraj Zadeh, D. (2015). Evaluation of some antioxidant enzymes activities and metal ion accumulation in canola inoculated with *P. fluorescens* FY32 under salinity stress. *Journal of Crops Improvement*, 16(4): 897-910.
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44(1): 276-287.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2): 248-254.
- Bybordi, A. (2010). The influence of salt stress on seed germination, growth and yield of canola cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1): 128-133.
- Bybordi, A., Tabatabaei, S. J., & Ahmadev, A. (2010a). Effect of salinity on the growth and peroxidase and IAA oxidase activities in canola. *J Food Agric Environ*, 8(1): 109-112.
- Cuartero, J., Bolarin, M. C., Asins, M. J., & Moreno, V. (2006). Increasing salt tolerance in the tomato. *Journal of experimental botany*, 57(5): 1045-1058.
- Dringen, R., Pawlowski, P. G., & Hirrlinger, J. (2005). Peroxide detoxification by brain cells. *Journal of neuroscience research*, 79(1-2): 157-165.
- Egamberdieva, D., Wirth, S., Bellingrath-Kimura, S. D., Mishra, J., & Arora, N. K. (2019). Salt-tolerant plant growth promoting rhizobacteria for enhancing crop productivity of saline soils. *Frontiers in microbiology*, 10, 2791.
- El-Badri, A. M., Batool, M., AA Mohamed, I., Wang, Z., Khatab, A., Sherif, A., ... & Wang, B. (2021). Antioxidative and metabolic contribution to salinity stress responses in two rapeseed cultivars during the early seedling stage. *Antioxidants*, 10(8): 1227.
- Evans, W. C. (1989). Trease and Evans Pharmacog-nosy 13" ed. *ELBS Tindall, London*, 41.
- Gautam, S., & Singh, P. K. (2009). Salicylic acid-induced salinity tolerance in corn grown under NaCl stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31: 1185-1190.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12): 909-930.
- Govinda, A. S., Singh, A., & Jyoti, S. (2017). Modulation of antioxidant enzymes system by kinetin in salt stressed shoots of *Zea mays*. *International Research Journal of Pharmacy*, 8: 16-24.
- Hu-zhe, Z., Chun-lan, C. U. I., Yu-ting, Z., Dan, W. A. N. G., Yu, J. I. N. G., & Yong, K. K. (2005). Active changes of lignification-related enzymes in pepper response to *Glomus intraradices* and/or *Phytophthora capsici*. *Journal of Zhejiang University Science B*, 6(8): 778-786.
- Karuppanapandian, T., Moon, J. C., Kim, C., Manoharan, K., & Kim, W. (2011). Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Australian Journal of Crop Science*, 5(6): 709-725.
- Langridge, J. M., Ball, S. M., & Jones, R. L. (2006). A compact broadband cavity enhanced absorption spectrometer for detection of atmospheric NO₂ using light emitting diodes. *Analyst*, 131(8): 916-922.



- Malik, R. S. (1990). Prospects for *Brassica carinata* as an oilseed crop in India. *Experimental Agriculture*, 26(1): 125-129.
- Mozaffarian, V. (1996). A dictionary of Iranian plant names. *Tehran: Farhang Moaser*, 396(2), 396-398.
- Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist*, 167(3): 645-663.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22(5): 867-880.
- Othman, Y., Al-Karaki, G., Al-Tawaha, A. R., & Al-Horani, A. (2006). Variation in germination and ion uptake in barley genotypes under salinity conditions. *World The Journal of Agricultural Science*, 2(1), 11-15.
- Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3): 324-349.
- Purty, R. S., Kumar, G., Singla-Pareek, S. L., & Pareek, A. (2008). Towards salinity tolerance in Brassica: an overview. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 14: 39-49.
- Rakow, G. (2004). Species origin and economic importance of Brassica. In *Brassica*: Springer, Berlin, Heidelberg, 3-11.
- Roychoudhury, A., & Ghosh, S. (2013). Physiological and biochemical responses of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) to varying concentrations of cadmium chloride or sodium chloride. *Unique J. Pharm. Biol. Sci*, 1: 11-21.
- Saeidnia, S., & Gohari, A. R. (2012). Importance of *Brassica napus* as a medicinal food plant. *J. Med. Plants Res*, 6: 2700-2703.
- Sakr, M. T., El-Emery, M. E., Fouda, R. A., & Mowafy, M. A. (2007). Role of some antioxidants in alleviating soil salinity stress. *J Agric Sci Mansoura Univ*, 32: 9751-9763.
- Schmidt, R., & Bancroft, I. (2011). *Genetics and Genomics of the Brassicaceae* (Eds.) New York: Springer (pp. 585-596).
- Siddiqui, M. H., Mohammad, F., & Khan, M. N. (2009). Morphological and physio-biochemical characterization of *Brassica juncea* L. Czern. & Coss. genotypes under salt stress. *Journal of Plant Interactions*, 4(1): 67-80.
- Sinaki, J. M., Heravan, E. M., Rad, A. S., Noormohammadi, G. H., & Zarei, G. H. (2007). The effects of water deficit during growth stages of canola (*Brassica napus* L.): 417-422.
- Singh, N., Singh, R., Kaur, K., & Singh, H. (1999). Studies of the physico-chemical properties and polyphenoloxidase activity in seeds from hybrid sunflower (*Helianthus annuus*) varieties grown in India. *Food chemistry*, 66(2): 241-247.
- Taffouo, V. D., M. Kenne, O. Wamba-Fotsop, M. L. Sameza, M. Ndomou and A. Amougou (2006). Salinity effects on growth, ionic distribution and water content in salt-tolerant species *Gossypium hirsutum* (Malvaceae). *J. Cam. Acad. Sci*. 6:167-174.
- Tileuberdi, N., Turgumbayeva, A., Yeskaliyeva, B., Sarsenova, L., & Issayeva, R. (2022). Extraction, isolation of bioactive compounds and therapeutic potential of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Molecules*, 27(24): 8824.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. J. P. S. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant science*, 151(1): 59-66.
- Wangawang, T., Chuamnakthong, S., Kohnishi, E., Sripichitt, P., Sreewongchai, T., & Ueda, A. (2018). A salinity-tolerant japonica cultivar has Na⁺ exclusion mechanism at leaf sheaths through the function of a Na⁺ transporter Os HKT 1; 4 under salinity stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 204(3): 274-284.
- Weisiger, R. A., & Fridovich, I. (1973). Superoxide dismutase: organelle specificity. *Journal of Biological Chemistry*, 248(10): 3582-3592.
- Woodrow, P., Ciarmiello, L. F., Annunziata, M. G., Pacifico, S., Iannuzzi, F., Mirto, A., ... & Carillo, P. (2017). Durum wheat seedling responses to simultaneous high light and salinity involve a fine reconfiguration of amino acids and carbohydrate metabolism. *Physiologia Plantarum*, 159(3): 290-312.
- Yao, S., Chen, S., Xu, D., & Lan, H. (2010). Plant growth and responses of antioxidants of *Chenopodium album* to long-term NaCl and KCl stress. *Plant growth regulation*, 60: 115-125.



- Zadeh, H. M., & Naeini, M. B. (2007). Effects of salinity stress on the morphology and yield of two cultivars of canola (*Brassica napus* L.).
- Zargari A (2001). Medicinal Plants, Vol 1, 5th Edn. Tehran University Publications, Tehran.
- Zhang, L., Zhang, G., Wang, Y., Zhou, Z., Meng, Y., & Chen, B. (2013). Effect of soil salinity on physiological characteristics of functional leaves of cotton plants. *Journal of plant research*, 126: 293-304.



اثر تعدیلی پوترسین بر ویژگی های متابولیکی و فیزیولوژیکی گیاه آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) تحت تنش کم آبی

انسیه شاهرودی^۱، فاطمه زرین کمر^{۱*}

^{۱*} گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، شهر تهران (Zarinkamar@modares.ac.ir)

چکیده

گیاه آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Celak.) به عنوان یک گیاه بومی کشورمان ایران، دارای خواص دارویی، ضد میکروبی، آروماتیک و آنتی اکسیدان با ارزشی می باشد. از طرفی در دنیای امروز، به ویژه در منطقه ای که کشور ایران واقع شده است، تنش خشکی و کم آبی به عنوان یک چالش و معضل مطرح می باشد که بر رشد و محصول بسیاری از گیاهان تاثیر می گذارد. پلی آمین ها (به ویژه پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) در گیاهان دارای تاثیرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بسیاری می باشند و هم چنین در افزایش مقاومت گیاهان به تنش های مختلف نیز نقش مهمی دارند. در این پژوهش تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر برخی شاخص های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه آویشن دناپی بررسی گردید. بدین جهت ۲ سطح تنش کم آبی ملایم و شدید، و تیمار پوترسین ۰/۲ میلی مولار بر گیاهچه های ۶ هفته ای اعمال گردید و گیاهچه ها به مدت ۲۱ روز در شرایط مذکور قرار داشتند. نتایج نشان داد که تنش کم آبی شاخص های رشد گیاه را کاهش داد و تیمار پوترسین باعث افزایش شاخص های رشد شد. پوترسین برونزا با فعال کردن آنزیم های آنتی اکسیدان و افزایش محتوای آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی، تنش اکسیداتیو ایجاد شده در اثر تنش کم آبی را کاهش داد. نتیجه این امر کاهش محتوای هیدروژن پراکسید و مالون دی آلدئید بود. با توجه به نتایج مشاهده شده این طور به نظر می رسد که تیمار پوترسین، با بهبود رشد و سازوکارهای آنتی اکسیدان، باعث تعدیل اثرات نامطلوب تنش کم آبی می شود.

واژگان کلیدی: آویشن دناپی، پوترسین، تنش کم آبی



۱. مقدمه

کم آبی، یکی از تنش های غیرزیستی، باعث کاهش رشد و عملکرد گیاهان می شود (Gong et al., 2013). این تنش با تأثیر بر فرآیندهای مختلف بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مانند تنفس، انتقال مواد، فتوسنتز، جذب یون ها، متابولیسم مواد مغذی و قندها و فیتوهورمون ها، رشد گیاه را تحت تأثیر منفی قرار می دهد (Farooq et al., 2009). تنش کم آبی می تواند تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) را افزایش داده و منجر به اکسیداسیون و آسیب به بخش های مختلف سلول شود؛ بنابراین، کنترل غلظت ROS در شرایط تنش یک چالش محسوب می شود.

سازوکار دفاع آنتی اکسیدانی از طریق سرکوب مؤثر ROS و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، نقش مهمی در محافظت از گیاه در برابر تنش ایفا می کند. افزایش توانایی سازوکار دفاع آنتی اکسیدانی یکی از مهم ترین پاسخ های تطبیقی گیاهان به تنش اکسیداتیو است. سیستم آنتی اکسیدانی شامل گروهی از آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD) و همچنین آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی مانند ترکیبات فنولی، α -توکوفرول و فلاونوئیدها است (Fujita and Hasanuzzaman, 2022).

پلی آمین ها (PAs) ترکیباتی با وزن مولکولی پایین و دارای دو یا چند گروه آمینی هستند. این ترکیبات به طور گسترده ای در سلول های پروکاریوتی و یوکاریوتی حضور دارند. پوتریسین (Put)، اسپرمیدین (Spd) و اسپرمین (Spm) از مهم ترین پلی آمین های گیاهی محسوب می شوند که در تنظیم بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند رشد گل، اندام زایی و جنین زایی نقش دارند (Mustafavi et al., 2018).

همچنین، این ترکیبات در پاسخ به تنش های غیرزیستی مشارکت دارند. پوتریسین با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، تجمع ROS ناشی از تنش کم آبی را کاهش می دهد. کاربرد پوتریسین می تواند فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف را بهبود بخشد و میزان مواد تنظیم کننده اسمزی مانند پرولین و قندهای محلول کل را افزایش دهد. بنابراین، پلی آمین ها به دلیل تأثیر تحریک کننده ای که بر رشد و عملکرد دارند و همچنین اثرات ضدتنشی آن ها، به عنوان گروه جدیدی از تنظیم کننده های رشد گیاهی در نظر گرفته می شوند.

جنس *Thymus* از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است. گونه های آویشن به طور گسترده ای به عنوان گیاهان دارویی استفاده می شوند. چهار گونه از این جنس به عنوان گونه های بومی ایران شناخته شده اند که عمدتاً در رشته کوه های زاگرس رشد می کنند و آویشن دنايي (*Thymus daenensis*) یکی از آن ها است. این گیاه در بخشهایی از استانهای چهارمحال و بختیاری، فارس، همدان، مرکزی، ایلام، کهکلوئیه و بویراحمد (کوه دنا) در استان کردستان در شهرستانهای بیجار، کامیاران، دیواندره در شیب های شمال و شمال غربی رویش دارد (حسنی و جمال، ۲۰۰۴).

بخش های هوایی گونه های آویشن دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدنفخ، ضد میکروبی و گوارشی هستند (Nickavar et al., 2005; Pirbalouti & others, 2009). آویشن دنايي گیاهی چندساله است که در مناطق نیمه خشک ایران رشد می کند و تنش کم آبی باعث کاهش زیست توده در این گیاه می شود (Emami Bistgani et al., 2017).



این فرضیه مطرح شد که کاربرد پوترسین می تواند به عنوان یک روش مناسب برای بهبود تحمل به کم آبی در گیاه آویشن دناپی مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین، مجموعه ای از آزمایشات را برای شناسایی اثرات احتمالی پوترسین بر ویژگی های رشد، تجمع اسمولیت ها، و سیستم های آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی طراحی کردیم. در این مطالعه، سعی کردیم تأثیر پوترسین بر رشد و سازوکارهای تطبیقی گیاه آویشن دناپی تحت شرایط تنش کم آبی را بررسی کنیم.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. کشت گیاه و اعمال تنش کم آبی و تیمار پوترسین

بذرهای آویشن دناپی (*T. daenensis*) از مرکز تحقیقات، آموزش و منابع طبیعی اصفهان، ایران تهیه شدند. بذرها در گلدان های پلاستیکی حاوی پرلیت کشت شدند. گیاهان در دماهای متوسط روز/شب ۱۸/۲۵ درجه سانتی گراد در فیتوترون رشد داده شدند.

گلدان ها به مدت شش هفته با مقدار مساوی از محلول هوگلند نیمه غلظت آبیاری شدند. تنش کم آبی ملایم با استفاده از پلی اتیلن گلیکول (PEG) محلول در هوگلند با غلظت ۷/۵٪ و تنش شدید با غلظت ۱۵٪ وزنی - حجمی اعمال شد. جهت اعمال تیمار پوترسین، پوترسین ۰/۲ میلی مولار محلول در آب مقطر به سرشاخه ها اسپری شد. از اسپری آب مقطر جهت اعمال پوترسین استفاده شد.

در هر نوبت، ۱۰۰ میلی لیتر محلول هوگلند نیمه غلظت حاوی PEG به هر گلدان داده شد و ۱۰ میلی لیتر محلول پوترسین با استفاده از اسپری به طور یکنواخت روی گیاهان اسپری شد. هر تیمار در سه تکرار انجام شد. سه هفته پس از تیمار، گیاهان برای تجزیه و تحلیل در تمام آزمایش ها جمع آوری شدند.

۲-۲. پارامترهای رشد گیاه و رنگدانه های فتوسنتزی

برای تعیین وزن تر، نمونه های ریشه و ساقه بلافاصله پس از برداشت وزن شدند و وزن خشک پس از خشک شدن در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت اندازه گیری شد.

مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در بخش هوایی تازه گیاه با استفاده از روش آرنون (Arnon, 1949) برآورد شد. برای این منظور، ۰/۱ گرم از بافت تازه گیاه با استفاده از هاون و دسته هاون در استون ۸۰٪ استخراج شد. جذب نوری محلول در طول موج های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. میزان رنگدانه های فتوسنتزی بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر ($\text{mg. g}^{-1} \text{FW}$) بیان شد (Arnon, 1949).

۲-۳. پرولین

برای اندازه گیری پرولین، ۰/۱ گرم از بافت ساقه در اسید سولفوسالسیلیک همگن سازی و سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی با نین هیدرین و اسید استیک مخلوط و در دمای ۱۰۰ درجه جوشانده شد. جذب نوری در ۵۲۰ نانومتر ثبت شده و غلظت پرولین از منحنی استاندارد تعیین شد (Bates et al., 1973).



۲-۴. نشانگرهای تنش

مقدار هیدروژن پراکسید (H_2O_2) با روش (Velikova et al., 2000) اندازه گیری شد. ۰/۲ گرم ساقه در ۲/۵ میلی لیتر TCA ۰/۱٪ همگن سازی و پس از سانتیفریوژ، محلول رویی با بافر فسفات پتاسیم و یدید پتاسیم مخلوط شد. سپس جذب نوری در ۳۹۰ نانومتر ثبت و مقدار H_2O_2 بر اساس منحنی استاندارد محاسبه شد. برای تعیین مالون دی آلدئید (MDA)، ۰.۵ گرم ساقه در TCA ۰/۱٪ همگن سازی و سانتیفریوژ شد. محلول رویی با اسید تیوباربیتوریک ترکیب، حرارت داده شد و جذب نوری در ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر اندازه گیری گردید (Heath & Packer, 1968).

۲-۵. آنزیمهای آنتی اکسیدان

برای تعیین فعالیت آنزیمها، ۰.۵ گرم از بخش هوایی گیاه در Tris-HCl ۱ مولار، (pH=6.8) همگن سازی و پس از سانتیفریوژ در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. مقدار پروتئین کل با روش (Bradford, 1976) اندازه گیری شد. فعالیت SOD بر اساس روش (Giannopolitis & Ries, 1977) با بررسی جذب نوری در ۵۶۰ نانومتر تعیین شد. فعالیت CAT با کاهش جذب H_2O_2 در ۲۴۰ نانومتر (Chaoui et al., 1997) و فعالیت POD با جذب در ۵۳۰ نانومتر (Abeles & Biles, 1991) ارزیابی شد. هم چنین فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در طول موج ۲۴۰ نانومتر ثبت شد (Raymond et al., 1993).

۲-۶. آنتی اکسیدانهای غیر آنزیمی

برای اندازه گیری محتوای تام فنولها و فلاونوئیدها، ۰/۱ گرم از بافت ساقه در مخلوط متانول-اسید استیک همگن شده و به مدت ۲۰ دقیقه سانتیفریوژ شد. برای تعیین محتوای فنول، عصاره با معرف فولین-سیوکالتو مخلوط و جذب نوری در ۷۶۵ نانومتر اندازه گیری شد (Conde et al., 1995). فلاونوئیدها با متانول-اسید کلریدریک استخراج شده و جذب نوری در ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر ثبت شد (Krizek et al., 1998). محتوای آنتوسیانین نیز با استفاده از متانول اسیدی شده استخراج شده و جذب نوری در ۵۵۰ نانومتر اندازه گیری شد و محتوای این ترکیبات با استفاده از ضریب خاموشی با استفاده از ضریب خاموشی $33000 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ (Wagner, 1979) محاسبه شد.

۲-۷. اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی کل با استفاده از DPPH

برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی کل با DPPH، ۰/۱ گرم از بافت تر در اتانول ۹۶ درصد ساییده و سپس سانتیفریوژ شد. ۲۰ میکرولیتر از محلول رویی با ۸۰۰ میکرولیتر DPPH ۰/۵ میلی مولار مخلوط شده و نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند. جذب نوری در ۵۱۷ نانومتر ثبت شد و ظرفیت تخریب رادیکالها با افتاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$I (\%) = [(Absorbance \text{ of control} - Absorbance \text{ of sample}) / (Absorbance \text{ of control})] * 100$$

۲-۸. سنجش فعالیت آنزیمهای فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL) و تیروزین آمونیا لایز (TAL)



برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های PAL و TAL از روش (Berner et al., 2006) استفاده شد. برای PAL، ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی با بافر بوریک اسید و L-فنیل آلانین مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. جذب در ۲۹۰ نانومتر اندازه گیری شد و غلظت سینامیک اسید تولید شده محاسبه شد. برای TAL، ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی با بافر بوریک اسید و L-تیروزین مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. جذب در ۳۱۰ نانومتر خوانده و فعالیت آنزیم بر اساس منحنی استاندارد رسم شده بر اساس غلظت های مختلف پارا-کوماریک اسید محاسبه شد.

۲-۹. تجزیه و تحلیل آماری

طرح آزمایش، فاکتوریل به صورت بلوک کاملاً تصادفی (CRD) بوده است. کلیه آزمایش ها با سه تکرار مستقل انجام شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار SPSS (ورژن ۲۷) و آزمون دانکن جهت تعیین معنی دار بودن تفاوت ها در سطح $P \leq 0.05$ انجام گرفت.

۳. نتایج

۳-۱. اثر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر شاخص های رشد گیاه آویشن دناپی

تنش کم آبی باعث کاهش وزن تر سرشاخه و ریشه آویشن دناپی شد و با افزایش شدت تنش، این کاهش معنی دارتر گردید. تیمار پوترسین در شرایط بدون تنش و تنش ملایم و شدید، وزن تر سرشاخه را به طور معنی داری افزایش داد. بیشترین وزن تر سرشاخه و ریشه در گیاهان تیمار شده با پوترسین و تنش ملایم مشاهده شد، در حالی که کمترین مقدار در تنش شدید ثبت گردید (جدول ۱). طول سرشاخه در تنش ملایم افزایش یافت اما با شدت گرفتن تنش، کاهش پیدا کرد. تیمار پوترسین همواره موجب افزایش طول سرشاخه شد. همچنین، با افزایش شدت تنش، طول ریشه افزایش یافت. در شرایط بدون تنش و تنش ملایم، پوترسین باعث افزایش طول ریشه شد، اما در تنش شدید، این تأثیر مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱: اثر مختلف تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر شاخص های رشد گیاه آویشن دناپی. داده ها میانگین سه تکرار و حروف مختلف معرف تفاوت معنی داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

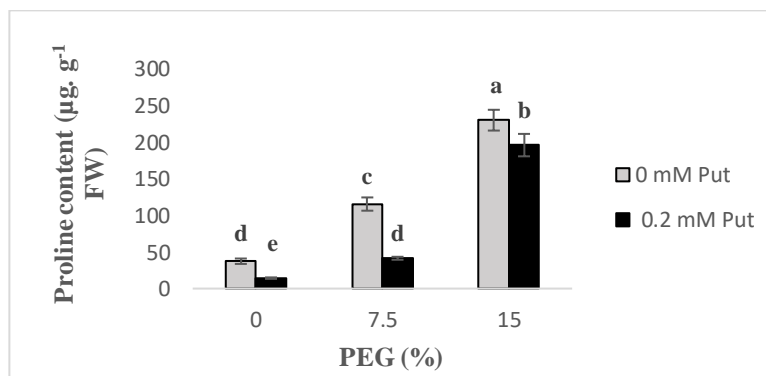
تیمار	وزن تر سرشاخه (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک سرشاخه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	طول سرشاخه (سانتی متر)	طول ریشه (سانتی متر)
شاهد	0.1679 ± 0.0046^b	0.124 ± 0.0019^d	0.182 ± 0.0028^c	0.025 ± 0.0004^b	10.200 ± 0.5859^c	6.8667 ± 0.2333^d
۰.۲ mM Put	0.2393 ± 0.0050^a	0.0417 ± 0.0011^b	0.0273 ± 0.0016^b	0.0036 ± 0.0003^a	16.800 ± 0.2517^a	10.8665 ± 0.5291^b



۹/۴۵±۰/۰۰۴۶ ^c	۱۵/۱۹۶۷±۰/۱۵۷۸ ^c	۰/۰۰۱۹±۰/۰۰۴۶ ^d	۰/۰۱۷۰±۰/۰۰۳۲ ^d	۰/۰۱۰۹±۰/۰۰۳۶ ^e	۰/۰۹۲۹±۰/۰۰۹۳ ^e	کم آبی ملایم
۱۲/۳۶±۰/۰۰۴۶ ^a	۱۵/۰۳۶۷±۰/۲۵۷۸ ^d	۰/۰۰۲۱±۰/۰۰۴۶ ^c	۰/۰۳۰۱±۰/۰۰۳۰ ^a	۰/۱۱۵۳±۰/۰۰۲۷ ^a	۰/۱۰۶۸±۰/۰۰۲۸ ^d	کم آبی ملایم ۰/۲ mM + Put
۱۲/۶۳۳۳±۰/۴۴۰۹ ^a	۷/۹۰۰۰±۰/۴۹۳۳ ^f	۰/۰۰۱۲±۰/۰۰۱۴ ^e	۰/۰۱۰۵±۰/۰۰۰۶ ^f	۰/۰۰۸۴±۰/۰۰۰۹ ^f	۰/۰۴۷۲±۰/۰۰۰۶ ^f	کم آبی شدید
۱۲/۳۳۰۰±۰/۶۶۶۷ ^a	۱۶/۵۰۰۰±۰/۶۹۲۸ ^b	۰/۰۰۱۸±۰/۰۰۱۶ ^d	۰/۰۱۱۴±۰/۰۰۲۷ ^c	۰/۰۲۰۹±۰/۰۰۰۳ ^c	۰/۱۵۷۰±۰/۰۰۳۴ ^c	کم آبی شدید ۰/۲ mM + Put

۳-۲. پرولین

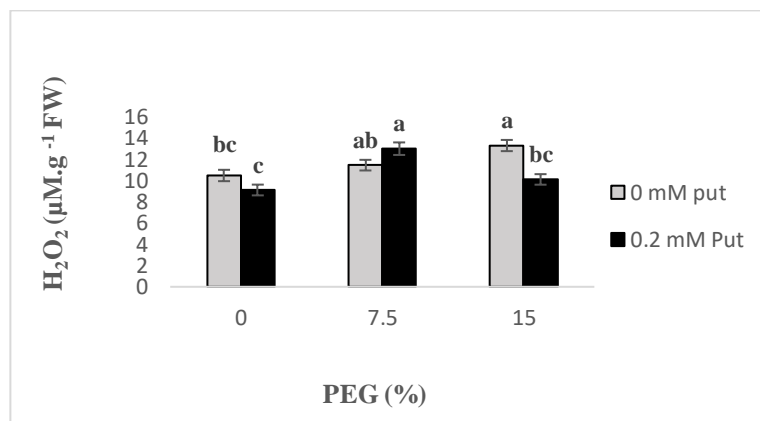
محتوای پرولین در شرایط تنش کم آبی ملایم در مقایسه با گیاهان شاهد ۳/۱ و در تنش کم آبی شدید ۶/۲۱ برابر شد. تیمار با پوترسین باعث کاهش محتوای پرولین شد، به طوری که در گیاهان بدون تنش، گیاهان تحت تنش ملایم و تحت تنش شدید به ترتیب باعث کاهش ۶۲/۱، ۶۴/۳ و ۱۴/۷ درصدی محتوای پرولین شد (شکل ۱).



شکل ۱: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر محتوای پرولین در گیاه آویشن دناپی. داده‌ها میانگین سه تکرار، میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد و حروف مختلف معرف تفاوت معنی‌داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

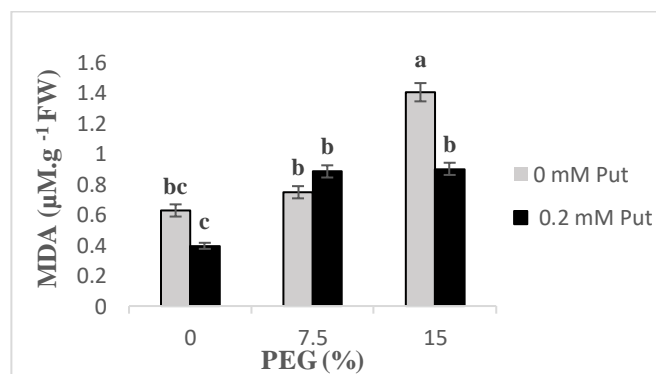
۳-۳. شاخص‌های تنش

تنش کم آبی شدید، باعث افزایش ۲۶/۶۶ درصدی H_2O_2 در مقایسه با گیاهان شاهد گردید. در این تنش، اعمال پوترسین برون‌زا، سطح هیدروژن پراکسید را ۲۳/۹۸ درصد کاهش داد. تنش کم آبی ملایم، تاثیر معنی‌داری بر سطح H_2O_2 نداشت. هم‌چنین پوترسین در گیاهان بدون تنش و تحت تنش ملایم تاثیر معناداری بر سطح H_2O_2 نداشت. کم‌ترین سطح H_2O_2 در گیاهان بدون تنش و تحت تیمار پوترسین و بیش‌ترین سطح H_2O_2 در گیاهان تحت تنش کم آبی شدید مشاهده گردید (شکل ۲).



شکل ۲: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر محتوای هیدروژن پراکسید در گیاه آویشن دناپی. داده‌ها میانگین سه تکرار، میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد و حروف مختلف معرف تفاوت معنی‌داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

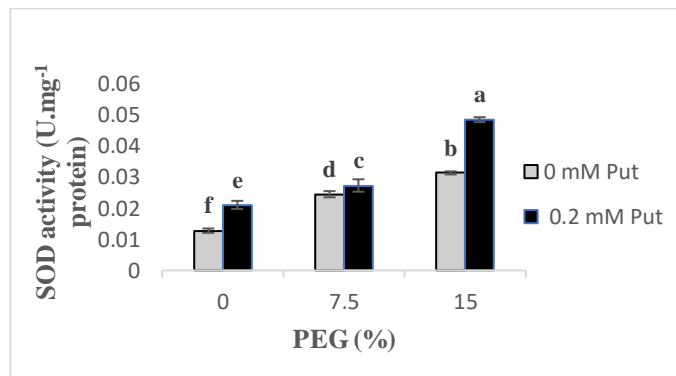
سطح MDA، با تنش کم آبی ملایم، در مقایسه با گیاهان شاهد تغییر معناداری نداشت. تنش کم آبی شدید باعث افزایش ۱۲۵/۸ درصدی MDA گردید. در گیاهان تحت این تنش، پوترسین سطح MDA را ۳۵/۷ درصد کاهش داد. پوترسین بر محتوای MDA در گیاهان بدون تنش و تحت تنش ملایم تاثیر معناداری نداشت کم‌ترین سطح MDA در گیاهان بدون تنش و تحت تیمار پوترسین دیده شد (شکل ۳).



شکل ۳: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر محتوای مالون دی آلدید در گیاه آویشن دناپی. داده‌ها میانگین سه تکرار، میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد و حروف مختلف معرف تفاوت معنی‌داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

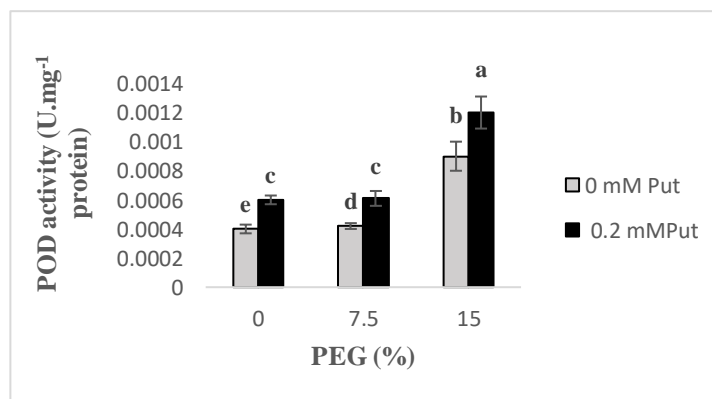
۳-۴. آنزیم‌های آنتی اکسیدان

تنش کم آبی ملایم و شدید در مقایسه با گیاهان شاهد به ترتیب باعث افزایش ۹۱/۴ و ۱۴۵/۳ درصدی فعالیت SOD گردیدند. پوترسین باعث افزایش معنادار فعالیت SOD گردید. به طوری که در گیاهان تنش ندیده و تحت تنش کم آبی ملایم و شدید به ترتیب باعث افزایش ۶۴/۸۴، ۱۱/۴ و ۵۴/۴ درصدی فعالیت SOD گردید. کم‌ترین فعالیت این آنزیم در گیاهان شاهد و بیش‌ترین فعالیت آن در گیاهان تحت تنش کم آبی شدید تیمار شده با پوترسین مشاهده شد (شکل ۴).



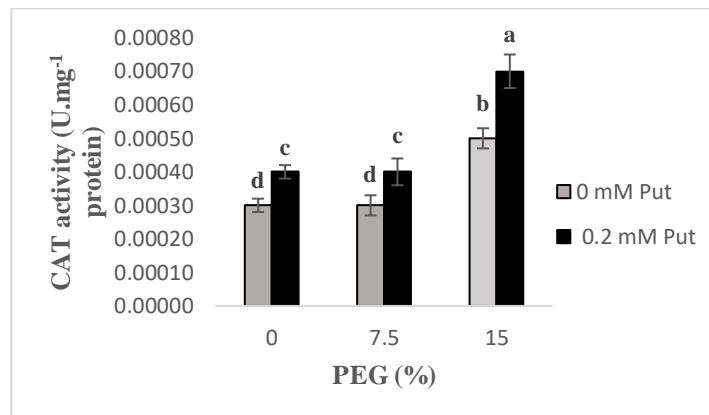
شکل ۴: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه آویشن دناپی. داده‌ها میانگین سه تکرار، میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد و حروف مختلف معرف تفاوت معنی‌داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

فعالیت پراکسیداز در تنش کم آبی ملایم و شدید به ترتیب ۵ و ۱۲۵ درصد افزایش یافت. در گیاهان بدون تنش، پوترسین باعث افزایش ۵۰ درصدی فعالیت پراکسیداز گردید. در گیاهان تحت تنش ملایم و شدید پوترسین باعث به ترتیب باعث افزایش ۴۵/۲ و ۳۳/۳ درصدی فعالیت پراکسیداز گردید. بیش‌ترین فعالیت این آنزیم در گیاهان تحت تنش کم آبی شدید و تیمار شده با پوترسین، و کم‌ترین فعالیت در گیاهان شاهد ثبت گردید (شکل ۵).



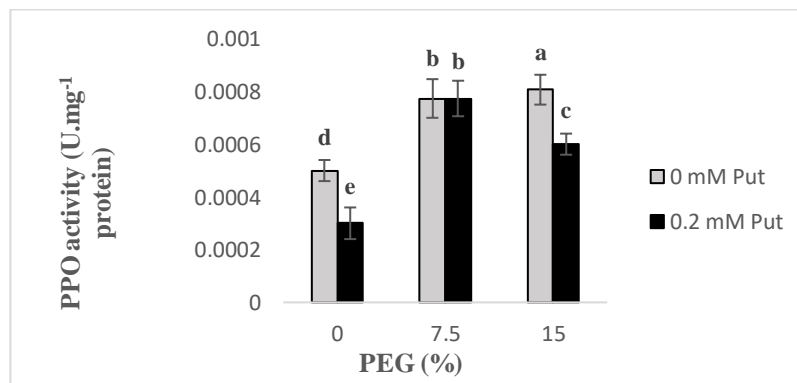
شکل ۵: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه آویشن دناپی. داده‌ها میانگین سه تکرار، میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد و حروف مختلف معرف تفاوت معنی‌داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

فعالیت آنزیم کاتالاز در تنش کم آبی ملایم تغییر معناداری نداشت و در تنش کم آبی شدید ۲۵ درصد افزایش داشت. پوترسین باعث افزایش فعالیت این آنزیم شد. به طوری که در گیاهان بدون تنش، و تحت تنش ملایم باعث افزایش ۳۳/۳ درصدی و در تنش کم آبی شدید باعث افزایش ۴۰ درصدی فعالیت این آنزیم شد. بیش‌ترین فعالیت این آنزیم در گیاهان تحت تنش کم آبی شدید و تیمار پوترسین و کم‌ترین فعالیت آن در گیاهان شاهد و گیاهان تحت تنش کم آبی ملایم مشاهده شد (شکل ۶).



شکل ۶: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه آویشن دنایی. داده‌ها میانگین سه تکرار، میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد و حروف مختلف معرف تفاوت معنی‌داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

پوترسین در گیاهان بدون تنش و تنش کم آبی شدید باعث کاهش فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز به ترتیب به میزان ۴۰ و ۲۵ درصد گردید. اما در گیاهان تحت تنش ملایم تاثیری بر فعالیت این آنزیم نداشت. تنش کم آبی ملایم و شدید به ترتیب باعث افزایش ۵۴ و ۶۰ درصدی فعالیت این آنزیم شد. بیشترین فعالیت این آنزیم در گیاهان تحت تنش کم آبی شدید و کمترین فعالیت آن در گیاهان بدون تنش تیمار شده با پوترسین مشاهده شد (شکل ۷).

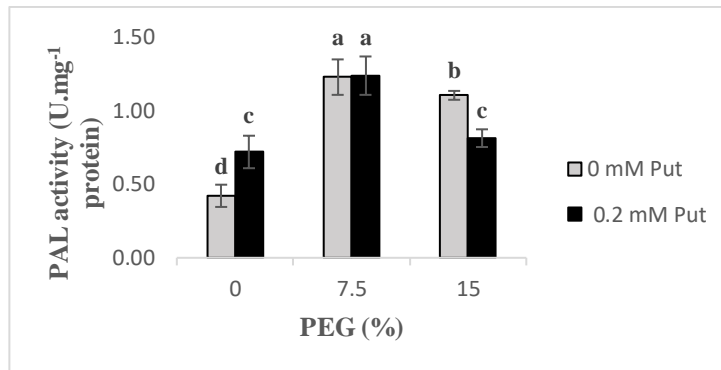


شکل ۷: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در گیاه آویشن دنایی. داده‌ها میانگین سه تکرار، میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد و حروف مختلف معرف تفاوت معنی‌داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

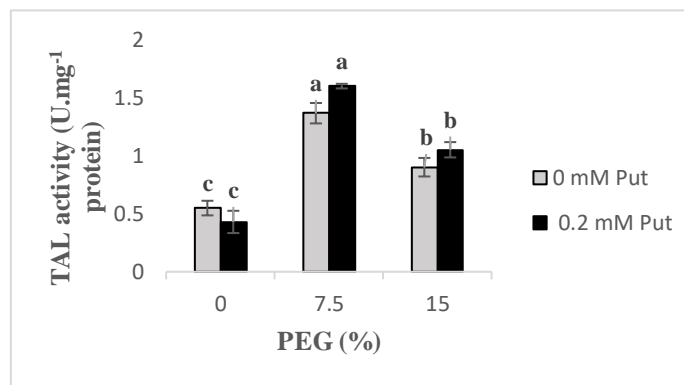
۳-۵. اثر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر فعالیت آنزیم‌های PAL و TAL

فعالیت آنزیم PAL در تنش کم آبی ملایم و شدید به ترتیب ۱۹۰ و ۱۶۱ درصد افزایش یافت. تیمار پوترسین در گیاهان بدون تنش باعث افزایش ۷۱/۴ درصدی فعالیت این آنزیم شد (شکل ۸). این تیمار در گیاهان تحت تنش کم آبی ملایم تاثیر معناداری بر فعالیت این آنزیم نداشت و در گیاهان تحت تنش شدید باعث کاهش ۲۶/۳ درصدی فعالیت آنزیم PAL شد. بیشینه و کمینه فعالیت این آنزیم به ترتیب در گیاهان تحت تنش کم آبی شدید و گیاهان شاهد مشاهده شد (شکل ۸). فعالیت آنزیم PAL و TAL در تنش کم آبی ملایم به ترتیب ۱۹۰ و ۱۴۹ درصد افزایش یافت. تنش کم آبی شدید باعث افزایش ۱۶۱

درصدی فعالیت PAL و ۶۳ درصدی فعالیت TAL گردید. فعالیت هر دو آنزیم در تنش کم آبی شدید در مقایسه با تنش کم آبی ملایم کاهش یافت. پوترسین در گیاهان تنش ندیده باعث افزایش ۷۱ درصدی فعالیت PAL گردید، اما بر فعالیت آنزیم TAL بی تاثیر بود. هم چنین این تیمار بر فعالیت آنزیم PAL و TAL در گیاهان تحت تنش ملایم تاثیر معناداری نداشت و در کم آبی شدید باعث کاهش فعالیت PAL گردید (شکل ۸) و بر فعالیت آنزیم TAL بی تاثیر بود (شکل ۹).



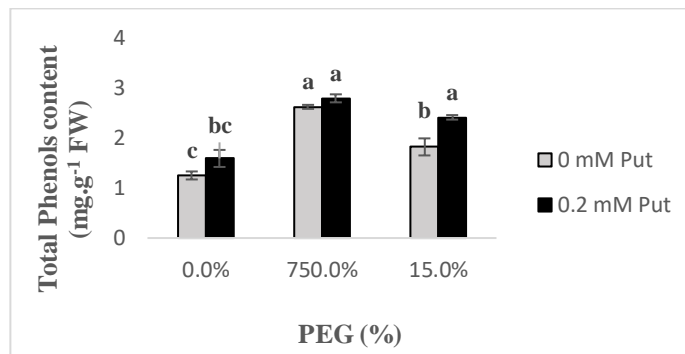
شکل ۸: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز در گیاه آویشن دناپی. داده ها میانگین سه تکرار، میله های عمودی نشان دهنده انحراف استاندارد و حروف مختلف معرف تفاوت معنی داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.



شکل ۹: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر فعالیت آنزیم تیروزین آمونیاز در گیاه آویشن دناپی. داده ها میانگین سه تکرار، میله های عمودی نشان دهنده انحراف استاندارد و حروف مختلف معرف تفاوت معنی داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

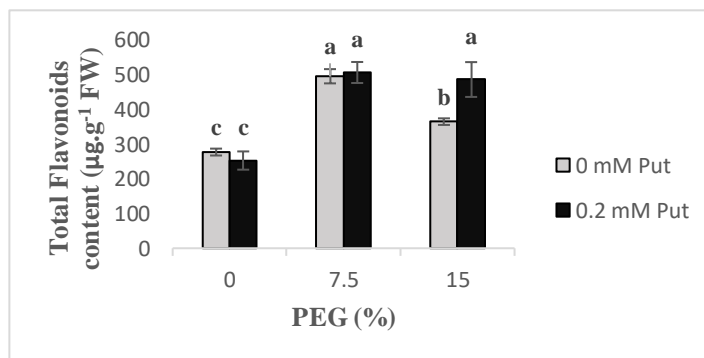
۳-۶. اثر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر اثر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر محتوای تام فنول ها و فلاونوئیدها

محتوای فنول تام در تنش کم آبی ملایم و شدید در مقایسه با گیاهان شاهد به ترتیب ۱۰۹/۶ و ۴۵/۶ درصد افزایش یافت. پوترسین باعث افزایش محتوای فنول تام در گیاهان تحت تنش کم آبی شدید به میزان ۳۲/۴ درصد گردید. اما در گیاهان تحت تنش ملایم و گیاهان بدون تنش بی تاثیر بود (شکل ۱۰).



شکل ۱۰: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر محتوای تام فنولها در گیاه آویشن دنايي. داده ها میانگین سه تکرار، میله های عمودی نشان دهنده انحراف استاندارد و حروف مختلف معرف تفاوت معنی داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

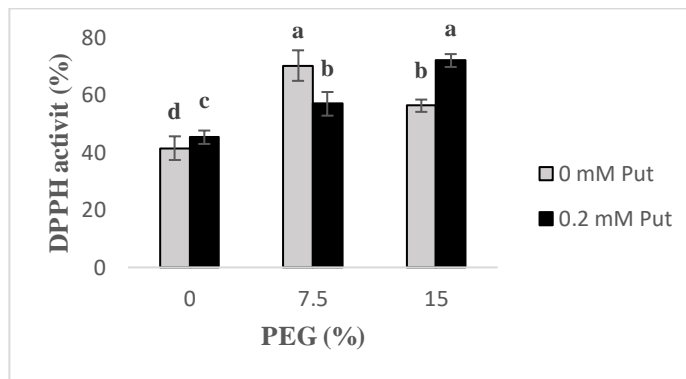
محتوای فلاونوئید تام در گیاهان تحت تنش ملایم و شدید در مقایسه با شاهد به ترتیب ۷۸/۸۳ و ۳۱/۶ درصد افزایش داشت. محتوای فلاونوئید تام در گیاهان تحت تنش شدید در مقایسه با تحت تنش ملایم ۲۶ درصد کم تر بود. پوترسین باعث افزایش این محتوا در گیاهان تحت تنش شدید به میزان ۳۳/۲۷ درصد گردید (شکل ۱۱).



شکل ۱۱: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر محتوای فلاونوئید تام در گیاه آویشن دنايي. داده ها میانگین سه تکرار، میله های عمودی نشان دهنده انحراف استاندارد و حروف مختلف معرف تفاوت معنی داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

۳-۷. اثر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر فعالیت آنتی اکسیدانی کل با استفاده از DPPH

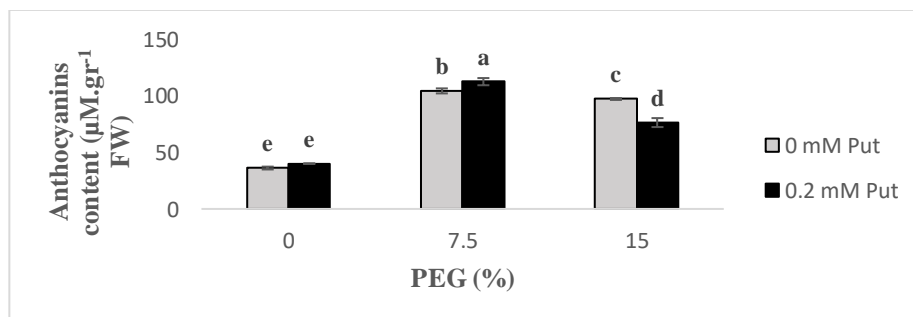
تیمار پوترسین باعث افزایش ۹/۱ درصدی فعالیت آنتی اکسیدانی کل با استفاده از DPPH در گیاهان بدون تنش شد. تنش کم آبی ملایم و شدید به ترتیب باعث افزایش ۶۹/۲ و ۳۵/۵ درصدی این فعالیت گردید. تیمار پوترسین ظرفیت آنتی اکسیدانی کل را در گیاهان تحت تنش ملایم ۱۸/۹ درصد کاهش و در گیاهان تحت تنش کم آبی شدید ۲۷/۹ درصد افزایش داد. بیش ترین فعالیت آنتی اکسیدانی کل در گیاهان تحت تنش کم آبی شدید تیمار شده با پوترسین و کم ترین میزان آن در گیاهان شاهد مشاهده شد (شکل ۱۲).



شکل ۱۲: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر فعالیت آنٹی اکسیدانی کل با استفاده از DPPH در گیاه آویشن دنايي. داده‌ها میانگین سه تکرار، میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد و حروف مختلف معرف تفاوت معنی‌داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

۳-۸. اثر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر محتوای آنتوسیانین‌ها

محتوای آنتوسیانین در گیاهان تحت تنش کم آبی ملایم و شدید به ترتیب ۱۸۸/۷۱ و ۱۶۸/۹۳ درصد افزایش یافت. پوترسین بر محتوای آنتوسیانین گیاهان بدون تنش بی تاثیر بود و محتوای آنتوسیانین گیاهان تحت تنش کم آبی ملایم را ۷/۸ درصد افزایش و تحت تنش شدید را ۲۱/۴ درصد کاهش داد. بیشینه محتوای آنتوسیانین در گیاهان تحت تنش کم آبی ملایم و تیمار پوترسین و کمینه محتوای آن در گیاهان تحت تنش کم آبی شدید و تیمار پوترسین مشاهده شد (شکل ۱۳).



شکل ۱۳: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر محتوای آنتوسیانین در گیاه آویشن دنايي. داده‌ها میانگین سه تکرار، میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد و حروف مختلف معرف تفاوت معنی‌داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

۳-۹. اثر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر محتوای رنگه‌های فتوستیزی گیاه آویشن دنايي

محتوای کلروفیل a، با تنش کم آبی به طور معنی‌داری کاهش یافت. پوترسین در گیاهان تحت تنش کم آبی ملایم و در گیاهان تنش ندیده، بر میزان کلروفیل a، تاثیر افزایشی داشت. اما در گیاهان تحت تنش شدید، بر محتوای آن تاثیر معنی‌داری نداشت. محتوای کلروفیل b، با تنش کم آبی افزایش یافت و در همه گیاهان تحت تنش و تنش ندیده، پوترسین باعث افزایش کلروفیل b گردید. نسبت کلروفیل a به کلروفیل b، با تنش کم آبی کاهش یافت. تیمار پوترسین در گیاهان تحت تنش شدید و گیاهان تنش ندیده، باعث کاهش این نسبت شد. اما در گیاهان تحت تنش ملایم این نسبت را افزایش داد. بیش‌ترین میزان این نسبت در گیاهان شاهد و کم‌ترین میزان در گیاهان تحت تنش کم آبی شدید و تیمار شده با پوترسین مشاهده شد.

تنش کم آبی میزان کاروتنوئیدها را افزایش داد. محتوای کاروتنوئیدها در نمونه‌های تحت تنش شدید بیش تر از نمونه‌های تحت تنش ملایم بود. پوترسین همواره باعث افزایش کاروتنوئیدها گردید (جدول ۲).

جدول ۲: تاثیر تنش کم آبی و تیمار پوترسین بر محتوای رنگبره‌های فتوسنتزی در گیاه آویشن دناپی. داده‌ها میانگین سه تکرار و حروف مختلف معرف تفاوت معنی داری در سطح ($P \leq 0.05$) است.

تیمار	کلروفیل a (mg.g ⁻¹ FW)	کلروفیل b (mg.g ⁻¹ FW)	کلروفیل تام (mg.g ⁻¹ FW)	کلروفیل a/b (mg.g ⁻¹ FW)	کاروتنوئیدها (mg.g ⁻¹ FW)
شاهد	۱/۴۳۰۴±۰/۰۸۰۵ ^c	۰/۲۵۷۲±۰/۰۸۴۰ ^f	۱/۶۸۶۷±۰/۹۶۶۷ ^e	۵/۵۶۱۴±۲/۲۵۸۸ ^a	۰/۲۰۰۰±۰/۰۶۸۸ ^f
Put ۰/۲ mM	۱/۷۳۵۰±۰/۰۳۴۰ ^a	۰/۳۷۰۵±۰/۰۳۵۵ ^e	۲/۱۰۶۷±۰/۶۱۷۳ ^c	۴/۶۸۲۸±۰/۶۱۳۵ ^b	۰/۲۹۹۷±۰/۰۲۰۴ ^c
کم آبی ملایم	۱/۳۹۲۰±۰/۰۳۴۰ ^d	۱/۴۱۰۹±۰/۱۵۸۹ ^d	۲/۸۰۲۹±۰/۰۴۵۸ ^a	۰/۹۸۶۶±۰/۰۳۶۹ ^d	۰/۲۴۸۰±۰/۰۱۴۵ ^e
کم آبی ملایم + Put ۰/۲ mM	۱/۶۵۰۰±۰/۰۳۴۰ ^b	۰/۴۸۱۲±۰/۰۹۵۴ ^c	۲/۱۳۱۲±۰/۰۴۳۶ ^b	۳/۴۲۸۹±۰/۱۲۵ ^c	۰/۲۶۷±۰/۰۳۶۵ ^d
کم آبی شدید	۰/۴۷۳۲±۰/۰۸۳۵ ^e	۰/۷۹۷۸±۰/۰۱۹۴ ^b	۱/۲۷۰۰±۰/۰۴۰۰ ^f	۰/۵۹۳۱±۰/۰۶۰۴ ^d	۰/۴۰۰۲±۰/۰۲۴۹ ^b
کم آبی شدید + Put ۰/۲ mM	۰/۱۶۱۹±۰/۰۱۰۶۷ ^f	۰/۵۶۶۹±۰/۰۵۸۰ ^a	۱/۷۳۳۷±۰/۷۲۶۵ ^d	۰/۲۸۵۵±۰/۰۲۰۳۴ ^e	۰/۴۸۸۳±۰/۰۴۷۹ ^a

۴. بحث و نتیجه گیری

تنش کم آبی موجب کاهش وزن تر ریشه و سرشاخه گیاه شده که احتمالاً به دلیل کاهش فتوسنتز و کلروفیل است (Viera et al., 1991). این تنش فرآیندهای متابولیکی مانند تنفس و تعرق را مختل کرده و در گیاهانی چون مریم گلی و نعناع ژاپنی باعث کاهش رشد ریشه و سرشاخه شده است (Bettaieb et al., 2009; Bruneton & others, 1995). پوترسین تأثیر مثبتی بر رشد گیاهان تحت تنش داشته که به نقش آن در تنظیم مسیرهای هورمونی، بهبود اسمز و پاک سازی رادیکال‌های آزاد مرتبط است (Alcázar et al., 2010; Velikova et al., 2000). همچنین با افزایش انتقال مواد در فلوئم و تحریک تولید ATP، رشد ریشه را افزایش داده است (Ioannidis & Kotzabasis, 2007). تنش کم آبی موجب کاهش کلروفیل a و افزایش کلروفیل b شده که احتمالاً نقش حفاظتی در فتوسنتز دارد (Lelandais & Kunert, 1994). اسپری پوترسین باعث افزایش کلروفیل در گیاهان شده که به اثر آن در حفاظت از غشاهای تیلاکوئیدی و کاهش فعالیت پروتئاز مرتبط است (Besford et al., 1993; Michel & Kaufmann, 1973). همچنین، تنش کم آبی منجر به افزایش کاروتنوئیدها و آنتوسیانین‌ها برای مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن شده است (Farooq et al., 2009; Zhang et al., 2010). تیمار پوترسین میزان این رنگبره‌ها را افزایش داده که مشابه تأثیر آن در گیاهان داوودی، شب بو و پیروش گزارش شده است (Talaat et al., 2005).

تنش کم آبی سطح پرولین را افزایش داده که نقش مهمی در حفظ تعادل اسمزی و حفاظت از پروتئین‌ها دارد (Sadiqov et al., 2002). این افزایش به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های سنتزکننده مانند گلوتامات ردوکتاز و کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده نظیر پرولین اکسیداز بوده (Fujita et al., 2003; Sharma et al., 2011). تیمار پوترسین در برخی گونه‌ها پرولین را کاهش داده که نشان‌دهنده تفاوت اثر آن در گیاهان مختلف است (Mustafavi et al., 2018).

مقدار H_2O_2 در تنش شدید افزایش یافت که در تنظیم دفاع گیاهی و پاسخ‌های بیوشیمیایی نقش دارد، اما تولید بیش از حد آن منجر به آسیب اکسیداتیو می‌شود (Ellouzi et al., 2017). پوترسین باعث کاهش H_2O_2 شده که احتمالاً به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تعدیل تعادل ردوکس است (Asgher et al., 2021).

در نهایت، تنش کم آبی منجر به افزایش MDA (شاخص پراکسیداسیون لیپید) شده که نشان‌دهنده آسیب غشایی است. پوترسین میزان MDA را کاهش داده که با یافته‌های پیشین در مورد نقش آن در بهبود مقاومت گیاهان همخوانی دارد (Islam et al., 2003).

منابع

- حسینی و جمال. ۲۰۰۴. شناسایی و بررسی اکولوژیکی دو جنس از گیاهان معطر (Thymus, Ziziphora) در استان کردستان. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۰ (۱): ۱-۱۸.
- Abeles, F. B., & Biles, C. L. (1991). Characterization of peroxidases in lignifying peach fruit endocarp. *Plant Physiology*, 95(1): 269-273.
- Alcázar, R., Planas, J., Saxena, T., Zarza, X., Bortolotti, C., Cuevas, J., Bitrián, M., Tiburcio, A. F., & Altabella, T. (2010). Putrescine accumulation confers drought tolerance in transgenic Arabidopsis plants over-expressing the homologous Arginine decarboxylase 2 gene. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(7): 547-552.
- Asgher, M., Ahmed, S., Sehar, Z., Gautam, H., Gandhi, S. G., & Khan, N. A. (2021). Hydrogen peroxide modulates activity and expression of antioxidant enzymes and protects photosynthetic activity from arsenic damage in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Hazardous Materials*, 401, 123365.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1): 205-207.
- Berner, M., Krug, D., Bihlmaier, C., Vente, A., Müller, R., & Bechthold, A. (2006). Genes and enzymes involved in caffeic acid biosynthesis in the actinomycete *Saccharothrix espanaensis*. *Journal of Bacteriology*, 188(7): 2666-2673.
- Besford, R. T., Richardson, C. M., Campos, J. L., & Tiburcio, A. F. (1993). Effect of polyamines on stabilization of molecular complexes in thylakoid membranes of osmotically stressed oat leaves. *Planta*, 189, 201-206.
- Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Scientia Horticulturae*, 120(2): 271-275.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2): 248-254.
- Bruneton, J., & others. (1995). *Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants*. Lavoisier publishing.
- Chaoui, A., Mazhoudi, S., Ghorbal, M. H., & El Ferjani, E. (1997). Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Science*, 127(2): 139-147.
- Conde, E., Cadahia, E., & Garcia-Vallejo, M. C. (1995). HPLC analysis of flavonoids and phenolic acids and aldehydes in *Eucalyptus* spp. *Chromatographia*, 41(11): 657-660.



- Ellouzi, H., Sghayar, S., & Abdelly, C. (2017). H₂O₂ seed priming improves tolerance to salinity; drought and their combined effect more than mannitol in *Cakile maritima* when compared to *Eutrema salsugineum*. *Journal of Plant Physiology*, 210: 38–50.
- Emami Bistgani, Z., Siadat, S. A., Bakhshandeh, A., Ghasemi Pirbalouti, A., & Hashemi, M. (2017). Morpho-physiological and phytochemical traits of (*Thymus daenensis* Celak.) in response to deficit irrigation and chitosan application. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39: 1–13.
- Fujita, T., Maggio, A., García-Ríos, M., Stauffacher, C., Bressan, R. A., & Csonka, L. N. (2003). Identification of regions of the tomato γ -glutamyl kinase that are involved in allosteric regulation by proline. *Journal of Biological Chemistry*, 278(16): 14203–14210.
- Giannopolitis, C. N., & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases: II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. *Plant Physiology*, 59(2): 315–318.
- Gong, M., Tang, M., Chen, H., Zhang, Q., & Feng, X. (2013). Effects of two *Glomus* species on the growth and physiological performance of *Sophora davidii* seedlings under water stress. *New Forests*, 44(3): 399–408.
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1): 189–198.
- Ioannidis, N. E., & Kotzabasis, K. (2007). Effects of polyamines on the functionality of photosynthetic membrane in vivo and in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1767(12): 1372–1382.
- Islam, M. A., Blake, T. J., Kocacinar, F., & Lada, R. (2003). Ambiol, spermine, and aminoethoxyvinylglycine prevent water stress and protect membranes in *Pinus strobus* L under drought. *Trees*, 17: 278–284.
- Krizek, D. T., Britz, S. J., & Mirecki, R. M. (1998). Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. *Physiologia Plantarum*, 103(1): 1–7.
- Michel, B. E., & Kaufmann, M. R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51(5): 914–916.
- Mustafavi, S. H., Naghdi Badi, H., S\kekara, A., Mehrafarin, A., Janda, T., Ghorbanpour, M., & Rafiee, H. (2018). Polyamines and their possible mechanisms involved in plant physiological processes and elicitation of secondary metabolites. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(6): 1–19.
- Nickavar, B., Mojab, F., & Dolat-Abadi, R. (2005). Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry*, 90(4): 609–611.
- Pirbalouti, A. G., & others. (2009). Medicinal plants used in Chaharmahal and Bakhtyari districts of Iran. *Herba Polonica*, 55(2): 69–77.
- Raymond, J., Rakariyatham, N., & Azanza, J. L. (1993). Purification and some properties of polyphenoloxidase from sunflower seeds. *Phytochemistry*, 34(4): 927–931.
- Sadiqov, S. T., Akbulut, M. I. I., & Ehmedov, V. (2002). Role of Ca²⁺ in drought stress signaling in wheat seedlings. *Biochemistry (Moscow)*, 67: 491–497.
- Sharma, D. K., Dubey, A. K., Srivastav, M., Singh, A. K., Sairam, R. K., Pandey, R. N., Dahuja, A., & Kaur, C. (2011). Effect of putrescine and paclobutrazol on growth, physiochemical parameters, and nutrient acquisition of salt-sensitive citrus rootstock Karna khatta (*Citrus karna* Raf.) under NaCl stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 30: 301–311.
- Talaat, I. M., Bekheta, M. A., & Mahgoub, M. H. (2005). Physiological response of periwinkle plants (*Catharanthus roseus* L.) to tryptophan and putrescine. *Int. J. Agric. Biol*, 7(2): 210–213.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1): 59–66.
- Viera, H. J., Bergamaschi, H., Angelocci, L. R., & Libardi, P. L. (1991). Performance of two bean cultivars under two water availability regimes. II. Stomatal resistance to vapour diffusion, transpiration flux density and water potential in the plant. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 24(9): 1045–1053.
- Wagner, G. J. (1979). Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology*, 64(1): 88–93.



بررسی تاثیر سلنیوم بر افزایش عملکرد مرزه (*Satureja hortensis* L.)

ساجده سادات طباطبائی^۱، مرضیه قنبری جهرمی^{۱*}، وریا ویسانی^۱

^۱گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. (ghanbari@iau.ac.ir)

چکیده

سلنیوم به عنوان یک ماده اصلی برای سلامتی انسان ها شناخته شده که می تواند نقش مهمی در مکانیسم رشد گیاهان ایفا کند. تیمارهای پژوهش شامل سلنیوم به صورت سولات سدیم (Na_2SeO_4) در سه سطح (۰، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر) در مرحله ۴ برگگی بود. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین نشان داد که کاربرد سلنیوم موجب افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و همچنین مقدار اسانس شد و با افزایش غلظت سلنیوم صفات مورد مطالعه افزایش یافت. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار وزن تر اندام هوایی (۸/۹۱ گرم)، وزن خشک اندام هوایی (۴/۲۳ گرم)، وزن تر ریشه (۳/۲۸ گرم)، وزن خشک ریشه (۱/۰۲ گرم) و مقدار اسانس (۰/۹۷ درصد) مربوط به تیمار سلنیوم ۱۰ میلی گرم در لیتر بود. کاربرد سلنیوم ۱۰ میلی گرم در لیتر نسبت به سایر تیمارها تاثیر بیشتری بر افزایش صفات گیاه دارویی مرزه داشت. لذا جهت بهبود رشد و افزایش اسانس گیاه مرزه سلنیوم ۱۰ میلی گرم در لیتر قابل توصیه است.

واژگان کلیدی: اسانس، عناصر ریزمغذی، عملکرد اندام هوایی، گیاهان دارویی



۱. مقدمه

کشت گیاهان داروی از گذشته تا به امروز مورد توجه واقع شده است. رویکرد جدید علم به سمت گیاهان دارویی و مواد طبیعی به جای استفاده از مواد شیمیایی مصنوعی اهمیت کشت و فرآوری این گیاهان را دو چندان می نماید. از گیاهانی که بسیار مورد توجه قرار گرفته اند گونه های مختلف تیره نعناع (Lamiaceae) می باشد که از دیرباز به عنوان گیاهان دارویی مهم به حساب می آیند. مرزه تابستانه (*Satureja Hortensis*) گیاهی یک ساله و علفی از خانواده Lamiaceae است که به دلیل داشتن ترکیبات فنلی با ارزش بالا، مانند کارواکرول و تیمول تولید می شود. گیاه دارویی مرزه یک گونه بسیار معطر است که مانند برخی از گونه های معطر دیگر، مرزه ماکرانتا به طور سنتی برای درمان اختلالات معده و روده مانند سرفه، تهوع، سوء هاضمه و اسهال استفاده می شود (Sefidkon et al., 2004; Memari Tabrizi et al., 2021). اجزای اصلی فیتوشیمیایی مرزه ماکرانتا عبارتند از فنل، کارواکرول، تیمول و فلاونوئیدها مهم ترین ترکیبات شیمیایی موجود در این گیاه ترپنوئیدها و فلاونوئیدها هستند. در منابع دیگر هم مهم ترین ترکیبات شیمیایی اسانس مربوط به گروه مونوترپنوئیدها معرفی شده و از میان آن ها دو ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول جزء ترکیبات شاخص به حساب می آیند (Mirjalili et al., 2022).

سلنیوم از عناصر کمیاب سطح این سیاره است و از نقره نادرتر است که به عنوان مشتقات متیل در جو وجود دارد. سلنیوم غیر ترکیبی گهگاه یافت می شود و حدود ۴۰ ماده معدنی حاوی سلنیوم وجود دارد که برخی از آن ها می توانند ۳۰ درصد سلنیوم داشته باشند، اما همه آن ها نادر هستند و به طور کلی همراه با سولفیدهای فلزات مانند مس، روی و سرب وجود دارند. سلنیوم یک ریز مغذی ضروری با خواص آنتی اکسیدانی، ضدسرطانی و ضد ویروسی برای سلامت انسان و حیوانات است، اگرچه هنوز نیاز به سلنیوم در گیاهان ثابت نشده است (Pilon-Smits, 2015). سلنیوم نقش محافظتی و آنتی اکسیدانی در کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از دما، خشکسالی، شوری، استرس مکانیکی، اشعه ماوراء بنفش، عوامل بیماری زا و فلزات سنگین دارد. همچنین، سلنیوم با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه از طریق افزایش فعالیت آنتی اکسیدان های آنزیمی و آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی، تنش را بهبود می بخشد (Momeny et al., 2020; Azarmdel et al., 2020). بنابراین با توجه به اهمیت سلنیوم در افزایش رشد و عملکرد گیاهان، مطالعه حاضر به منظور بررسی غلظت های مختلف سلنیوم و معرفی بهترین تیمار جهت افزایش عملکرد گیاه دارویی مرزه اجرا شد.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. منطقه مورد مطالعه

این آزمایش به منظور بررسی اثر بیوچار و سلنیوم در شرایط تنش کادیم در سال ۱۴۰۱ در مجتمع گلخانه ای دانشگاه تهران با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۶۵ تا ۸۰ درصد، حداکثر دما ۲۹ و حداقل دمای ۱۵ درجه سانتی گراد در شهرستان کرج انجام گرفت. پژوهش حاضر به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در ۳ تکرار و ۳ مشاهده صورت گرفت.



۲-۲. روش تحقیق

در ۲۰ فروردین ۱۴۰۱ بذرهای مرزه تابستانه کشت و پس از ۱۰۰ روز برداشت شدند. بذرهای مرزه (تهیه شده از شرکت پاکان بذر) ضد عفونی و در گلدان‌های ۳ لیتری حاوی خاک کشاورزی، خاک برگ و ماسه کشت شدند. سلنیوم به صورت سلنات سدیم (Na_2SeO_4) در سه سطح (۰، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر) در مرحله ۴ برگی به صورت محلول پاشی با فواصل ۱۵ روزه در سه نوبت استفاده شد. در پایان دوره رویش گیاه، صفات مورفولوژیکی اندازه گیری شد. سلنیوم به صورت دستی سه بار با فواصل ۱۵ روزه روی برگ‌های گیاه اسپری شد. وزن تر اندام هوایی و ریشه پس از برداشت با ترازوی دیجیتال Digital scale با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شد. برای اندازه گیری اندام هوایی، گیاه کشت شده در هر گلدان از یقه توسط قیچی قطع شد و تمام قسمت‌های هوایی گیاه (ساقه، گل و برگ) اندازه گیری شد. برای اندازه گیری ریشه، ریشه‌ها به آرامی از خاک جدا شده و با ترازوی دیجیتال وزن شدند. جهت اندازه گیری وزن خشک اندام هوایی، گیاهان پس از برداشت به مدت دو هفته در دمای معمولی در شرایط سایه، در محیط آزمایشگاه خشک شدند. ریشه گیاه در دستگاه آون در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت، خشک شدند. پس از خشک شدن اندام هوایی و ریشه وزن خشک آن‌ها با ترازوی دیجیتال Digital scale با دقت ۰/۰۱ گرم به دست آمد (Inbar et al., 1994). محاسبه درصد اسانس موجود در گیاه به روش اسانس گیری (کلونجر) انجام شد. ابتدا مقدار ۱۰۰ گرم نمونه خشک گیاه با ترازوی دیجیتال توزین گردید و پس از ختم اسانس گیری، اسانس جمع آوری شده در قسمت مدرج دستگاه جهت تعیین مقدار آن به یک لوله آزمایش منتقل گردید. جهت خروج بهتر و استخراج تمام اسانس گرفته شده از دستگاه ۲ میلی لیتر کلرو متان ۳۶ درجه در قسمت مدرج دستگاه ریخته و اسانس حل شده در دی کلرو متان را در یک بشر ۵۰ میلی لیتری ریخته و مقداری سولفات سدیم بی آب به آن اضافه گردید تا کاملاً عاری از آب شود. سپس مقدار اسانس با ترازوی دقیق آزمایشگاهی LIBROR AEL مدل 40SM با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه گیری شد. از حاصل ضرب درصد اسانس در وزن خشک، عملکرد اسانس به دست آمد (قاسمی دهکردی و طالب، ۱۳۸۸). کلیه داده‌های به دست آمده حاصل از اندازه گیری متغیرها در تحقیق، ابتدا در Excel ثبت شده و سپس با نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۳ آنالیز شد. مقایسه میانگین داده‌ها در سطح معنی دار ۱ یا ۵ درصد با آزمون LSD بررسی شد. نمودارها و شکل‌ها در نرم افزار Excel تهیه شدند.

۳. نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس بیانگر آن است که اثر سلنیوم بر وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و همچنین مقدار اسانس با احتمال خطای یک درصد معنی دار شد (جدول ۱). نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین نشان داد که کاربرد سلنیوم موجب افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و همچنین مقدار اسانس شد و با افزایش غلظت سلنیوم صفات مورد مطالعه افزایش یافت. بیشترین مقدار وزن تر اندام هوایی (۸/۹۱ گرم)، وزن خشک اندام هوایی (۴/۲۳ گرم)، وزن تر ریشه (۳/۲۸ گرم)، وزن خشک ریشه (۱/۰۲ گرم)، و مقدار اسانس (۰/۹۷ درصد) مربوط به تیمار سلنیوم ۱۰ میلی گرم در لیتر بود (جدول ۲).



جدول ۱. تجزیه واریانس صفات عملکرد اندام هوایی، ریشه و درصد اسانس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن تر	وزن خشک	وزن تر	وزن خشک
اسانس	ریشه	وزن تر	وزن خشک	مقدار اسانس	ریشه
سلنیوم	۲	۶۹/۲۴**	۹۵/۶۷**	۷۳/۵۰**	۸۷/۵۶**
خطا	۶	۷/۷۳	۴/۴۱	۶/۵۳	۹/۳۲
ضرب تغییرات		۹/۲۶	۸/۷۱	۹/۳۸	۱۰/۲۴

** بیانگر معنی داری با احتمال خطای یک درصد است.

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات عملکرد اندام هوایی، ریشه و درصد اسانس

تیمارها	وزن تر اندام هوایی (g)	وزن خشک اندام هوایی (g)	وزن تر ریشه (g)	وزن خشک ریشه (g)	مقدار اسانس (%)
۱۰ میلی گرم در لیتر	۸/۹۱ ^a	۴/۲۳ ^a	۳/۲۸ ^a	۱/۰۲ ^a	۰/۹۷ ^a
۵ میلی گرم در لیتر	۷/۰۴ ^b	۳/۰۲ ^b	۲/۳۲ ^b	۰/۷۳ ^b	۰/۷۹ ^b
۰ میلی گرم در لیتر	۵/۲۳ ^c	۱/۵۸ ^c	۱/۷۲ ^c	۰/۵۱ ^c	۰/۶۲ ^c

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی دار هستند (آزمون LSD با احتمال خطای پنج درصد)

۴. بحث و نتیجه گیری

سلنیوم احتمالاً از طریق افزایش میزان نشاسته در کلروپلاست‌ها، رشد گیاه را افزایش داده و به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی از غشای سلول گیاهی حفاظت می‌کند. سلنیوم با محافظت از آنزیم‌های کلروپلاستی و فراهم کردن شرایط مناسب برای فتوسنتز سبب افزایش رشد گیاه در ریشه و اندام هوایی می‌شود. سلنیوم تقسیم سلولی را در سلول‌های نوک ریشه بهبود بخشیده و متعاقب آن باعث افزایش رشد و توسعه سیستم ریشه گیاه می‌گردد؛ بنابراین همین امر می‌تواند موجب جذب بیشتر آب و عناصر غذایی توسط گیاهان تحت تیمار با این عنصر شده و در نهایت با افزایش در میزان آب و عناصر غذایی، وزن خشک برگ را افزایش دهد (Azarmdel et al., 2020; El-Goharya et al., 2019). افزایش بیوماس ریشه گشنیز با کاربرد نانوذرات سلنیوم تحت تنش کادمیم گزارش شده است (Babashpour-Asl et al., 2022) که همسو با تحقیق حاضر است. سلنیوم با ایجاد چندین تغییر رونویسی نقش مهمی در تولید متابولیت ثانویه شتاب دهنده دارد (Babashpour-Asl et al., 2022). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که کاربرد سلنیوم و افزایش غلظت آن سبب افزایش صفات بررسی شده در مطالعه حاضر شد. کاربرد سلنیوم ۱۰ میلی گرم در لیتر نسبت به سایر تیمارها تاثیر بیشتری بر افزایش صفات گیاه دارویی مرزه داشت. لذا جهت بهبود رشد و افزایش اسانس گیاه مرزه سلنیوم ۱۰ میلی گرم در لیتر قابل توصیه است.



منابع

- قاسمی دهکردی، ن. و طالب، ا. ۱۳۸۰. استخراج شناسایی و تعیین مقدار ترکیبات موجود در گیاهان دارویی شاخص. نشر چوگان، ۵۵۰ ص.
- Azarmdel, H., Jahanbakhshi, A., Mohtasebi, S. S., and Muñoz, A. R. (2020). Evaluation of image processing technique as an expert system in mulberry fruit grading based on ripeness level using artificial neural networks (ANNs) and support vector machine (SVM). *Postharvest Biology and Technology*, 166: 111201.
- Babashpour-Asl, M., Farajzadeh-Memari-Tabrizi, E., and Yousefpour-Dokhanieh, A. (2022). Foliar-applied selenium nanoparticles alleviate cadmium stress through changes in physio-biochemical status and essential oil profile of coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves. *Environmental Science and Pollution Research*, 29: 80021–80031
- El-Goharya, A.E., Amera, H.M., Salemb, S.H., and Husseina, M.S. (2019). Foliar application of selenium and humic acid changes yield, essential oil, and chemical composition of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) plant and its antimicrobial effects. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 18:356–367.
- Inbar, J., Abramsky, M., Cohen, D., and Chet, I. (1994). Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 100(5): 337-346.
- Memari-Tabrizi, E. F., Yousefpour-Dokhanieh, A., and Babashpour-Asl, M. (2021). Foliar-applied silicon nanoparticles mitigate cadmium stress through physio-chemical changes to improve growth, antioxidant capacity, and essential oil profile of summer savory (*Satureja hortensis* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 165: 71-79.
- Mirjalili, A., Lebaschi, M. H., Ardakani, M. R., Sharifabad, H. H., and Mirza, M. (2022). Plant density and manure application affected yield and essential oil composition of Bakhtiari savory (*Satureja bachtiarica* Bunge.). *Industrial Crops and Products*, 177: 114516.
- Momeny, M., Jahanbakhshi, A., Jafarnezhad, K., and Zhang, Y. D. (2020). Accurate classification of cherry fruit using deep CNN based on hybrid pooling approach. *Postharvest Biology and Technology*, 166: 111204.
- Pilon-Smits, E. A. H. (2015). Selenium in plants. In U. Luttge, & W. Beyschlag (Eds.), *Progress in botany* (pp. 93–107). Springer International Publishing.
- Sefidkon, F., and Emami Bistgani, Z. (2021). Integrative review on ethnobotany, essential oil, phytochemical, agronomy, molecular and pharmacological properties of *Satureja* species. *Journal of Essential Oil Research*, 33(2): 114-132.



تأثیر کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر شاخص‌های رشدی، میزان کلروفیل و اسانس گیاه دارویی آگاستاکه (*Agastache foeniculum*) تحت شرایط تنش خشکی

مهدی پورریحان آباد^۱، عباس حسنی^{۱*}، رامین ملکی^۲ و محمد سعادتیان^۱

^{۱*} گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه. (a.hassani@urmia.ac.ir)

^۲ گروه پژوهشی کروماتوگرافی، جهاد دانشگاهی آذربایجان غربی، ارومیه.

چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک است. امروزه به استفاده از راه کارهای همسو با طبیعت نظیر بهره‌گیری از محرک‌های زیستی برای تعدیل اثرات تنش‌های محیطی توجه ویژه می‌شود. بر همین مبنا، به منظور بررسی تأثیر کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی (۲، ۴ و ۶ میلی لیتر در لیتر) تحت شرایط تنش خشکی (۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بر برخی شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیکی و میزان اسانس گیاه دارویی آگاستاکه (*Agastache foeniculum*)، یک آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش ارتفاع بوته، عملکرد پیکر رویشی خشک، میزان کلروفیل (SPAD) و عملکرد اسانس شد. درصد اسانس با کاهش محتوی رطوبت خاک تا حد ۷۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش و پس از آن با تشدید تنش خشکی کاهش یافت. نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی باعث تعدیل اثرات تنش خشکی شد؛ به طوری که گیاهان تیمار شده با پروتئین از ارتفاع، عملکرد، میزان کلروفیل و درصد و عملکرد اسانس بیشتری نسبت به گیاهان شاهد برخوردار بودند. در مجموع یافته‌های این تحقیق نشان داد که پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی می‌تواند به عنوان یک راهکار مؤثر و سازگار با طبیعت برای بهبود رشد و بهره‌وری گیاهان دارویی در شرایط تنش کم آبی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: آگاستاکه، اسانس، تنش کم آبی، ویژگی‌های رشدی، کلروفیل.



۱. مقدمه

گل مکزیکی یا آگاستاکه (*Agastache foeniculum*)، گیاهی علفی، چندساله، متعلق به تیره نعناع و بومی ایالات متحده آمریکا و کانادا است که در درمان بیماری‌های ریوی، سرفه، ناراحتی‌های قلبی و همچنین به منظور القاء تعریق جهت کاهش تب استفاده می‌شود. پیکر رویشی آگاستاکه حاوی اسانس است که خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی دارد (Nechita et al., 2023).

خشکی یک از شایع‌ترین تنش‌های محیطی است که رشد و تولید محصول را در سراسر جهان به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک با محدودیت جدی مواجه ساخته است. شرایط کم‌آبی علاوه بر کاهش رشد گیاه، باعث پاسخ‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی متعددی نظیر بسته شدن روزنه‌ها، کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی، کاهش فتوسنتز و تعرق، کاهش جذب و دسترسی به عناصر غذایی، انباشت اسمولیت‌ها، ارتقاء سیستم‌های دفاع آنتی اکسیدانی، بیان ژن‌های خاص تنشی و تغییر در مسیرهای سنتز ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه می‌گردد (Bettaieb et al., 2009; Aslani et al., 2023).

محرك‌های زیستی گیاهی گروه متنوعی از مواد آلی یا معدنی (نظیر پروتئین‌های هیدرولیز شده، هیومیک و فولویک اسید، عصاره جلبک‌های دریایی و سیلیکون) هستند که با هدف بهبود جذب آب و مواد مغذی، افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی و بهبود عملکرد و ویژگی‌های کیفی گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرند (du Jardin, 2015). پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی گروهی از محرك‌های زیستی هستند که می‌توانند با مکانیسم‌های مختلفی رشد و نمو گیاه را در شرایط تنش‌های غیرزیستی افزایش دهند. اثرات مثبت این پروتئین‌ها را می‌توان با توانایی آن‌ها در تحریک فعالیت‌های شبه‌هورمونی، بهبود متابولیسم کربن و نیتروژن، افزایش جذب آب و مواد غذایی، تحریک متابولیسم ثانویه و بهبود فعالیت میکروبی مرتبط دانست (Colla et al., 2014; du Jardin, 2015). با بحرانی شدن وضعیت آب در ایران و جهان، بخمدت گرفتن راهکارهای عملی که بتواند ضمن تأمین اهداف کشاورزی پایدار به تعدیل اثرات کم‌آبی بر محصولات کشاورزی نیز کمک نماید مورد توجه بسیار قرار گرفته است. بر همین اساس پژوهش حاضر با هدف ارزیابی اثرات کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر رشد، عملکرد و میزان تولید اسانس گیاه دارویی آگاستاکه در شرایط تنش خشکی انجام گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت یک آزمایش گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام گرفت. فاکتورهای آزمایشی شامل کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی در سه سطح (غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌لیتر در لیتر به صورت کودآبیاری و شاهد بدون مصرف پروتئین) و تنش خشکی در سه سطح (۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند. پس از آماده‌سازی گلدان‌ها (ریختن وزن مشخصی از خاک خشک با نسبت ۳ قسمت خاک و ۲ قسمت ماسه در هر گلدان)، تعدادی بذر گیاه آگاستاکه در هر گلدان کاشته شده و پس از جوانه زنی و سبز شدن، بوته‌ها در طی چند مرحله تنک گردیده و نهایتاً در داخل هر گلدان ۷ بوته نگهداری شد. تا مرحله هشت برگی شدن بوته‌ها، گلدان‌ها به مقدار مساوی آبیاری گردیده و از این مرحله به بعد، تیمارهای آبیاری با توزین روزانه گلدان‌ها و جبران آب



مصرفی (بر اثر تبخیر و تعرق) با توجه به هر تیمار اعمال شد. تیمارهای کودآبیاری با پروتئین، همزمان با شروع تنش خشکی انجام گرفته و هر ده روز یک بار تا پایان آزمایش تکرار شد. در مرحله گلدهی کامل نمونه برداری از بوته‌ها به منظور اندازه گیری صفات مورد نظر شامل ارتفاع بوته، عملکرد پیکر رویشی، شاخص سبزیگی (SPAD) توسط دستگاه کلروفیل سنج، درصد و عملکرد اسانس (استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر) انجام گرفت. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

۳. نتایج

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر تنش خشکی بر تمام صفات اندازه گیری شده و اثر کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر تمام صفات بجز ارتفاع بوته در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. همچنین اثرات متقابل تنش خشکی و کاربرد پروتئین تنها بر درصد اسانس معنی دار (در سطح احتمال پنج درصد) شد (جدول ۱). طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها، با تشدید تنش خشکی ارتفاع بوته کاهش معنی داری یافت. همچنین اگرچه تأثیر تیمار پروتئینی بر ارتفاع بوته معنی دار نبود اما با این حال گیاهان تیمار شده با پروتئین‌ها در تمام سطوح خشکی از ارتفاع بوته بیشتری برخوردار بودند (جدول ۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، عملکرد پیکر رویشی خشک، شاخص سبزیگی و عملکرد اسانس گیاهان آگاستاکه در پاسخ به تنش خشکی دچار کاهش شد. این در حالی است که گیاهان تیمار شده با پروتئین‌ها، عملکرد پیکر رویشی خشک، شاخص سبزیگی و عملکرد اسانس بالاتری در مقایسه با گیاهان شاهد داشتند (جدول ۱). درخصوص درصد اسانس نیز مشاهده گردید که مقدار این صفت با تشدید تنش خشکی تا حد ۷۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش و پس از آن در پاسخ به تنش خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی کاهش نشان داد. همچنین گیاهان تیمار شده با پروتئین‌ها در تمام سطوح خشکی از درصد اسانس بالاتری نسبت به گیاهان شاهد برخوردار بودند (جدول ۱).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد اندازه گیری تحت تأثیر تیمار پروتئینی و تنش خشکی

تیمار پروتئین (میلی لیتر در لیتر)	تنش خشکی (%FC)	ارتفاع بوته (سانتی متر)	عملکرد پیکر رویشی خشک (گرم در گلدان)	شاخص سبزیگی (SPAD)	درصد اسانس (میلی لیتر در گلدان)	عملکرد اسانس (میلی لیتر در گلدان)
شاهد (صفر)	۱۰۰	۴۹/۱	۱۴/۵۸	۲۸/۵	۱/۹۴d	۰/۱۵
	۷۰	۴۶	۱۲/۲۲	۲۷/۵	۲/۲۳ab	۰/۱۷
	۴۰	۳۰/۵	۷/۹۳	۲۶/۱۴	۲/۰۳cd	۰/۱
	۱۰۰	۵۳/۹۳	۱۶/۹۸	۳۰/۴۵	۲/۱۷ab	۰/۲۳
۲	۷۰	۴۶/۸۶	۱۴/۳۶	۲۹/۱	۲/۲۳ab	۰/۲
	۴۰	۳۵	۱۰/۹۴	۲۷/۴۷	۲/۱۸ab	۰/۱۶
	۱۰۰	۵۹/۵۳	۱۹/۸۸	۳۱/۰۷	۲/۲۴ab	۰/۲۸



۰/۲۴	۲/۲۷a	۳۰/۲۸	۱۶/۲۸	۴۷/۱	۷۰	۴
۰/۱۷	۲/۱۲bc	۲۹/۱۷	۱۲/۷۴	۳۸/۹۶	۴۰	
						پروتئین
۰/۱۴c	۲/۰۷b	۲۷/۳۸c	۱۱/۵۷b	۴۱/۸۶		شاهد (صفر)
۰/۲b	۲/۱۹a	۲۹b	۱۴/۰۹ab	۴۵/۲۲		۲
۰/۲۳a	۲/۲۲a	۳۰/۱۷a	۱۶/۳a	۴۸/۵۳		۴
						تنش خشکی (%FC)
۰/۲۲a	۲/۱۲b	۳۰a	۱۷/۱۵a	۵۴/۱۸a		۱۰۰
۰/۲a	۲/۲۴a	۲۸/۹۶b	۱۴/۲۸b	۴۶/۶۵b		۷۰
۰/۱۴b	۲/۱۱b	۲۷/۵۹c	۱۰/۵۳c	۳۴/۸۳c		۴۰
**	**	**	**	**		خشکی
**	**	**	**	ns		پروتئین
ns	*	ns	ns	ns		خشکی × پروتئین

*, **, ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیرمعنی دار

حروف مشابه در مقابل میانگین‌ها در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد (آزمون دانکن).

۴. بحث و نتیجه گیری

در تحقیق حاضر رشد و عملکرد گیاه آگاستاکه در پاسخ به شرایط کم آبی کاهش یافت. یکی از اولین نشانه‌های تنش خشکی ایجاد تغییرات کمی و کیفی در رشد است. در اثر کمبود آب، تورژسانس سلولی و در نتیجه رشد و توسعه سلول به ویژه در ساقه و برگ‌ها دچار کاهش می‌گردد. به همین دلیل، اولین اثر محسوس کم آبی را می‌توان از اندازه کوچکتر برگ‌ها یا ارتفاع گیاهان تشخیص داد. خشکی از طریق محدود کردن فتوسنتز (به سبب کاهش سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش کلروفیل و ...)، کاهش تولید هورمون‌های محرک رشد و افزایش بازدارنده‌های رشد، کاهش جذب، انتقال و متابولیسم عناصر غذایی می‌تواند سبب کاهش رشد و عملکرد گیاهان شود (Jaleel et al., 2009). از سوی دیگر گیاهان آگاستاکه تیمار شده با پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی، از ارتفاع بوته و عملکرد بیشتری در شرایط تنش خشکی برخوردار بودند. این اثر پروتئین‌ها را می‌توان به بهبود متابولیسم کربن و نیتروژن، تعدیل فعالیت هورمونی بدلیل وجود پپتیدهای فعال زیستی، تقویت سیستم ریشه‌ای گیاه که باعث بهبود جذب آب و مواد غذایی می‌شود، افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی و تقویت سیستم‌های دفاع آنتی اکسیدانی نسبت داد (du Jardin, 2015; Colla et al., 2015).

شاخص سبزینگی (SPAD) که معرف میزان کلروفیل برگ‌ها است تحت تأثیر تنش خشکی کاهش یافت. در حالی که گیاهان تیمار شده با پروتئین‌های هیدرولیز شده در تمام سطوح خشکی از شاخص سبزینگی بالاتری برخوردار بودند. کاهش رشد، عملکرد و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در اثر تنش خشکی توسط (مینایی و همکاران، ۱۳۹۸) در مرزنجوش بخارایی و (Aslani و همکاران، ۲۰۲۳) در مریم گلی (*Salvia officinalis*) نیز گزارش شده است. کاهش میزان کلروفیل تحت شرایط



تنش خشکی می تواند ناشی از فتواکسیداسیون رنگدانه ها (Rahdari et al., 2012)، تولید گونه های فعال اکسیژن تحت تنش خشکی و آسیب دیدن رنگیزه ها به وسیله آن ها (Mafakheri et al., 2010)، کاهش جذب عناصر شرکت کننده در ساختار کلروفیل و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و تجزیه کلروفیل (گلدانی، ۱۳۹۱) باشد. همچنین افزایش میزان کلروفیل ناشی از تیمار پروتئینی ممکن است بدلیل افزایش جذب عناصر شرکت کننده در ساختار کلروفیل (نظیر نیتروژن و منیزیم) و وجود مقادیر بالایی از اسید آمینه گلوتامین (به عنوان پیش ماده سنتز کلروفیل) باشد (Colla et al., 2015; Rouphael et al., 2021).

در پژوهش حاضر، درصد اسانس در سطوح متوسط خشکی (۷۰ درصد ظرفیت زراعی) افزایش و با تشدید تنش خشکی مجدداً کاهش یافت. پاسخ گیاهان اسانسدار به تنش خشکی در گونه های مختلف متفاوت بوده و بستگی به شدت و طول مدت تنش دارد. (Simon و همکاران، ۱۹۹۲) پیشنهاد نمودند که افزایش تراکم غده های مترشحه ی اسانس در اثر کاهش سطح برگ می تواند توجه کننده ی افزایش مقدار اسانس در شرایط خشکی باشد. همچنین طبق اظهار نظر (Turtola و همکاران، ۲۰۰۳)، تحت شرایط تنش کم آبی به علت کاهش تخصیص فرآورده های فتوسنتزی برای نیازهای رشدی گیاه، میزان تولید ترکیبات ترپنی افزایش یافته و این منجر به انباشت قابل توجه اسانس می گردد. در این تحقیق با کاهش محتوی رطوبت خاک، عملکرد اسانس نیز دچار کاهش گردید. عملکرد اسانس تابعی از درصد اسانس و عملکرد گیاه است. بنابراین اگرچه در تحقیق حاضر، درصد اسانس تحت شرایط تنش خشکی متوسط افزایش یافت اما به دلیل اثرات زیان آور تنش خشکی بر رشد و عملکرد پیکر رویشی، در مجموع عملکرد اسانس نیز کاهش نشان داد. این نتایج با یافته های (مینایی و همکاران، ۱۳۹۸) در مرزنجوش بخارایی و (Aslani و همکاران، ۲۰۲۳) در مریم گلی مطابقت دارد. نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که گیاهان تیمار شده با پروتئین در تمام سطوح خشکی از درصد و عملکرد اسانس بالاتری برخوردار بودند. اگرچه تاکنون گزارشی در مورد تأثیر پروتئین های هیدرولیز شده گیاهی بر تولید اسانس در گیاهان وجود ندارد اما با این حال نقش این پروتئین ها در بهبود متابولیسم کربن و نیتروژن، افزایش کارایی سیستم فتوسنتزی و جذب و انتقال عناصر غذایی (Ertani et al., 2017) می تواند دلایل اصلی افزایش تولید اسانس در اثر کاربرد آن ها باشد.

در مجموع یافته های این پژوهش نشان داد که تنش خشکی تأثیر منفی بر رشد، عملکرد، میزان رنگیزه های فتوسنتزی و تولید اسانس در گیاه آگاستاکه دارد؛ اما استفاده از پروتئین های هیدرولیز شده گیاهی به عنوان یک محرک زیستی توانسته است با افزایش رشد، عملکرد، شاخص سبزینگی و تولید اسانس تا حدودی اثرات تنش خشکی را تعدیل نماید. بنابراین، به کارگیری این ترکیبات می تواند به عنوان یک راهکار مؤثر و سازگار با طبیعت برای بهبود رشد و بهره وری گیاهان در شرایط محیطی نامساعد نظیر تنش خشکی پیشنهاد شود.

منابع

گلدانی، م. (۱۳۹۱). اثر فواصل آبیاری بر برخی شاخص های رشد اکوتیپ های ریحان (*Ocimum basilicum*). نشریه پژوهش های زراعی ایران، ۱۰(۲): ۴۱۲-۴۲۰.



مینایی، آ.، حسنی، ع.، ناظمیه، ح. و بشارت، س. (۱۳۹۸). تأثیر تنش خشکی بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی مرزنجوش بخارایی (*Origanum vulgare* ssp. *gracile*). دومهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران،

۲۶۵-۲۵۲: (۲)۳۵.

- Aslani, Z., Hassani, A., Abdollahi Mandoukani, B., Barin, M., and Maleki, R. (2023). Effect of drought stress and inoculation treatments on nutrient uptake, essential oil and expression of genes related to monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*). *Scientia Horticulturae*, 309: 111610.
- Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W.A., Kchouk, M.E., and Marzouk, B. (2009). Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Scientia Horticulturae*, 120(2): 271-275.
- Colla, G., Roupael, Y., Canaguier, R., Svecova, E., and Cardarelli, M., (2014). Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. *Frontiers in Plant Science*, 5: 1-6.
- Colla, G., Nardi, S., Cardarelli, M., Ertani, A., Lucini, L., Canaguier, R., and Roupael, Y. (2015). Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196: 28-38.
- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196: 3-14.
- Ertani, A., Schiavon, M., and Nardi, S. (2017). Transcriptome-wide identification of differentially expressed genes in *Solanum lycopersicon* L. in response to an alfalfa-protein hydrolysate using microarrays. *Frontiers in Plant Science*, 8: 260167.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H.J., Somasundaram, R., and Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11: 100-105.
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P.C., and Sohrabi, Y. (2010). Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll content in three Chickpea cultivars. *Australian Journal of Crop Science*, 4(8): 580-585.
- Nechita, M.A., Toiu, A., Benedec, D., Hanganu, D., Ielciu, I., Oniga, O., Nechita, V.I., and Oniga, I. (2023). *Agastache* species: A comprehensive review on phytochemical composition and therapeutic properties. *Plants*, 12(16): 2937.
- Rahdari, P., Hoseini, S.M., and Tavakoli, S. (2012). The studying effect of drought stress on germination, proline, sugar, lipid, protein and chlorophyll content in Purslane (*Portulaca oleraceae* L.) leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(9): 1539-1547.
- Roupael, Y., Carillo, P., Cristofano, F., Cardarelli, M., and Colla, G. (2021). Effects of vegetal-versus animal-derived protein hydrolysate on sweet basil morpho-physiological and metabolic traits. *Scientia Horticulturae*, 284: 110123.
- Simon, J.E., Bubenheim, R.D., Joly, R.J., and Charles, D.J. (1992). Water stress-induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. *Journal of Essential Oil Research*, 4(1): 71-75.
- Turtola, S., Manninen, A.M., Rikala, R., and Kainulainen, P. (2003). Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, 29: 1981-1985.



پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی آگاستاکه (*Agastache foeniculum*) به کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی تحت تنش خشکی

مهدی پورریحان آباد^۱، عباس حسنی^{۱*}، رامین ملکی^۲ و محمد سعادتیان^۱

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه.

^۲ گروه پژوهشی کروماتوگرافی، جهاد دانشگاهی آذربایجان غربی، ارومیه. (a.hassani@urmia.ac.ir)

چکیده

کمبود آب یکی از مهمترین تنش‌های غیر زنده است که رشد، نمو و تولید محصولات کشاورزی را در سراسر جهان بطور جدی محدود می‌کند. امروزه استفاده از محرک‌های زیستی در کشاورزی برای بهبود رشد و عملکرد گیاه تحت تنش‌های غیرزیستی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. بر همین مبنا، به منظور بررسی تأثیر کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی (۰، ۲ و ۴ میلی‌لیتر در لیتر) تحت شرایط تنش خشکی (۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی آگاستاکه (*Agastache foeniculum*)، یک آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش نشت یونی و محتوی مالون دی‌آلدئید در برگ‌ها می‌شود و در پاسخ به اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی، میزان فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی با افزایش محتوی فنل و فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل باعث تعدیل اثرات تنش خشکی شد؛ به طوری که گیاهان تیمار شده با پروتئین از میزان نشت یونی و محتوی مالون دی‌آلدئید کمتری نسبت به گیاهان شاهد برخوردار بودند. در مجموع یافته‌های این تحقیق نشان داد که پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی می‌تواند برای کاهش آسیب‌های اکسیداتیو و افزایش تحمل به تنش کم‌آبی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: آگاستاکه، تنش کم‌آبی، تنش اکسیداتیو، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل



۱. مقدمه

آب یکی از عوامل محیطی است که تأثیر عمده‌ای در رشد و نمو و میزان مواد مؤثره گیاهان دارویی دارد. شرایط کم‌آبی علاوه بر کاهش رشد گیاه، باعث تحریک پاسخ‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی متعددی در گیاهان می‌گردد (Bettaieb et al., 2009). تنش خشکی موجب القای تنش اکسیداتیو ثانویه شده و با افزایش سطح گونه‌های فعال اکسیژن موجب آسیب اکسیداتیو به ماکرومولکول‌ها، پروتئین‌ها، چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک شده و از همه مهمتر با پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشاهای سلولی نفوذپذیری غشاء، نشت یونی و تولید مالون‌دی‌آلدهید را افزایش می‌دهد (شهریور و همکاران، ۱۳۹۸). گیاهان از طریق تحریک سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی گونه‌های فعال اکسیژن را جاروب و اثرات مخرب تنش اکسیداتیو را تعدیل می‌کنند. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی جزو مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی هستند که باعث مهار رادیکال‌های آزاد شده و از اثرات مخرب آن‌ها جلوگیری می‌نمایند (Huang et al., 2019). نتایج تحقیق (مینایی و همکاران، ۱۳۹۸) نشان داد که محتوی فنل و فلاونوئید کل و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مرزنجوش بخارایی (*Origanum vulgare* L. ssp. *gracile*) در پاسخ به تنش خشکی افزایش می‌یابد.

در سال‌های اخیر، استراتژی‌های متعددی توسط محققین کشاورزی و علوم گیاهی برای القاء یا افزایش تحمل به خشکی در گیاهان پیشنهاد شده‌اند که بسیاری از آن‌ها به طور غیرمنطقی گران یا زمان‌بر هستند. پروتئین‌های هیدرولیز شده که عمدتاً از اسیدهای آمینه و پپتیدها تشکیل شده‌اند، دسته‌ای از محرک‌های زیستی هستند که با هیدرولیز شیمیایی یا آنزیمی از منابع گیاهی یا جانوری بدست می‌آیند و تأثیر مفیدی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی متعدد از جمله فعالیت فتوسنتزی، جذب و جابه‌جایی مواد مغذی، متابولیسم کربن و نیتروژن و همچنین شاخص‌های کیفی محصول دارند. همچنین با تحریک فرآیندهای محافظتی مانند افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کمک به انباشت اسمولیت‌ها و تنظیم اسمزی، تحمل به تنش‌های غیر زیستی را افزایش می‌دهند (Malécange et al., 2023).

گل مکزیکی یا آگاستاکه (*Agastache foeniculum*)، گیاهی علفی و چندساله از تیره نعناع است که در معالجه بیماری‌های ریوی و سرفه استفاده می‌شود. اسانس گل مکزیکی خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی دارد. مواد مؤثره این گیاه همچنین در صنایع غذایی، داروسازی، آرایشی و بهداشتی و همچنین در بستنی سازی کاربرد دارد (امیدیگی، ۱۳۸۸). در سال‌های اخیر با جدی شدن چالش کمبود آب در ایران، بخدمت گرفتن روش‌های عملی کاهش و تعدیل اثرات منفی خشکی بر گیاهان در کنار تلاش برای شناسایی و معرفی گیاهان متحمل به خشکی به یک ضرورت اجتناب‌ناپذیر تبدیل شده است. در همین راستا پژوهش حاضر با هدف ارزیابی اثرات کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی در افزایش تحمل گیاه دارویی آگاستاکه به تنش خشکی انجام گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به صورت یک آزمایش گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام گرفت. فاکتورهای آزمایشی شامل سطوح مختلف تنش خشکی



(۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی به صورت کودآبیاری در سه غلظت (صفر (شاهد) ۲ و ۴ میلی‌لیتر در لیتر) بودند. پس از آماده‌سازی و پر کردن گلدان‌ها با خاک آماده شده (مخلوط خاک مزرعه و ماسه به نسبت ۳ به ۲)، تعدادی بذر گیاه آگاستاکه (تهیه شده از کلکسیون گیاهان دارویی گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه) در هر گلدان کاشته شده و پس از جوانه زنی و سبز شدن، بوته‌ها در طی چند مرحله تنک گردیده و نهایتاً در داخل هر گلدان ۷ بوته نگهداری شد. تا مرحله هشت برگی شدن بوته‌ها، گلدان‌ها به مقدار مساوی آبیاری گردیده و از این مرحله به بعد، تیمارهای آبیاری با توزین روزانه گلدان‌ها و جبران آب مصرفی (بر اثر تبخیر و تعرق) با توجه به هر تیمار اعمال شد. تیمارهای کاربرد پروتئین همزمان با شروع تنش خشکی اعمال شده و هر ده روز یک بار تا پایان آزمایش تکرار گردیدند. در اوایل مرحله گلدهی نمونه‌برداری از برگ‌ها به منظور اندازه‌گیری صفات مورد نظر شامل درصد نشت یونی به روش (Lutts و همکاران، ۱۹۹۶)، میزان تولید مالون دی‌آلدئید به روش (Heath و Packer، ۱۹۶۸)، محتوی فنل کل با استفاده از معرف فولین سیو کالتیو و به روش (Singleton و همکاران، ۱۹۹۹)، فلاونوئید کل به روش (Chang و همکاران، ۲۰۰۲) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ‌ها به روش مهار رادیکال DPPH (Brand-Williams et al., 1995) انجام گرفت. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

۳. نتایج

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر تنش خشکی بر تمام صفات اندازه‌گیری شده و اثر کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل و فلاونوئید کل معنی‌دار بود. همچنین اثرات متقابل تنش خشکی و کاربرد پروتئین بر هیچ یک از شاخص‌های مورد مطالعه معنی‌دار نبود (جدول ۱). طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها، با تشدید تنش خشکی میزان نشت یونی و تولید مالون دی‌آلدئید افزایش یافت. همچنین اگرچه تأثیر تیمار پروتئینی بر این دو صفت معنی‌دار نبود اما با این حال گیاهان تیمار شده با پروتئین‌ها در تمام سطوح خشکی از میزان نشت یونی و محتوی مالون دی‌آلدئید کمتری برخوردار بودند (جدول ۱). همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل و فلاونوئید کل برگ گیاهان آگاستاکه در پاسخ به کاهش محتوی رطوبت خاک و کاربرد پروتئین افزایش یافت و البته اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌لیتر در لیتر پروتئین از نظر این سه صفت وجود نداشت (جدول ۱).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) یکی از پیامدهای مهم تنش خشکی است که منجر به آسیب اکسیداتیو به غشاهای سلولی می‌شود. در این راستا، حفظ پایداری غشاء (با اندازه‌گیری نشت یونی) و میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشاء (با اندازه‌گیری میزان تولید مالون دی‌آلدئید) به عنوان دو شاخص مهم برای ارزیابی یکپارچگی و سلامت غشاء در شرایط تنش مورد استفاده قرار می‌گیرند (شهریور و همکاران، ۱۳۹۸). مشابه نتایج این تحقیق، (اصلانی و همکاران، ۱۴۰۰) در (مریم‌گلی و



دوست محمدی و همکاران، ۱۴۰۲) در ریحان نیز افزایش نشت یونی و تولید مالون دی آلدئید را تحت شرایط تنش خشکی گزارش نمودند. در پاسخ به تنش اکسیداتیو القاء شده به وسیله خشکی، گیاهان با بخدمت گرفتن سیستم‌های دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی اقدام به حذف گونه‌های فعال اکسیژن و تعدیل اثرات تنش اکسیداتیو می‌نمایند. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گروه مهمی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که از مسیر فنیل پروپانوئیدی سنتز می‌شوند. این ترکیبات جزو مهم‌ترین آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی هستند که باعث مهار رادیکال‌های آزاد شده و از اثرات مخرب آن‌ها جلوگیری می‌نمایند (Huang et al., 2019). در تحقیقات مشابهی، (مینایی و همکاران، ۱۳۹۸) در مرزنجوش بخارایی و طاهری بوکانی و همکاران (۱۴۰۲) در ریحان نیز گزارش نمودند که انباشت فنل‌ها و فلاونوئیدها و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی در راستای تعدیل اثرات مخرب تنش اکسیداتیو و افزایش تحمل این گیاهان به تنش خشکی صورت می‌پذیرد.

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد اندازه‌گیری تحت تأثیر تیمار پروتئینی و تنش خشکی

تیمار پروتئین (میلی لیتر در لیتر)	تنش خشکی (%FC)	نشت یونی (%)	مالون دی آلدئید ($\mu\text{mol/g fw}$)	فعالیت آنتی-اکسیدانی (%)	فنل کل (mg GAE/g fw)	فلاونوئید کل (mg QE/g fw)
	۱۰۰	۱۸/۰۷	۱/۴۹	۳۴/۶۶	۲/۸۸	۰/۸۲
شاهد (صفر)	۷۰	۲۳/۶۷	۲/۵۸	۴۵/۶۵	۲/۶۸	۰/۹۱
	۴۰	۳۵/۱۱	۴/۵۳	۵۴/۶	۳/۹۳	۱/۱۲
	۱۰۰	۱۶/۳۱	۱/۴۵	۳۶/۶۳	۳/۱۲	۰/۹۴
۲	۷۰	۲۲/۷۲	۲/۰۳	۴۷/۱۲	۳/۲۸	۱/۱۷
	۴۰	۳۰/۸	۴/۰۶	۶۱/۱۴	۴/۸۵	۱/۵۲
	۱۰۰	۱۷/۸۱	۱/۳۷	۳۶/۷۸	۳/۳۴	۰/۸۴
۴	۷۰	۲۲/۷۵	۱/۹	۵۰/۷۸	۳/۴۱	۱/۲۵
	۴۰	۲۹/۲۸	۳/۹۸	۶۱/۱۵	۴/۸۴	۱/۵۳
پروتئین						
شاهد (صفر)	۲۵/۶۲	۲/۸۷	۴۴/۹۷b	۳/۱۷b	۰/۹۵b	
۲	۲۳/۲۸	۲/۵۱	۴۸/۲۹ab	۳/۷۵a	۱/۲۱a	
۴	۲۳/۲۸	۲/۴۲	۴۹/۵۷a	۳/۸۶a	۱/۲a	
تنش خشکی (%FC)						
۱۰۰	۱۷/۳۹c	۱/۴۴c	۳۶/۰۲c	۳/۱۲b	۰/۸۷c	
۷۰	۲۳/۰۵b	۲/۱۷b	۴۷/۸۵b	۳/۱۲b	۱/۱۱b	
۴۰	۳۱/۷۳a	۴/۱۹a	۵۸/۹۶a	۴/۵۴a	۱/۳۹a	
خشکی	**	**	**	**	**	**
پروتئین	ns	ns	*	**	**	**



خشکی × پروتئین ns ns ns ns ns

*, **, ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیرمعنی دار

حروف مشابه در مقابل میانگین ها در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می باشد (آزمون دانکن).

پروتئین های هیدرولیز شده گیاهی گروهی از محرک های زیستی هستند که با تنظیم متابولیت اولیه و ثانویه می توانند اثرات منفی شرایط محیطی نامطلوب بر تولید محصول را کاهش دهند (Rouphael et al., 2017). مسیرهای متابولیکی متعددی نظیر متابولیسم کربن و نیتروژن، فتوسنتز، جذب و انتقال مواد غذایی و متابولیسم ثانویه مرتبط با سنتز ترکیبات فنلی و ترپنی به عنوان اهداف فعالیت این محرک های زیستی در گیاهان شناسایی و گزارش شده اند (Ertani et al., 2017). بر همین مبنا اظهار شده است که ترکیبات پروتئینی یادشده می توانند با تنظیم متابولیسم فنیل پروپانوئیدها و تقویت سیستم های دفاع آنتی اکسیدانی نقش مهمی در حمایت از رشد گیاهان در شرایط تنش های محیطی نظیر خشکی داشته باشند (Colla et al., 2017; Bavaresco et al., 2020) که می تواند توجیه کننده نتایج تحقیق حاضر باشد.

نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش نشت یونی و تولید مالون دی آلدئید در پاسخ به تنش خشکی می تواند نشان دهنده آسیب اکسیداتیو به غشاهای سلولی در گیاه آگاستاکه باشد. با این حال، کاربرد پروتئین های هیدرولیز شده گیاهی با افزایش سنتز ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و بهبود سیستم دفاع آنتی اکسیدانی باعث کاهش نشت یونی و پراکسیداسیون غشاء شده و اثرات مخرب خشکی را در این گیاه تعدیل نموده است. بنابراین، استفاده از این محرک های زیستی می تواند به عنوان یک راهکار مؤثر در بهبود تحمل گیاهان دارویی به تنش های محیطی پیشنهاد شود.

منابع

اصلانی، م.، حسنی، ع.، عبدالمهدی مندولکانی، ب.، برین، م.، ملکی، ر. (۱۴۰۰). تأثیر مایه کوبی با میکروارگانیزم های محرک رشد بر برخی ویژگی های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) تحت شرایط تنش خشکی. دوازدهمین کنگره علوم باغبانی ایران، رفسنجان، ایران.

امیدیگی، ر. (۱۳۸۸). تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد دوم، چاپ پنجم، انتشارات آستان قدس رضوی، ۴۳۸ ص. دوست محمدی، ه.، حسنی، ع.، ملکی، ر. (۱۴۰۲). پاسخ های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و آنتی اکسیدانی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) به محلول پاشی گاما-آمینو بوتیریک اسید در شرایط تنش خشکی. سیزدهمین کنگره علوم باغبانی ایران، گرگان، ایران. شهریور، ز.، ابطحی، ف.، حاتمی، م. (۱۳۹۸). تأثیر تنظیم کننده رشد سالیسیلات بر برخی شاخص های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) در شرایط تنش خشکی. مجله پژوهش های گیاهی، ۳۲(۴): ۱-۱۶.

طاهری بوکانی، ک.، حسنی، ع.، ملکی، ر.، رسولی صدقیانی، م.ح.، برین، م. (۱۴۰۲). اثر مایه کوبی با میکروارگانیزم های محرک رشد بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) در شرایط تنش خشکی. سیزدهمین کنگره علوم باغبانی ایران، گرگان، ایران.



مینایی، ا.، حسنی، ع.، ناظمیه، ح.، بشارت، س. (۱۳۹۸). تأثیر تنش خشکی بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی مرزنجوش بخارایی (*Origanum vulgare* L. ssp. *gracile*). دو ماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۵(۲): ۲۶۵-۲۵۲.

- Bavaresco, L., Lucini, L., Squeri, C., Zamboni, M., and Frioni, T. (2020). Protein hydrolysates modulate leaf proteome and metabolome in water-stressed grapevines. *Scientia Horticulturae*, 270: 109413.
- Bettaieb, I., Zakhama, N. Wannes, W.A. Kchouk, M.E. and Marzouk, B. (2009). Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Scientia Horticulturae*, 120(2): 271-275.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1): 25-30.
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., and Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3): 178-182.
- Colla, G., Hoagland, L., Ruzzi, M., Cardarelli, M., Bonini, P., Canaguier, R., and Roupheal, Y. (2017). Biostimulant action of protein hydrolysates: Unraveling their effects on plant physiology and microbiome. *Frontiers in Plant Science*, 8: 2202.
- Ertani, A., Schiavon, M., and Nardi, S. (2017). Transcriptome-wide identification of differentially expressed genes in *Solanum lycopersicon* L. in response to an alfalfa-protein hydrolysate using microarrays. *Frontiers in Plant Science*, 8: 260167.
- Heath, R.L., and Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1): 189-198.
- Huang, H., Ullah, F., Zhou, D.X., Yi, M., and Zhao, Y. (2019). Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in Plant Science*, 10: 1-10.
- Lutts, J.M., Kinet, J., and Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*, 78: 389-398.
- Malécange, M., Sergheraert, R., Teulat, B., Mounier, E., Lothier, J., and Sakr, S. (2023). Biostimulant properties of protein hydrolysates: Recent advances and future challenges. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11): 9714.
- Roupheal, Y., Colla, G., Giordano, M., El-Nakhel, C., Kyriacou, C.M., and De Pascale, S. (2017). Foliar applications of a legume-derived protein hydrolysate elicit dose dependent increases of growth, leaf mineral composition, yield and fruit quality in two greenhouse tomato cultivars. *Scientia Horticulturae*, 226:353-360.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152-178.



تأثیر میدان الکترومغناطیس بر رشد، ساختار تشریحی و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی - آنتی اکسیدانی گیاه دارویی زنیان (*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague)

ریحانه سعیدی^۱، گلناز تجدد^{۱*}، سایه جعفری مرندی^۱، مریم پیوندی^۱

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، شعبه تهران شمال، تهران، ایران. (Tajadodg@gmail.com)

چکیده

در پژوهش حاضر، تأثیر میدان الکترومغناطیسی با شدت‌های مختلف (۰.۵، ۲.۵ و ۴ میلی تسلا) بر ویژگی‌های رشد، ساختار تشریحی (ریشه، ساقه و دمبرگ)، برخی فعالیت‌های آنزیمی و آنتی اکسیدانی گیاه دارویی زنیان بررسی شد. برای سنجش فعالیت آنزیم فیل آلانین آمونیلایز و آنزیم اکسین اکسیداز از دستگاه اسپکتروفتومتر و برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه از روش DPPH استفاده شد. نتایج نشان داد که با افزایش شدت میدان، طول اندام هوایی، وزن خشک و تر گیاه، سطح برگ و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی زنیان کاهش می‌یابد، که این امر می‌تواند با افزایش آنزیم اکسین-اکسیداز مرتبط باشد. از آنجا که اثرات زیستی میدان مغناطیسی بر رشد گیاه به شدت با میزان اکسین در ارتباط است، یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهند که زنیان، حداقل در شرایط این آزمایش، نسبت به تنش میدان مغناطیسی آسیب‌پذیر است و مواجهه با این تنش‌ها ممکن است موجب بروز اختلالات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شود. همچنین، با وجود افزایش قابل توجه PAL در شدت‌های مختلف تنش الکترومغناطیسی و کاهش معنی‌دار فعالیت آنتی اکسیدانی، احتمال دارد مسیرهای سنتز ترکیبات فنولی که توسط PAL فعال می‌شوند، دچار اختلال شده باشند. میدان‌های الکترومغناطیسی به عنوان یک عامل تنش‌زا واکنش‌های حفاظتی مختلفی را در گیاه زنیان برمی‌انگیزند، از جمله کاهش سطح برگ، افزایش قطر دهانه‌ی آوندی، تغییر در سیستم آوندی و تقویت بافت‌های استحکامی، که در نهایت به افزایش زنده‌مانی گیاه کمک می‌کنند.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، تنش غیرزیستی، رشد، زنیان



۱. مقدمه

زنیان با نام علمی *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague که با اسامی انگلیسی Ajowan, Ajwain, Carum, Bishopweed شناخته می شود، متعلق به تیره چتریان (Apiaceae) است و در کتب طب سنتی با نام های مختلف نانخواه، انیسون بری، بادیان رومی معرفی شده است (مظفریان، ۱۳۹۱). این گونه در اتیوپی، مصر و هندوستان به صورت بومی و در ایران، افغانستان و پاکستان به صورت کاشته شده پراکنش دارد (مظفریان، ۱۳۹۱). زنیان یکی از مهمترین گیاهان دارویی کاربردی در صنایع داروسازی ایران می باشد که در تولید داروهای ضدسرطان، ضد ترومبولیت، آنتی باکتریال، کاهنده فشار خون، ضد سرفه و محافظ کبد کاربرد دارد (Esmaeili and Ghobadianpour, 2016). گیاهی ضد اکسیدان، اسپاسم، تهوع، آسم و نفخ، معرق، خلط آور، قاعده آور، ضد قارچ، مسهل، شیر افزا و مقوی معده و افزایش دهنده میل جنسی است. (مظفریان، ۱۳۹۱).

نگرانی هایی که پیرامون تاثیر منفی کشاورزی کنونی بر محیط زیست وجود دارد، موجب شده است که پژوهش های وسیعی برای جایگزینی روش های بهینه کشت و کار انجام شود. استفاده از میدان مغناطیس در مطالعات گیاهی اولین بار در روسیه و سپس در آمریکا و انگلستان انجام شد (Aladjadjiyan, 2010).

مطالعات مختلف در مورد تاثیر میدان های مغناطیسی و الکترومغناطیسی غیریونیزان بر مراحل مختلف رشد و نمو گیاهان انجام شده است و برخی تاثیرات مثبت بر جوانه زنی بذر، نرخ رشد، مقاومت به شرایط تنش و بهبود عملکرد گیاه مشاهده شده است (Hosseiniabadi et al., 2019؛ Waskow et al., 2021؛ Song et al., 2024؛ Afzal et al., 2021). با این وجود، برخی مطالعات نیز عکس حالت فوق را نشان داده اند (Kaur et al., 2021؛ Moghaddam et al., 2015؛ Tran et al., 2023). بنابراین ترسیم نتیجه ی نهایی برای استفاده از این میدان ها به عنوان جایگزین های مناسب به منظور بهبود رشد و عملکرد گیاه دشوار است (Pawelek et al., 2022). میدان های الکترومغناطیسی مجموعه ای از میدان های الکتریکی و میدان های مغناطیسی هستند. میدان مغناطیسی متغیر سبب القای میدان الکتریکی در بافت می شود و اثرات زیستی منتسب به میدان الکتریکی به میدان مغناطیسی نیز قابل تعمیم است (Azizi et al., 2019). تحقیقات نشان می دهند که اثرات میدان های الکترومغناطیس کم فرکانس، ناشی از تاثیر این میدان ها بر نفوذپذیری غشاء سلول است (Aladjadjiyan, 2010). به طور کلی میدان مغناطیسی در اغلب گیاهان فاز اول رشد را بهبود می بخشد. میدان مغناطیسی مناسب باعث کاهش pH دیواره سلولی، از بین رفتن خواب بذر، تاثیر بر متابولیسم سلول های مرستمی، افزایش جذب و آسمیلاسیون عناصر غذایی و بهبود فعالیت های فتوسنتزی می شود (Kaur et al., 2021).

میدان مغناطیسی شکل و میزان سطوح انرژی را در فرایندهای شیمیایی را از طریق تاثیر بر کانال کلسیم تغییر می دهد که نتیجه آن تغییرات بعدی در سطح مولکولی، سلولی و بافتی است. به نظر می رسد که ارتباط مستقیمی بین فرکانس و شدت میدان مغناطیسی بر پدیده های زیستی وجود دارد. به این ترتیب بسته به فرکانس و شدت میدان، امواج الکترومغناطیس با ایجاد تنش اکسیداتیو و افزایش تولید گونه اکسیژن واکنشگر، باعث ایجاد تغییراتی در محتوای شیمیایی سلول گیاهی تحت تنش می شوند. تنش زا بودن امواج الکترومغناطیس در گیاه، سازوکارهای دفاعی (آنزیمی و غیر آنزیمی) را ایجاد می کند که سبب حفاظت گیاه در برابر این تنش ها می گردد. مهمترین مکانیزم های آنزیمی شامل فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز،



پراکسیداز، کاتالاز، گلوکاتیون ردوکتاز و مهمترین حفاظت غیرآنزیمی شامل افزایش آنتی اکسیدانهای غیرآنزیمی مثل آسکوربیک اسید، کاروتنوئید، فلاونوئید و آنتوسیانینها است. (Kaur et al., 2021; Vishki et al., 2013). افزایش میزان این ترکیبات، نشان از فعالیت سلولهای گیاهی در جهت خنثی سازی یا تعدیل اثرات ناشی از تنش به شیوههای مختلف دارد که پیامد آن افزایش مقاومت و بردباری گیاه در برابر تنش است (Vishki et al., 2013).

تا کنون تاثیر میدان الکترومغناطیسی بر روی گیاه زنیان مورد بررسی قرار نگرفته است. تنها مطالعه صورت گرفته بر روی گیاه زنیان مربوط به مطالعه (مرغابی زاده و همکاران، ۱۳۹۳) بوده است که تاثیر امواج فراصوتی و میدان مغناطیسی بر جوانه زنی، شاخصهای رشد و عملکرد این گیاه را مورد مطالعه قرار داده است. تعیین شدت بهینه میدان مغناطیسی برای گونه یا واریته مورد نظر دشوار است. بنابراین روشهای آزمایشگاهی تاثیر میدان بر جوانه زنی قبل از آزمایشات صحرایی می تواند به تعیین شدت بهینه کمک کند. با این وجود مشخص نیست که آیا شدت میدان بهینه برای گونه تحت شرایط آزمایشگاهی همان تاثیر را در شرایط کشت در مزرعه اعمال کند (Podlesna et al., 2019). علی رغم پتانسیل موجود در این میدانها برای بهبود تولیدات زراعی، سازوکار دقیق آنها در سلولهای گیاهی ناشناخته باقی مانده است. تنها بررسی این میدانها به عنوان ابزار پرایمینگ به منظور بهبود تولیدات زراعی کافی نیست، بلکه باید به به همان اندازه به تاثیرات منفی احتمالی آنها نیز توجه شود که آیا و چگونه می توانند بر جوانه زنی، نرخ رشد، پاسخ به عوامل تنش زا و عملکرد گیاه تاثیر بگذارند (Pawelek et al., 2022). به این منظور در پژوهش کنونی، تاثیر میدان الکترومغناطیسی در دوزهای مختلف بر ویژگیهای رشد، برخی فعالیتهای آنزیمی و آنتی اکسیدانی گیاه دارویی زنیان مورد توجه قرار گرفت.

۲. مواد و روشها

۲-۱. کاشت گیاه و تیماردهی

بذر گیاه زنیان از شرکت پاکان بذر اصفهان (ایران) تهیه و در گلدانهای پلاستیکی تا رسیدن به مرحله ی گلدهی پرورش داده شد. قبل از اعمال تیمارها، بذر با استفاده از محلول آب ژاول ضد عفونی شدند. در این روش از ۸ گلدان برای هر تیمار استفاده شد. به این منظور، ترکیبی از خاک باغچه و خاک نارگیل استفاده گردید و آبیاری به طور منظم و روزانه انجام گرفت. در این پژوهش جهت اعمال تیمارهای مختلف الکترومغناطیس، از دستگاه مولد SDL900 شرکت Extech آمریکا استفاده گردید که در آن به ازای هر ۱۷ ولت، ۱ میلی تسلا ایجاد می شود.

۲-۲. اندازه گیری شاخص رشد

ظروف حاوی بذرهای مرطوب هفت روز متوالی به مدت نیم ساعت تحت تاثیر امواج الکترومغناطیس با شدت های مختلف ۰.۵، ۲.۵ و ۴ میلی تسلا قرار گرفتند. نمونه ها پس از حدود ۲ ماه رشد در گلدان برای انجام آزمایشات مربوطه جمع آوری شدند. پس از برداشت گیاهان طول بلندترین ریشه از ناحیه یقه تا نوک ریشه و طول بلندترین ساقه از ناحیه یقه تا نوک مریستم انتهایی در گیاهان اندازه گیری شد. پس از برداشت، ریشه و اندام هوایی گیاهان جدا شده و وزن تر و خشک نمونه ها با استفاده از ترازو اندازه گیری شد.



۲-۳. ویژگی های تشریحی

به منظور تثبیت نمونه ها از محلول FAA استفاده گردید. نمونه ها (ساقه، دمبرگ و ریشه) در هنگام برداشت به صورت مجزا در ظروف حاوی محلول FAA قرار داده شدند و تا هنگام برش گیری در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. محلول تثبیت کننده FAA مورد استفاده به صورت ترکیبی از فرمالین (۵ میلی لیتر)، الکل اتیلیک ۵۰ درصد (۹۰ میلی لیتر) و اسید استیک (۵ میلی لیتر) تهیه و استفاده گردید. به منظور تهیه برش های دستی و مطالعه با میکروسکوپ نوری، از قسمت های یکسان اندام های مختلف تمامی نمونه ها برش های نازک و یکنواخت تهیه شد. مقاطع با استفاده از تیغ و یونولیت تهیه گردید و سپس با کمک روش رنگ آمیزی کارمن زاجی-سبز متیل رنگ آمیزی شد. برای هر مرحله تکاملی بیش از ۱۰ نمونه مورد مطالعه قرار گرفت. از نمونه های رنگ آمیزی شده توسط میکروسکوپ نوری نیکون (Nikon, Tokyo, Japan) عکس تهیه گردید.

۲-۴. تعیین میزان آنزیم ها

به منظور سنجش آنزیم اکسین اکسیداز از روش (Gordon و Weber، ۱۹۵۱) استفاده شد. این آنزیم توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Philler scientific su-6100 در طول موج ۵۳۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت. مخلوط مورد استفاده شامل بافر فسفات (۰.۰۲ M, PH ۶.۱)، ایندول استیک اسید (10-3 M)، کلرید منگنز (10-3 M)، ۴-۲ دی کلرو فنول (10-3 M) بود.

به منظور سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیزاز از روش (Wu و Wang، ۲۰۰۵) که مبتنی بر غلظت اسید سینامیک تولید شده است، استفاده شد. به این منظور از عصاره پروتئینی که در بافر تریس-گلیسین استخراج شده و در فریزر نگهداری می شود، استفاده شد. ترکیبی از ۱ میلی لیتر بافر استخراج تریس-گلیسین، ۰/۵ میلی لیتر L-فنیل آلانین ۱۰ میلی مولار و ۰/۴ میلی لیتر آب دوبار تقطیر و ۱ میلی لیتر عصاره پروتئینی استخراج شده در یک لوله آزمایش ریخته و محلول حاصل به مدت ۱ ساعت در بن ماری ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. محلول بلانک شامل تمام موارد فوق به غیر از عصاره پروتئینی می باشد. بعد از گذشت ۶۰ دقیقه ۰/۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۶ مولار به محلول اضافه شد تا واکنش خاتمه یابد. سپس ۱۵ میلی لیتر اتیل استات اضافه شد تا دو فاز تشکیل شود فاز رویی را برای انجام آزمایش در لوله جداگانه ای ریخته و اجازه داده شد تا در دمای آزمایشگاه تبخیر شود. بعد از گذشت مدت زمانی رسوب اسید سینامیک در ته ظرف باقی می ماند. بر روی رسوب حاصله ۳ میلی لیتر هیدروکسید سدیم ۰/۰۵ مولار ریخته و رسوب را در آن حل کرده و سپس جذب محلول حاصله در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد. بلانک در این مرحله هیدروکسید سدیم ۰/۰۵ مولار بود. از اسید سینامیک برای رسم منحنی استاندارد در غلظت های مشخص (۰.۲۵، ۰.۵۰، ۱.۰۰، ۱.۰۰، ۲.۰۰ M/ml) استفاده شد.

۲-۵. سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی

در این مطالعه، فعالیت آنتی اکسیدانی با کمک DPPH با روش (Akowuah و همکاران، ۲۰۰۵) سنجش شد. DPPH یک ترکیب رادیکالی پایدار با رنگ بنفش می باشد که با احیاء شدن توسط عناصر دهنده الکترون یا هیدروژن (ترکیبات آنتی



اکسیدانی) به رنگ زرد تغییر می یابد. فعالیت آنتی اکسیدانی که شامل توانایی اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات موجود در عصاره های مختلف می باشد، با اندازه گیری میزان کاهش جذب نوری محلول حاوی DPPH مورد سنجش قرار می گیرد. ۰/۱ گرم برگ در ۱۰ میلی لیتر حلال متانول ۸۰٪ به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد. سپس عصاره با کمک کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف کرده و محلول صاف شده به مدت ۱۰ دقیقه و در ۳۰۰۰ دور در ثانیه سانتریفوژ شد و از مایع حاصله برای انجام آزمایش استفاده شد.

حجم های متفاوتی از عصاره (۵۰۱-۲۵۰ μl) با متانول مطلق به حجم ۳ میلی لیتر رسانده شد، سپس ۱ میلی لیتر از محلول ۰/۰۰۴ DPPH به متانول اضافه و محلول به خوبی تکان داده شد. نمونه های حاصله به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگه داشته شدند و پس از آن جذب نوری در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. از متانول ۸۰٪ به عنوان بلانک استفاده گردید. آسکوربیک اسید به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. به این ترتیب میزان IC₅₀ عصاره ها با یک آنتی اکسیدان خالص مقایسه گردید. ترکیبی از ۳ میلی لیتر متانول مطلق و ۱ میلی لیتر DPPH ۰/۰۰۴ به عنوان شاهد منفی مورد استفاده قرار گرفت. میزان درصد بازدارندگی با استفاده از فرمول ذیل محاسبه گردید و میزان IC₅₀ نمونه ها به وسیله رسم منحنی غلظت در برابر درصد ممانعت کنندگی محاسبه شد.

جذب شاهد منفی - جذب نمونه

$$\% \text{ بازدارندگی} = \frac{\text{جذب شاهد منفی}}{100} \times 100$$

جذب شاهد منفی

۳. نتایج

۳-۱. تاثیر امواج الکترومغناطیس بر شاخص های رشد گیاه زنیان

همانطور که در جدول ANOVA (جدول ۱) مشاهده می شود، اندازه گیری میانگین طول و قطر اندام هوایی، طول و قطر ریشه، وزن تر و خشک گیاه، و سطح برگ گیاه در بازه ی دو ماه پس از اعمال تیمار، بیانگر تاثیر معنی دار میدان بر تمامی شاخص های رشدی به جز طول و قطر ریشه است. با وجود اینکه شدت های مختلف میدان الکترومغناطیس بر میانگین طول و قطر ریشه تاثیر معنی دار نداشت، طول اندام هوایی گیاه زنیان تحت تاثیر تنش الکترومغناطیس با شدت ۴ و ۰.۵ میلی تسلا کاهش معنی داری نسبت به شاهد و گروه تحت تنش ۲.۵ میلی تسلا نشان داد. تنش الکترومغناطیس با شدت ۲.۵ میلی تسلا، تاثیر معنی داری بر طول اندام هوایی نسبت به گروه شاهد نشان نداد، اما با مقایسه دو گروه ۰.۵ و ۴ میلی تسلا اختلاف معنی دار در آن دیده شد. اندازه گیری میانگین قطر اندام هوایی نشان داد که تنها تنش الکترومغناطیس با شدت ۴ میلی تسلا سبب افزایش معنی دار نسبت به گروه شاهد و تیمار ۲.۵ میلی تسلا شد. یا این وجود بین شدت تنش ۰.۵ و ۴ میلی تسلا از لحاظ قطر اندام هوایی اختلافی وجود نداشت. همچنین بر این اساس تمامی شدت های اعمال شده، سبب کاهش معنی دار وزن تر و خشک گیاه شد. بیشترین میانگین وزن تر و خشک متعلق به گروه کنترل و کمترین میانگین مربوط به گروه با تنش ۴ میلی تسلا بود (جدول ۱).



تغییرات سطح برگ گیاه زنیان تحت تاثیر شدت های مختلف تنش الکترومغناطیس مورد سنجش قرار گرفت. بر اساس نتایج تمامی شدت های اعمال شده ۰.۵، ۲.۵، و ۴ میلی تسلا، سبب کاهش سطح برگ شد. به این ترتیب با افزایش شدت تنش از ۰.۵ به ۲.۵ و ۴ میلی تسلا، میزان کاهش مشاهده شده در سطح برگ بیشتر بود (جدول ۱)

جدول ۱. آنالیز واریانس میانگین شاخص های رشد گیاه زنیان دو ماه پس از آغاز تیمار با شدت های مختلف الکترومغناطیس

شاخص رشد	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آماره فشر	سطح معنی داری
قطر ریشه	بین گروه ها	۳	۰.۰۰۰	۰.۱۸۵	۰.۹۰۴
	درون گروه ها	۸	۰.۰۰۱		
	کل	۱۱			
قطر اندام هوایی	بین گروه ها	۳	۰.۰۶۴	۳.۴۲۸	۰.۷۰۳
	درون گروه ها	۸	۰.۰۵۰		
	کل	۱۱	۰.۱۱۴		
وزن تر	بین گروه ها	۳	۰.۰۸۳	۱۳۸.۳۳۳	۰.۰۰۰
	درون گروه ها	۸	۰.۰۰۲		
	کل	۱۱	۰.۰۸۵		
وزن خشک	بین گروه ها	۳	۰.۰۶۶	۳۲۷.۷۹۲	۰.۰۰۰
	درون گروه ها	۸	۰.۰۰۱		
	کل	۱۱	۰.۰۶۶		
طول اندام هوایی	بین گروه ها	۳	۱۷.۸۹۷	۱.۴۳۲۳	۰.۰۰۰
	درون گروه ها	۸	۰.۰۳۳		
	کل	۱۱	۱۷.۹۳۰		
سطح برگ	بین گروه ها	۳	۷.۷۸۹	۳۸۹.۴۲۸	۰.۰۰۰
	درون گروه ها	۸	۰.۰۵۳		
	کل	۱۱	۷.۸۴۲		
طول ریشه	بین گروه ها	۳	۰.۰۱۷	۱.۳۳۳	۰.۳۳۰
	درون گروه ها	۸	۰.۰۳۳		
	کل	۱۱	۰.۰۵۰		

۳-۲. تاثیر امواج الکترومغناطیس بر فعالیت آنزیم ها و محتوای آنتی اکسیدانی گیاه زنیان



آنالیز واریانس آنزیم‌های مورد سنجش و میزان IC50 برگ‌ها بیانگر وجود تفاوت معنی دار میزان فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیلایز و اکسین اکسیداز و همچنین فعالیت آنتی کسیدانی IC50 گیاه زنیان تحت تاثیر شدت‌های مختلف میدان الکترومغناطیس است. بر این اساس کمترین میانگین آنزیم‌های فنیلی آلانین آمونیلایز و اکسین اکسیداز در گروه شاهد و بیشترین میانگین در گروه چهارم با شدت تنش ۴ میلی تسلا مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۲. میانگین (\pm SE) میزان فعالیت آنزیم‌های برگ گیاه زنیان (*Trachyspermum ammi*) تحت تنش‌های الکترومغناطیس

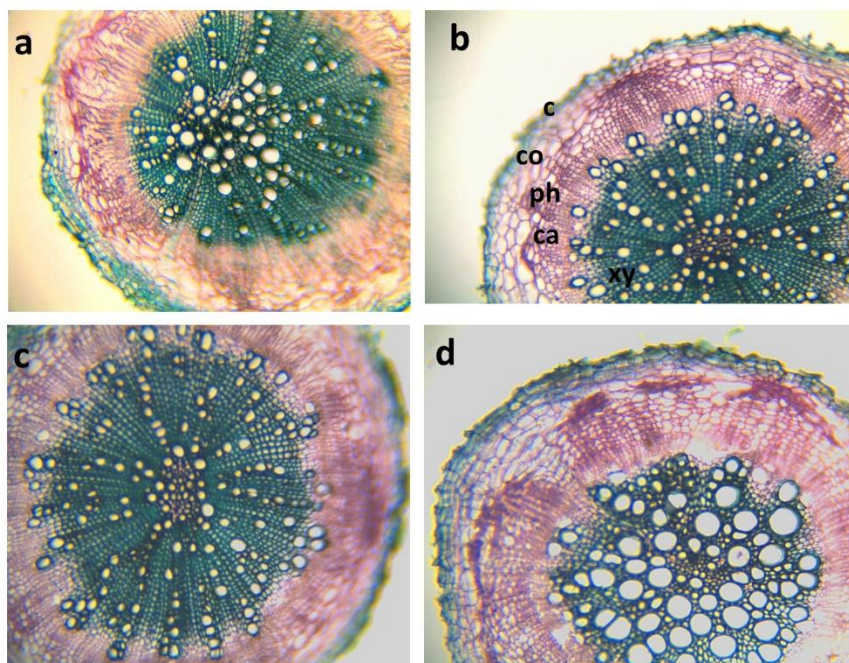
تیمار	اکسین اکسیداز $\Delta OD/min.gFW$	فنیل آلانین آمونیلایز (μM cinnamate/min.gFW)	IC50 (mgDW/ml)
شاهد	$4/86 \pm 0/04^{d*}$	$2/79 \pm 0/11^d$	$390 \pm 56/12^c$
۰.۵ میلی تسلا	$5/2 \pm 0/03^c$	$3/54 \pm 0/03^c$	$505 \pm 52/36^{bc}$
۲.۵ میلی تسلا	$5/42 \pm 0/04^b$	$4/28 \pm 0/09^b$	$682/5 \pm 91/23^{ab}$
۴ میلی تسلا	$5/83 \pm 0/08^a$	$4/97 \pm 0/21^a$	$792/5 \pm 71/34^a$

*گروه بندی بر اساس آزمون دانکن ($P \leq 0.05$) انجام شده حروف مشترک نشان دهنده معنی دار نبودن اختلاف بین میانگین‌ها در هر تیمار است.

میزان IC50 برگ تفاوت با در نظر گرفتن تمام گروه‌های مورد بررسی، تفاوت معنی دار نشان داد. با این وجود تفاوت معنی داری بین گروه شاهد و گروه دوم با شدت تنش ۰.۵ میلی تسلا مشاهده نشد. همچنین افزایش تنش از ۰.۵ میلی تسلا به ۲.۵ و از ۲.۵ به ۴ میلی تسلا، تغییر معنی داری در محتوای آنتی اکسیدانی این گیاه ایجاد نکرد. به این ترتیب شدت‌های بالاتر میدان الکترومغناطیس تاثیر معنی دار منفی بر فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه زنیان ایجاد کرده است.

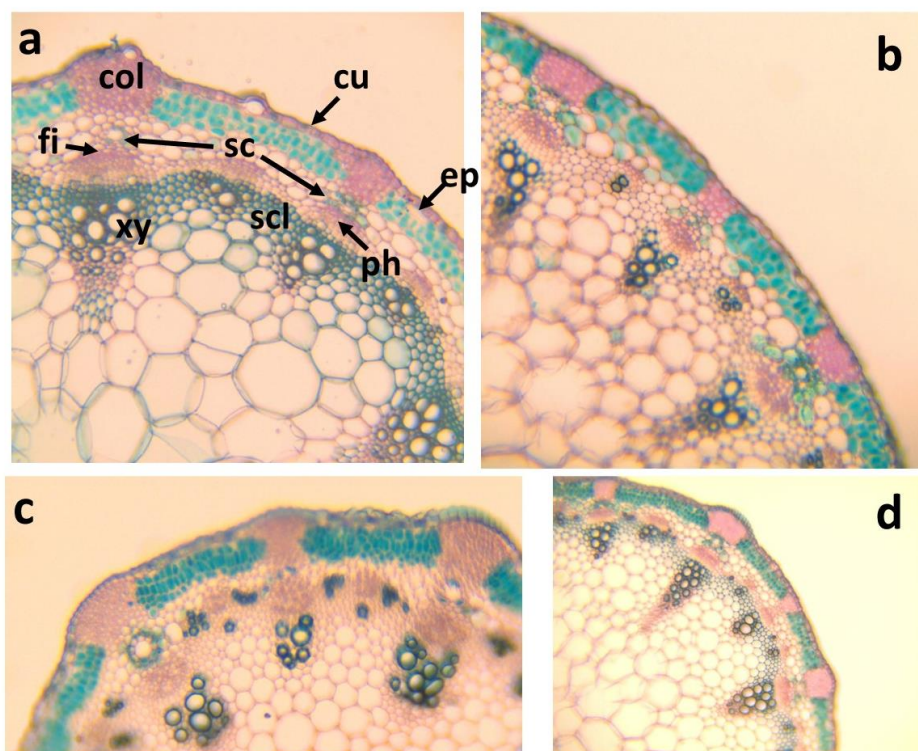
۳-۳. تاثیر امواج الکترومغناطیس بر ساختار تشریحی گیاه زنیان

در حالیکه قطر ریشه اختلاف معنی داری بین گروه‌های مورد مطالعه نشان نداد، با این حال، تغییرات تشریحی ریشه گیاه در برابر تیمارهای اعمال شده، مشهود می‌باشد. در تیمار ۴ میلی تسلا، قطر دهانه آوندهای چوبی به شدت افزایش یافت اما ضخامت ناحیه چوب نسبت به گروه‌های دیگر، به خصوص تیمار ۲.۵ میلی تسلا، کاهش نشان داد. ضخامت ناحیه چوب نسبت به سایر گروه‌های مورد مطالعه، کمتر بود اما سلول‌ها با تعداد بیشتر و اندازه‌ی کوچکتر هستند. ناحیه آبکش نیز در تیمار ۴ میلی تسلا، افزایش نشان داد. گروه شاهد و تیمار ۰.۵ میلی تسلا، تفاوت خاص و قابل ملاحظه‌ای با هم نداشتند. افزایش ضخامت ناحیه چوب پنبه و کاهش ضخامت پوست در تیمار ۴ میلی تسلا نسبت به شاهد و سایر گروه‌ها مشاهده شد (شکل ۱).



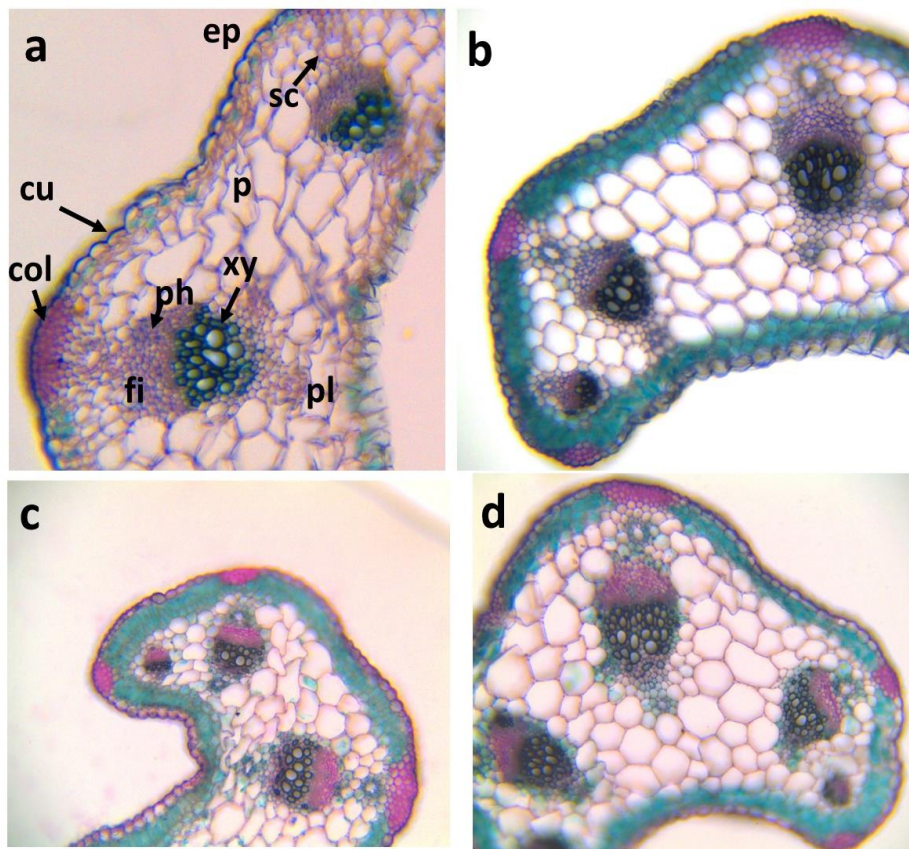
شکل ۱. تغییرات ساختار تشریحی ریشه گیاه زنیان *Trachyspermum copticum* در پاسخ به شدت‌های مختلف تنش الکترومغناطیس. a: شاهد، b: تیمار ۰.۵ میلی تسلا، c: تیمار ۲.۵ میلی تسلا؛ d: ۴ میلی تسلا. C: چوب پنبه؛ CO: پوست؛ ca: کامبیوم؛ Ph: آبکش؛ XY: چوب.

اعمال تنش الکترومغناطیس بر گیاه زنیان موجب برخی تغییرات در ساختار تشریحی ساقه گیاه زنیان شده است. ضخامت بافت کلانشیم در تیمارهای ۴ و ۲.۵ میلی تسلا، افزایش بیشتری نسبت به شاهد و تیمار ۰.۵ نشان داد. که این افزایش ضخامت در تیمار ۲.۵ نسبت به تیمار ۴ میلی تسلا محسوس تر می‌باشد (شکل ۳). بافت چوب در تیمار ۴ و تیمار ۲.۵ میلی تسلا ضخامت بیشتری نسبت به شاهد و تیمار ۰.۵ میلی تسلا نشان داد. اما تعداد سلول‌های چوب کمتر و قطر دهانه آوند بیشتر بود. ناحیه آبکش در تیمار ۴ و ۲.۵ میلی تسلا، نسبت به دو گروه دیگر به ویژه گروه شاهد، ضخامت بیشتری نشان داد. اما بافت اسکلرانشیمی در شاهد و تیمار ۴ میلی تسلا نسبت به دو گروه دیگر، ضخامت و رنگ پذیری بیشتری داشته است (شکل ۲).



شکل ۲. تغییرات ساختار تشریحی ساقه گیاه زنیان *Trachyspermum copticum* در پاسخ به شدت‌های مختلف تنش الکترومغناطیس. a: شاهد، b: تیمار ۰.۵ میلی تسلا، c: تیمار ۲.۵ میلی تسلا؛ d: ۴ میلی تسلا. Cu: کوتیکول؛ ep: اپیدرم؛ Col: کلانشیم؛ sc: حفره‌ی ترشچی؛ fi: فیبر؛ p: پارانشیم؛ ca: کامبیوم؛ scl: اسکلرانشیم؛ Ph: آبکش؛ XY: چوب؛ pi: پارانشیم مغزی.

دمبرگ گیاه زنیان در برش عرضی نعلی شکل و زاویه دار می باشد. ضخامت بافت کلانشیم دمبرگ گیاه زنیان تحت تاثیر تنش های مختلف الکترومغناطیس، کاهش جزئی نشان داد. تیمارهای اعمال شده، تاثیر محسوسی بر قطر دهانه آوند چوب نداشت اما تعداد سلول های آوندی در شدت ۴ میلی تسلا نسبت به گروه های دیگر و شاهد افزایش نشان داد. افزایش حجم سلول های پارانشیمی دمبرگ تحت تاثیر تیمار ۴ میلی تسلا مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۳. تغییرات ساختار تشریحی دمبرگ گیاه *Trachyspermum copticum* در پاسخ به شدت های مختلف تنش الکترومغناطیس. a: شاهد، b: تیمار ۰.۵ میلی تسلا، c: تیمار ۲.۵ میلی تسلا؛ d: ۴ میلی تسلا. Cu: کوتیکول؛ ep: اپیدرم؛ Col: کلانشیم؛ sc: حفره ی ترشی؛ fi: فیبر؛ p: پارانشیم؛ Ph: آبکش؛ XY: چوب؛ pi: پارانشیم مغزی.

۴. بحث و نتیجه گیری

در پژوهش کنونی، اگرچه تفاوت معنی داری در طول و قطر ریشه نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد، تغییرات معنی دار سایر شاخص های رشد، نشان دهنده تاثیر منفی این تنش بر فرآیند رشد گیاه زنیان بود. در مطالعه ای مشابه که توسط (مرغابی زاده و همکاران، ۱۳۹۳) بر روی گیاه زنیان انجام شد، تیمار بذرها با میدان مغناطیسی تاثیر معنی داری بر سرعت جوانه زنی بذرها نداشت، اما موجب کاهش معنی دار شاخص سطح برگ و وزن هزاردانه گردید که با نتایج پژوهش کنونی هم راستا است. تفاوت های زیادی در نتایج مطالعات مختلف در این زمینه وجود دارد که می تواند ناشی از تفاوت در گونه های گیاهی، مدل های آزمایشی و شرایط تیمار باشد. (Pawelek et al., 2022) به عنوان مثال، مطالعات نشان داده اند که نرخ جوانه زنی و رشد دانه رست های گیاهانی چون یونجه (Podlesna et al., 2019) و زیره (Razmjoo et al., 2017) تحت تاثیر میدان مغناطیسی تغییر می کند، در حالی که در گیاه آفتابگردان، میدان مغناطیسی باعث افزایش رشد گیاه، وزن تر کلی و وزن تر ریشه



می شود. (Afzal et al., 2021) در برخی مطالعات دیگر، اثرات میدان مغناطیسی ایستا و متغیر بر جوانه زنی و رشد گیاهان مشاهده شده است. به طور مثال، (Konefal-Janocha و همکاران، ۲۰۱۹) نشان دادند که میدان مغناطیسی ایستا موجب افزایش معنی دار شاخص های جوانه زنی و طول دانه رست در تمامی تیمارها، در حالی که میدان مغناطیسی متغیر موجب کاهش معنی دار این شاخص ها شد. همچنین مطالعه ای که توسط (Jin و همکاران، ۲۰۱۹) بر تاثیر ۳۰۰ میلی تسلا میدان مغناطیسی ایستا بر روی رشد دانه رست گیاه آراییدوپسیس انجام شد، تاثیر معنی داری در رشد در مقایسه با شاهد نشان نداد که آن را مرتبط با طرح آزمایش و شرایط رشد گیاه دانستند.

نتایج این تحقیق، کاهش معنی دار برخی صفات رشد، مانند طول ساقه، و همچنین کاهش سطح برگ گیاه زنیان تحت تاثیر میدان مغناطیسی را تایید می کند. کاهش سطح برگ به عنوان یک پاسخ برای محدود کردن آسیب بافت برگ تحت تنش در نظر گرفته می شود، و کاهش وزن تر و خشک نیز احتمالاً به دلیل کاهش سطح برگ است که منجر به کاهش کلروفیل و فتوسنتز و در نهایت کاهش بیومس گیاه می شود (Vishki et al., 2013). اکسین به عنوان یک هورمون گیاهی نقش مهمی در فرآیندهای مختلفی مانند نورگرایی، جاذبه گرایی، تمایز آوندی، طویل شدن سلولی و تکامل میوه ایفا می کند (Sadanadom and Napier, 2010). همچنین، اکسین ها در پاسخ به تنش های غیرزیستی نقش ویژه ای دارند و در این زمینه به عنوان یک هورمون با عملکرد چندگانه شناخته شده اند (Fahad et al., 2015؛ Nazli et al., 2020). پژوهش های اخیر نشان می دهند که مسیر بیوسنتز اکسین، که شامل ژن YUCCA است، می تواند در تغییر پاسخ گیاهان به متغیرهای محیطی نقش داشته باشد (Jin et al., 2019). با توجه به نقش مهم اکسین در رشد گیاهان و اثرات تنش های مختلف بر آن، تغییرات متاثر از میدان مغناطیسی بر فعالیت آنزیم های کاتابولیزم اکسین نظیر اکسین-اکسیداز و پراکسیداز (Husen and Gondar, 2012)، باید مورد توجه قرار گیرد.

در پژوهش کنونی، بررسی فعالیت آنزیم اکسین-اکسیداز نشان داد که با افزایش شدت میدان، فعالیت این آنزیم افزایش یافته است، که احتمالاً باعث کاهش میزان اکسین و تاثیر منفی بر رشد گیاه شده است. افزایش فعالیت آنزیم اکسین اکسیداز ناشی از قرا گرفتن در معرض امواج مغناطیسی در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Atak et al., 2014) و اغلب موجب کاهش میزان اکسین از طریق تنظیم بیان بیوسنتز اکسین و ژن های مربوط به آن می شود (Nazli et al., 2020). بر اساس پژوهش های مختلف این تغییرات در میزان اکسین می تواند منجر به کاهش رشد گیاه تحت تاثیر میدان مغناطیسی شود (Nazli et al., 2020؛ Mei et al., 2009؛ Sun et al., 2010؛ Pandey et al., 2019).

برخی مکانیسم های گیاهی درگیر در رشد و نمو گیاهان نظیر انتقال سیگنالی هورمون ها (اکسین، جاسمونات و اتیلن و آبسزیک اسید) به کانال های انتشار کلسیم وابسته هستند و از غشاء به عنوان یک بخش مهم پاسخ های زیستی استفاده می کنند. تابش الکترومغناطیس غیر یونیزان به دنبال تخریب دو منفذ پروتئینی غشاء درگیر در انتشار کلسیم، موجب افزایش غلظت Ca^{2+} سلول می شود (Ribeiro-Oliveira, 2019). همچنین، برخی مطالعات نشان داده اند که افزایش غلظت کلسیم سیتوسولی، تولید گونه های واکنشگر اکسیژن (ROS) و سیگنال دهی اکسینی (Jin et al., 2019) در تنظیم رشد گیاه توسط میدان های مغناطیسی و در نتیجه در پاسخ گیاهان به میدان های مغناطیسی دخالت داشته باشد. (Kaur et al., 2021؛ Jin et al., 2019). در همین



راستا، اعمال میدان الکترومغناطیس بر دو گیاه خیار و گوجه فرنگی، به صورت تنش کوچک محیطی عمل کرده و سبب کاهش رشد و تکوین این گیاهان شدند که آن را به کاهش الکترولیت ها ناشی از اختلال در عملکرد غشاء، و همچنین ایجاد رادیکال - های آزاد نسبت دادند (Al-Kathiri et al., 2016).

گیاهان از آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دسموتاز، و کاتالاز برای غلبه بر تنش اکسیداتیو استفاده می کنند. همچنین تولید آنتی اکسیدان های با وزن مولکولی پایین مانند ترکیبات فنلی، آلفا توکوفرول، آسکوربات و گلوکاتینون نیز به عنوان آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی در این گیاهان افزایش می یابد (Caverzan et al., 2016). اکسین و برخی هورمون های گیاهی دیگر مانند جیبرلیک اسید، آبسزیک اسید، سیتوکینین، و غیره، بر سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی تاثیر گذاشته و موجب افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش ها و کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش غیر زیستی می شود. (Raza et al., 2022). در پژوهش کنونی، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه زنیان با افزایش شدت میدان، کاهش یافته است به طوریکه بیشترین فعالیت آنتی اکسیدان مربوط به گروه شاهد بود که می تواند با تخریب سطوح اکسین در پی افزایش آنزیم اکسین اکسیداز مرتبط باشد. با توجه به اینکه اثرات زیستی میدان مغناطیسی بر رشد گیاه به شدت با میزان اکسین در ارتباط است، شواهد فوق این مسئله را تایید می کند که در واقع گیاه زنیان نسبت به تنش میدان مغناطیسی حداقل با طرح آزمایش موجود در این پژوهش، آسیب پذیر است. این مسئله با وجود کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی با افزایش میزان شدت میدان به خوبی قابل توجیه می باشد

افزایش معنی دار آنزیم PAL نیز در گیاه زنیان با افزایش شدت میدان مغناطیسی مشاهده شد. با وجود افزایش معنی دار PAL در شدت های مختلف تنش الکترومغناطیس و با توجه به کاهش معنی دار فعالیت آنتی اکسیدانی، به نظر می رسد که گیاه زنیان نسبت به شدت های اعمال شده آسیب پذیر بوده و احتمالاً مسیرهای سنتزی ترکیبات فنولی که توسط PAL فعال می شوند، با اختلال مواجه شده است. آنزیم PAL آنزیم بیوسنتزی کلیدی در کاتالیز مرحله اول تولید فنولیک ها می باشد که در مکانیسم - های دفاعی در برابر تعدادی از تنش های زیستی و غیر زیستی فعال می شوند. آنزیم PAL، یکی از آنزیم های مهم در گیر در پاسخ گیاهان به شرایط تنش می باشد. این آنزیم بیوسنتز ترانس-سینامیک اسید را کاتالز می کند که آغازگر مسیز فیل پروپانوئیدی است و منجر به تشکیل طیف وسیعی از ترکیبات فنولیکی می شود (Soran et al., 2014).

(Ulgen و همکاران، ۲۰۲۱)، با اعمال میدان مغناطیسی در شدت های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی تسلا در دوره های زمانی مختلف بر گیاه بادرنجبویه نشان دادند که ترکیبات فنلی، آنزیم های آنتی اکسیدانی و فعالیت آنزیم PAL افزایش می یابد و پیشنهاد دادند که استفاده از میدان مغناطیسی با شدت پایین (۵۰ میلی تسلا) موجب افزایش تولید و ارزش دارویی گیاه می شود.

میدان های الکترومغناطیس، آناتومی و ساختار تشریحی گیاهان را نیز تحت تاثیر قرار می دهد که می توان به افزایش چوبی شدن، گسترش استوانه مرکزی و بزرگتر شدن سلول های پارانشیمی اشاره کرد (شبرنگی، ۱۳۸۹). در پژوهش کنونی تاثیر میدان الکترومغناطیسی بر ساختار تشریحی گیاه زنیان مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی می توان گفت که ساختار ریشه گیاه زنیان در سه گروه شاهد، شدت ۰.۵ و ۲.۵ میلی تسلا، تفاوت مشهودی نداشت اما قطر دهانه ی آوندهای چوبی در تیمار ۴ میلی تسلا به طور قابل ملاحظه ای نسبت به گروه های دیگر افزایش داشت. فراخ شدن دهانه ی آوندهای چوبی و گسترش سیستم آوندی می تواند با افزایش معنی دار آنزیم PAL مرتبط باشد. افزایش قطر دهانه آوندهای چوبی می تواند در افزایش سرعت جریان آب



و نمک‌های کانی به بخش‌های مختلف گیاه موثر باشد (اربابیان و همکاران، ۱۳۸۹). افزایش ناحیه چوب و بافت چوبی و سیستم آوندی احتمالاً به علت افزایش فعالیت پراکسیدازی است که موجب تولید لیگنین می‌شود (Vishki et al., 2013).

(Gemici و همکاران، ۲۰۱۳) نیز با بررسی تاثیر میدان الکترومغناطیس بر ساختار رویشی و فیزیولوژی بر Juglans regia و Cerasus avium، افزایش ضخامت برگ و فشردگی مزوفیل برگ این گیاهان را تحت شرایط تنش نشان دادند. این محققین تاثیرات منفی ولتاژ بالای الکترومغناطیس بر رشد و تکوین این گیاهان نشان دادند. بنابراین میدان‌های الکترومغناطیسی به عنوان یک عامل تنش‌زا در گیاه زینان، موجب واکنش‌های حفاظتی گیاه از قبیل افزایش قطر دهانه‌ی آوندی و تغییر در سیستم آوندی و افزایش بافت استحکامی شده است تا زنده‌مانی گیاه را افزایش دهد. (Vishki و همکاران، ۲۰۱۳) افزایش کرک ساقه، افزایش ناحیه چوب و تعداد ردیفه‌های سلول‌های پارانشیمی را پاسخ گیاه به منظور افزایش مقاومت در برابر تنش ذکر نمودند. همچنین کاهش تراکم و فشردگی سلول‌های مزوفیل پارانشیم و افزایش فضای بین سلولی را جهت افزایش تبادل گاز در گیاه عنوان نمودند. در مطالعات مختلف بررسی تغییرات ریختی و ساختار تشریحی گیاهان بادام زمینی، عدس و کلزا تحت تیمار با میدان‌های مغناطیسی و الکترومغناطیسی بیانگر افزایش فرایند چوبی شدن، گسترش سیستم آوندی، فراخ شدن دهانه آوندهای چوبی بوده است (Jo et al., 2024؛ شبرنگی و همکاران، ۱۳۸۹). در هم ریختگی ساختار مزوفیل برگ‌ها به ویژه در حد پارانشیم اسفنجی، افزایش فضاها بین سلولی در برگ نمونه‌های تحت تاثیر میدان‌های الکترومغناطیسی در مطالعات مختلف گزارش شده است (اربابیان و همکاران، ۱۳۸۹؛ Jo et al., 2024). میدان‌های الکترومغناطیسی حتی در شدت‌های کم می‌توانند به عنوان یک عامل تنش‌زا موجب القای ژن‌های درگیر در تشکیل بافت‌های استحکامی باشند که نتیجه عملکرد آنها به صورت افزایش بافت کلانشیم و اسکلرانشیم در ساقه‌ها دیده می‌شود. از طرف دیگر تخریب زود هنگام و سریع تر پارانشیم مغز می‌تواند نوعی پاسخ به تنش ناشی از اثر میدان الکترو مغناطیس باشد زیرا این سلول‌ها که اغلب بیش از سلول‌های پارانشیم پوستی واکوئلی شده‌اند با تحلیل رفتن سریع موجب کاهش مصرف انرژی زیستی و تغییر مسیرهای بیوسنتزی برای تشکیل هر چه بیشتر بافت‌های ضروری از جمله بافت‌های استحکامی می‌شوند. تغییر در سیستم آوندی و افزایش قطر دهانه آوندهای چوبی نیز پاسخی در همین جهت و برای جریان سریع تر و مناسب تر آب و نمک‌های کانی به بخش‌های فعال گیاه می‌باشد (اربابیان و همکاران، ۱۳۸۹).

این پژوهش نشان می‌دهد که عواملی مانند شدت و مدت زمان تابش میدان الکترومغناطیسی، همچنین نوع گونه‌ی گیاهی، می‌توانند در واکنش‌های منفی رشد و توسعه‌ی گیاهان نقش داشته باشند، به‌ویژه زمانی که میزان اکسین و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد. کاهش رشد ناشی از اعمال تنش‌های مختلف بر گیاه زینان، آسیب‌پذیری این گیاه را در برابر میدان مغناطیسی تحت شرایط آزمایشی تأیید می‌کند و نشان می‌دهد که مواجهه با این نوع تنش‌ها ممکن است باعث بروز اختلالات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شود. نتایج پژوهش حاکی از آن است که با افزایش شدت میدان، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه زینان کاهش می‌یابد که این امر می‌تواند به تخریب سطح اکسین و افزایش آنزیم اکسین-اکسیداز مرتبط باشد. همچنین، افزایش معنی‌دار آنزیم PAL در گیاه زینان با افزایش شدت میدان مغناطیسی مشاهده شد. باوجود افزایش قابل توجه PAL در شدت‌های مختلف تنش الکترومغناطیسی و کاهش معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی، به نظر می‌رسد که گیاه



زنیان نسبت به شدت‌های اعمال‌شده آسیب‌پذیر بوده و احتمالاً مسیرهای سنتز ترکیبات فنولی که توسط PAL فعال می‌شوند، دچار اختلال شده‌اند. تأثیر میدان الکترومغناطیسی بر ساختار تشریحی گیاه زنیان نیز بررسی شد. فراخ شدن دهانه‌ی آوندهای چوبی و گسترش سیستم آوندی می‌تواند با افزایش معنی‌دار آنزیم‌های PAL و اکسین-اکسیداز مرتبط باشد که در نتیجه موجب افزایش تولید لیگنین می‌شوند. افزایش قطر دهانه‌ی آوندهای چوبی احتمالاً در افزایش سرعت جریان آب و نمک‌های معدنی به بخش‌های مختلف گیاه نقش دارد. بنابراین، میدان‌های الکترومغناطیسی به‌عنوان یک عامل تنش‌زا، واکنش‌های حفاظتی مختلفی را در گیاه زنیان برمی‌انگیزند، از جمله کاهش سطح برگ، افزایش قطر دهانه‌ی آوندی، تغییر در سیستم آوندی و تقویت بافت‌های استحکامی، که در نهایت به افزایش زنده‌مانی گیاه کمک می‌کنند. با توجه به عدم تفاوت معنی‌دار در رشد ریشه‌ی گیاه زنیان تحت شدت‌های مختلف میدان الکترومغناطیسی، بررسی بیشتر اثرات این میدان بر جهت قرارگیری گیاه، ترکیبات فلاونولی، میزان اکسین و بیان ژن‌های مرتبط با رشد ریشه، می‌تواند در پژوهشی مستقل مورد توجه قرار گیرد.

منابع

- اربابیان، ص.، مجد، ا.، سالاری پور، س. ۱۳۸۹. تأثیر میدان‌های الکترومغناطیسی بر اندام‌های رویشی، تکوین دانه‌های گرده، رویش و رشد لوله‌های گرده گیاه سویا. *Glycine max L.* مجله علمی پژوهشی سلول و بافت. ۱ (۱): ۳۵-۴۲.
- شبرنگی، آ. ۱۳۸۹. اثر میدان‌های الکترومغناطیسی بر جوانه زنی بذرهای، تکوین دانه رست‌ها، تغییرات ویژگی‌های تشریحی، خصوصیات سیتوژنتیکی و مولکولی دو گونه ذرت (*Zea mays L.*) و کلزا (*Brassica Napus L.*). پایان نامه دکتری تخصصی. رشته علوم گیاهی، دانشکده علوم دانشگاه تربیت معلم
- مرغابی زاده، غ.، قرینه، م.ح.، فتحی، ق.، ابدالی، ع.، فرید، م. ۱۳۹۳. تأثیر امواج فراصوتی و میدان مغناطیسی بر جوانه زنی، شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه زنیان (*Carum copiticum L.*) C. B. Clarke در شرایط آزمایشگاه و مزرعه. دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر. ۳۰ (۴): ۵۳۹-۵۶۰.
- مظفریان، و.، ۱۳۹۱. شناخت گیاهان دارویی و معطر ایران، تهران، نشر فرهنگ معاصر.
- Afzal, I., Saleem, S., Skalicky, M., Javed, T., Bakhtavar, M.A., Ul Haq, Z., Kamran, M., Shahid, M., Sohail Saddiq, M., Afzal, A. and Shafqat, N. (2021). Magnetic field treatments improves sunflower yield by inducing physiological and biochemical modulations in seeds. *Molecules*, 26(7): p.2022.
- Akowuah, G.A., Zhari, I., Norhayati, I. and Sadikun, A. (2005). Radical Scavenging Activity of Methanol Leaf Extracts of *Orthosiphon stamineus*. *Pharmaceutical Biology*, 42(8):629-635
- Aladjadjiyan, A. (2010). Influence of stationary magnetic field on lentil seeds. *Int. Agrophys*, 24(3):321-324.
- Al-Kathiri, F., Al-Raisi, K., Al-Hinai, K., Al-Droushi, M., Khan, M. and Nadir, Z. (2016). Impact of RF electromagnetic field on cucumber and tomato plants. In 2016 IEEE 7th Annual Information Technology, Electronics and Mobile Communication Conference (IEMCON) (pp. 1-6). IEEE.
- Azizi, S.M.Y., Hosseini Sarghein, S., Majd, A. and Peyvandi, M. (2020). The assessment of electromagnetic fields-caused genetic diversity of Tea *Camellia sinensis L.* using ISSR and SCoT markers. *Brazilian Journal of Botany*, 43: 907-920.
- Caverzan, A., Casassola, A. and Brammer, S.P. (2016). Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. *Abiotic and biotic stress in plants-recent advances and future perspectives*, 17:463-480.



- Esmaeili, A. and Ghobadianpour, S. (2016). Vancomycin loaded superparamagnetic MnFe₂O₄ nanoparticles coated with PEGylated chitosan to enhance antibacterial activity. *International journal of pharmaceutics*, 501(1-2):326-330.
- Fahad, S., Hussain, S., Matloob, A., Khan, F.A., Khaliq, A., Saud, S., Hassan, S., Shan, D., Khan, F., Ullah, N. and Faiq, M. (2015). Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. *Plant growth regulation*, 75:391-404.
- Gemici, M., Demiray, H. and Gemici, Y. (2013). Effects of electromagnetic fields produced by high voltage transmission on physiology of *Juglans regia* L. and *Cerasus avium* L. Moench. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50(2): 129-135.
- Gordon, S.A. and Weber, R.P. (1951). Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant physiology*, 26(1): 192.
- Hosseinabadi, M.B., Khanjani, N., Mirzaii, M., Norouzi, P. and Atashi, A. (2019). DNA damage from long-term occupational exposure to extremely low frequency electromagnetic fields among power plant workers. *Mutat. Res Genet Toxicol Environ*, 846: 403079
- Husen, A. and Gondar, E. (2012). Changes of Soluble Sugars and Enzymatic Activities During Adventitious Rooting in Cuttings of *Grewia optiva* as Affected by Age. *American Journal of Plant Physiology*, 7(1): 1-16.
- Jin, Y., Guo, W., Hu, X., Liu, M., Xu, X., Hu, F., Lan, Y., Lv, C., Fang, Y., Liu, M. and Shi, T. (2019). Static magnetic field regulates *Arabidopsis* root growth via auxin signaling. *Scientific reports*, 9(1):1-14.
- Kaur, S., Vian, A., Chandel, S., Singh, H.P., Batish, D.R. and Kohli, R.K. (2021). Sensitivity of plants to high frequency electromagnetic radiation: Cellular mechanisms and morphological changes. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 20(1):55-74.
- Konefal-Janocha, M., Banaś-Ząbczyk, A., Bester, M., Bocak, D., Budzik, S., Górny, S., Larsen, S., Majchrowski, K. and Cholewa, M. (2018). The effect of stationary and variable electromagnetic fields on the germination and early growth of radish (*Raphanus sativus*). *Polish Journal of Environmental Studies*, 28(2):709-715.
- Mei, H., Cheng, N.H., Zhao, J., Park, S., Escareno, R.A., Pittman, J.K. and Hirschi, K.D. (2009). Root development under metal stress in *Arabidopsis thaliana* requires the H⁺/cation antiporter CAX4. *New Phytologist*, 183(1):95-105.
- Moghaddam, N.L., Peyvandi, M. and Majd, A. (2015). The effect of magnetic field on growth and activity of auxin oxidase enzyme and the quantity and quality of garlic essence (*Allium sativum* L.). *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Science*, 4(12):1831-1840
- Nazli, F., Mustafa, A., Ahmad, M., Hussain, A., Jamil, M., Wang, X., Shakeel, Q., Imtiaz, M. and El-Esawi, M.A. (2020). A review on practical application and potentials of phytohormone-producing plant growth-promoting rhizobacteria for inducing heavy metal tolerance in crops. *Sustainability*, 12(21):9056.
- Pandey, V., Bhatt, I.D. and Nandi, S.K. (2019). Role and regulation of auxin signaling in abiotic stress tolerance. In *Plant signaling molecules* (pp. 319-331). Woodhead Publishing.
- Pawełek, A., Owusu, S. A., Cecchetti, D., Zielińska, A., and Wyszowska, J. (2022). What evidence exists of crop plants response to exposure to static magnetic and electromagnetic fields? A systematic map protocol. *Environmental Evidence*, 11(1): 1-9.
- Podlesna, A., Bojarszczuk, J., and Podleśny, J. (2019). Effect of pre-sowing magnetic field treatment on some biochemical and physiological processes in faba bean (*Vicia faba* L. spp. Minor). *Journal of plant growth regulation*, 38:1153-1160.
- Raza, A., Salehi, H., Rahman, M.A., Zahid, Z., Madadkar Haghjou, M., Najafi-Kakavand, S., Charagh, S., Osman, H.S., Albaqami, M., Zhuang, Y. and Siddique, K.H. (2022). Plant hormones and neurotransmitter interactions mediate antioxidant defenses under induced oxidative stress in plants. *Frontiers in Plant Science*, 13.
- Razmjoo, J. and Alinian, S. (2017). Influence of magnetopriming on germination, growth, physiology, oil and essential contents of cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Electromagnetic biology and medicine*, 36(4):325-329.

- Ribeiro-Oliveira, J.P. (2019). Electromagnetism and plant development: a new unknown in a known world. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 31(4):423-427.
- Sadanandom, A. and Napier, R.M. (2010). Biosensors in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 13(6):736-743.
- Sun, P., Tian, Q.Y., Chen, J. and Zhang, W.H. (2010). Aluminium-induced inhibition of root elongation in *Arabidopsis* is mediated by ethylene and auxin. *Journal of Experimental Botany*, 61(2):347-356.
- Song, Y., Zhao, W., Su, Z., Guo, S., Du, Y., et al. (2024). Effect of pulsed electric field treatment on seed germination and seedling growth of *Scutellaria baicalensis*. *Agriculture*, 14: 158
- Soran, M.L., Stan, M., Niinemets, Ü. and Copolovici, L. (2014). Influence of microwave frequency electromagnetic radiation on terpene emission and content in aromatic plants. *Journal of plant physiology*, 171(15):1436-1443.
- Tran, N.T., Jokic, L., Keller, J., Geier, J.U. and Kaldenhoff, R. (2023). Impacts of Radio-Frequency Electromagnetic Field (RF-EMF) on Lettuce (*Lactuca sativa*)—Evidence for RF-EMF Interference with Plant Stress Responses. *Plants*, 12(5):1082.
- Ulgen, C., Yildirim, A.B., Sahin, G. and Turker, A.U. (2021). Do magnetic field applications affect in vitro regeneration, growth, phenolic profiles, antioxidant potential and defense enzyme activities (SOD, CAT and PAL) in lemon balm (*Melissa officinalis* L.)?. *Industrial Crops and Products*, 169:113624.
- Vishki, F.R., Majd, A., Nejadstari, T. and Arbabian, S. (2013). Electromagnetic waves and its impact on morpho-anatomical characteristics and antioxidant activity in *Satureja bachtiarica* L. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(2): 598-605
- Wang, X. and Chapman, K.D. (2013). Lipid signaling in plants. *Frontiers in plant science*, 4:216.



تأثیر نانوتیوب‌های کربنی عامل‌دار شده با کربوکسیلیک اسید بر تولید وین‌بلاستین و

وین کریستین در گیاه دارویی *Catharanthus roseus* L.

فاطمه بهرامی^۱، اباصلت حسین‌زاده کلاگر^{۱*}، رقیه حلقومی^۱

^۱ گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر. (ahcolagar@umz.ac.ir)

چکیده

امروزه استفاده از نانوذرات به عنوان محرک‌های مؤثر در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه، به ویژه وینکالوئیدها در گیاه پروانش (*Catharanthus roseus*) مورد توجه محققین زیادی قرار گرفته است. از آنجائیکه وینکالوئیدهایی همچون وین‌بلاستین و وین کریستین از مواد اولیه مورد استفاده در تولید دارو برای درمان سرطان می باشد، هدف این تحقیق، بررسی اثرات نانوتیوب‌های کربنی چند دیواره (MWCNT) با گروه عاملی کربوکسیل اصلاح شده و نیز آمینواسید تربیتوفان در افزایش تولید این وینکالوئیدها است. برای این منظور غلظت‌های 100 mg.L^{-1} و 150 mg.L^{-1} از هر یک از محرک‌ها در محیط موراشیک-اسکوگ (MS) تلقیح شدند. سپس مقادیر وینکالوئیدی موجود در هر یک از عصاره های متانولی حاصل از اندام های هوایی گیاهک رشد یافته در مرحله ۸ برگی، با استفاده از HPLC اندازه گیری شدند. نتایج نشان داد مقدار وین بلاستین در گیاهک رشد یافته در هر یک از محیط های تلقیح شده با 100 mg.L^{-1} و 150 mg.L^{-1} از MWCNT (حدود $5/5-5 \text{ ppm}$) و مقدار وین کریستین در گیاهک رشد یافته در محیط حاوی 100 mg.L^{-1} تربیتوفان (حدود $5/58 \text{ ppm}$) می باشد که بسیار بیشتر از تولید این ترکیبات در گیاهک شاهد (کمتر از 1 ppm) است. این مطالعه نشان می دهد تحریک گیاه با استفاده از هر یک از مقادیر 100 mg.L^{-1} از MWCNT و نیز تربیتوفان به ترتیب می تواند کاندید مناسبی برای افزایش سطح تولید وین بلاستین و وین کریستین باشد. این مطالعه می تواند توجه محققین به استفاده از این نانوذرات و یا اسید آمینه در مدیریت تولید این محصولات ارزشمند دارویی را به خود جلب کند.

واژگان کلیدی: آلکالوئیدها، وین بلاستین، وین کریستین، نانو تیوب های کربنی ، *Catharanthus roseus*



۱. مقدمه

متابولیت‌های گیاهی به‌ویژه آلکالوئیدها به‌عنوان مواد اولیه بسیاری از داروها مورد استفاده قرار می‌گیرند. به عنوان مثال برخی از آلکالوئیدها که در درمان سرطان اهمیت ویژه‌ای دارند، شامل کلشی سین، وینکامین، ویندسین، وینورلین، وین‌بلاستین و وین‌کریستین می‌باشند (Dhyani et al., 2022). دو ترکیب وین‌بلاستین و وین‌کریستین به طور عمده در گیاه پروانش (*Catharanthus roseus*) که با نام عمومی وینکا شناخته می‌شود، یافت می‌شوند (Zhu et al., 2014). در این گیاه، که از خانواده خرزهره است، تاکنون حدود ۱۳۰ تا ۱۵۰ نوع وینکا آلکالوئید شناسایی شدند که مهم‌ترین آن‌ها وین‌بلاستین و وین‌کریستین هستند. این دو ترکیب از دسته متابولیت‌های ثانویه به نام ترپنوئید ایندول آلکالوئیدها بوده که از ترکیب دو ماده کاتارانتین و ویندولین به دست می‌آیند و نخستین و مهم‌ترین ترکیبات گیاهی هستند که برای درمان سرطان مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Zhu et al., 2015). از نظر مولکولی این ترکیبات باهدف قراردادن میکروتوبول‌ها و اتصال به دیم‌های توبولین، از پلیمریزه شدن آن‌ها جلوگیری کرده و با اتصال به انتهای رشته‌های میکروتوبول ناپایداری پویا را افزایش می‌دهند (Himes, 1991). این تغییرات باعث توقف سلول در مرحله متافاز شده و مانع از تکمیل تقسیم سلولی می‌شوند که در نهایت به آپوپتوز منجر شده و به نابودی سلول‌های سرطانی کمک می‌کند (Dhamodharan et al., 1995).

اهمیت بالای این دو ترکیب در درمان سرطان، باعث شده است که از نظر تجاری نیز اهمیت بالایی داشته باشند. بطوریکه وین‌بلاستین و وین‌کریستین به ترتیب هریک ۱ میلیون و ۳/۵ میلیون دلار به‌ازای هر کیلوگرم را در خدمات دارو درمان به خود اختصاص دادند. با این حال، علی‌رغم اهمیت دارویی و قیمت بالای آن‌ها، درصد بسیار کمی از وزن خشک گیاه را به خود اختصاص می‌دهند (حدود ۰/۰۰۰۵ درصد از وزن خشک). به همین دلیل، محققان از روش‌های متنوعی برای افزایش تولید خالص این مواد و مقرون‌به‌صرفه کردن استفاده تجاری از آن‌ها بهره جسته‌اند (Shabani et al., 2014). روش‌هایی مانند کشت سوسپانسیون، کشت ریشه موین و همچنین روش‌های سنتزی و نیمه‌سنتزی در سال‌های اخیر مورد بررسی قرار گرفته‌اند. با این وجود، استخراج مستقیم از گیاه همچنان از جنبه‌های مختلف مناسب‌تر به نظر می‌رسد (Namdeo, 2007)؛ بنابراین، به‌کارگیری عوامل مختلف برای تحریک گیاه به‌منظور افزایش تولید این ترکیبات، بهترین راهکار برای بهره‌برداری بیشتر از این گیاه محسوب می‌شود (Zhao and Verpoorte, 2007; Brudelius and Pedersen, 1993).

برای تحریک و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه، نخستین گام شناسایی عواملی است که می‌تواند در این فرآیند مؤثر باشند. این عوامل که به‌عنوان الیستورها یا محرک‌ها شناخته می‌شوند، از منابع مختلف زیستی و غیرزیستی تأمین می‌شوند (Zhao, 2005; Vasconsuelo and Boland, 2007). از آنجائیکه تولید وینکا آلکالوئیدها همانند سایر متابولیت‌های ثانویه گیاهان عمدتاً نقش دفاعی دارند لذا الیستورها که دارای اشکال متنوعی هستند از جمله الیستورهای دمای، اسیدی، نانوذرات فلزی و غیر فلزی، می‌توانند با فعال‌سازی سیستم‌های دفاعی گیاه و افزایش بیان رونوشت‌های ژن‌های مرتبط با آن‌ها تحت تاثیر قرار دهند و در نتیجه منجر به افزایش/کاهش تولید این متابولیت‌ها شوند.

استفاده از نانوذرات در فرم‌های فلزی و غیر فلزی به عنوان الیستور توجه محققین زیادی را به خود جلب نمود. به عنوان مثال استفاده از نانوذرات اکسید روی، به عنوان الیستور با تأثیر افزایشی بر بیان ژن‌های کلیدی مسیر سنتز وین‌بلاستین و



وین کریستین از جمله ژن کدکننده ی استریکتوزیدین سنتاز (*STR*) دارد اما استفاده از نانوذرات اکسید کبالت اثر عکس بر بیان این ژن ها دارد (Rezaee *et al.*, 2016). در پژوهشی دیگر فواد و همکاران به این نتیجه رسیدند که نانوذرات کبالت و یون های دوظرفیتی کبالت در گیاه باعث ایجاد استرس اکسیداتیو شده و در نتیجه بیان ژن *CrMPK3* را افزایش می دهند. محصول این ژن یک فاکتور رونویسی است که موجب افزایش بیان ژن های مسیر تولید آلکالوئیدها می شود در نتیجه افزایش بیان این ژن منجر به افزایش اندوخته ی آلکالوئیدهای گیاه خواهد شد (Fouad and Hafez, 2018). از سوی دیگر استفاده از نانوتیوب های کربنی (CNTs)، به دلیل خاصیت انعطاف پذیری و تعامل با غشای سلولی و در نتیجه قدرت نفوذ به بافت های زیستی مختلف کاربرد وسیعی در زیست شناسی پیدا کرده اند (Yang *et al.*, 2007). این نانوذرات به دلیل ساختار آب گریزی که دارند می توانند با غشای سلول بر همکنش داده و وارد سلول شوند. به این ترتیب، سیستم ایمنی گیاه فعال شده و در نتیجه تولید متابولیت های ثانویه افزایش می یابد. هدف این تحقیق، استفاده از نانوتیوب های کربنی چند دیواره (MWCNT) عامل دار شده با کربوکسیلیک اسید (COOH) به عنوان الیستور استفاده شد.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. تهیه و مشخصه یابی MWCNT

نانوتیوب های کربنی چند دیواره یا MWCNT، که با اسید کربوکسیلیک عامل دار شده اند، با مشخصات ذکر شده در جدول ۱، از شرکت مواد نانو پیش گامان ایرانی (مشهد - ایران)، تهیه شدند. سپس ویژگی های ساختاری این نانوتیوب ها با استفاده از تکنیک های SEM، Raman و X-Ray مورد تایید قرار گرفت.

جدول ۱- مشخصات نانوتیوب های کربنی تهیه شده

نوع نانوذرات	MWCNT عامل دار شده با COOH	رنگ	سیاه
درصد خلوص	نانوتیوب کربنی با محتوای کربنی بیش از ۹۵٪ تا ۹۷٪ (حاصل از TGA و TEM)	خاکستر	۱ wt% / ۵ < (حاصل از TGA)
قطر داخلی (nm)	۵-۱۰	هدایت الکتریکی	s.cm ⁻¹ > ۱۰۰
قطر خارجی (nm)	۱۰-۲۰ (حاصل از HRTEM و Raman)	چگالی فشرده شده	۰.۲۲ g.cm ³
طول (μm)	۳۰-۱۰ (حاصل از TEM)	چگالی واقعی	~ ۲/۱ g.cm ³



SSA	$> 200 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ (حاصل از BET)	روش ساخت MWCNT	CVD
-----	-------------------------------------------------------	-------------------	-----

TGA: Thermogravimetric Analysis; TEM: Transmission Electron Microscopy; SSA: Specific Surface Area;
VD: Chemical Vapor Deposition

۲-۲. تهیه، ضدعفونی و کشت بذرها

گیاه پروانش با توجه به خصوصیات مورفولوژیکی از شهرستان بابلسر - استان مازندران شناسایی شد و بعد از به بذر نشستن گیاه، جمع آوری بذر انجام گردید. تطبیق مورفولوژیکی بذر نیز با توجه به منابع زیر استریو میکروسکوپ انجام شد و یک نمونه برای استفاده های بعدی در هرباریوم بصورت خشک شده در صفحه با کد ۹۷۵۴ (GUH) نگهداری شد. سپس به منظور مهار آلودگی های قارچی و باکتریایی بذرها پروانش به ترتیب با محلول اتانول ۷۰٪ (به مدت یک دقیقه)، سه بار شستشو با آب مقطر (هر بار ۱۰ دقیقه)، هیپوکلریت سدیم ۵٪ (به مدت ۱۰ دقیقه) و پس از سه بار شستشو با آب مقطر (هر بار ۱۰ دقیقه) ضدعفونی شدند (Varma and Jain, 2021). تعداد ۲۰ بذر ضدعفونی شده درون هر شیشه حاوی محیط کشت عمومی موراشیگ و اسکوگ یا MS (Murashige and Skoog, 1962)، به همراه تیمارهای نانوتیوب کربنی و تریپتوفان (هریک بطور جداگانه در دو غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر)، کشت شدند. جهت جوانه زنی، نمونه ها تا جوانه زدن بذرها در تاریکی قرار گرفتند و پس از آن به اتاقک رشد با شرایط دمایی ۲۷ و ۲۲ درجه سانتی گراد به ترتیب برای روز و شب و تناوب نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند.

۲-۳. عصاره گیری از بافت های مختلف گیاه

عصاره متانولی از دو گرم از اندام هوایی گیاه پروانش در مرحله هشت برگی (گیاه ۴ ماهه رشد یافته در محیط کشت شاهد و یا حاوی الیستور) انجام شد (Ghorbanpour and Hadian, 2015). برای این منظور اندام های هوایی برداشت شده ابتدا با آب مقطر جهت از بین بردن مواد محیط کشت و سایر آلودگی ها شسته شدند. سپس به مدت چهار روز در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد در آون قرار داده شدند. حدود یکصد میلی گرم از نمونه های خشک شده به میکروتیوپ های ۲ میلی لیتری منتقل شد. لوله ها پس از افزودن یک میلی لیتر متانول خالص به مدت ۱۰ دقیقه با همزدن شدید با همزن مغناطیسی (شیک) همزده شدند. مخلوط به مدت یک ساعت درون دستگاه اولتراسونیک در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا محلول هموژن بدست آید. هموژن حاصل با دور ۱۴۰۰۰ rpm و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و فاز رویی به تیوب دیگری انتقال داده شد. جهت اطمینان از شفاف بودن عصاره مرحله سانتریفیوژ دو بار تکرار شد.

۲-۴. جداسازی، شناسایی و تعیین مقدار کمی وینکالوئیدها

جداسازی، شناسایی و تعیین مقدار کمی آلکالوئیدهای وین کریستین و وین بلاستین با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مدل سری ۱۱۰۰ ساخت کمپانی Agilent آمریکا، مجهز به یک لوپ تزریق به حجم ۲۰ میکرولیتر، پمپ



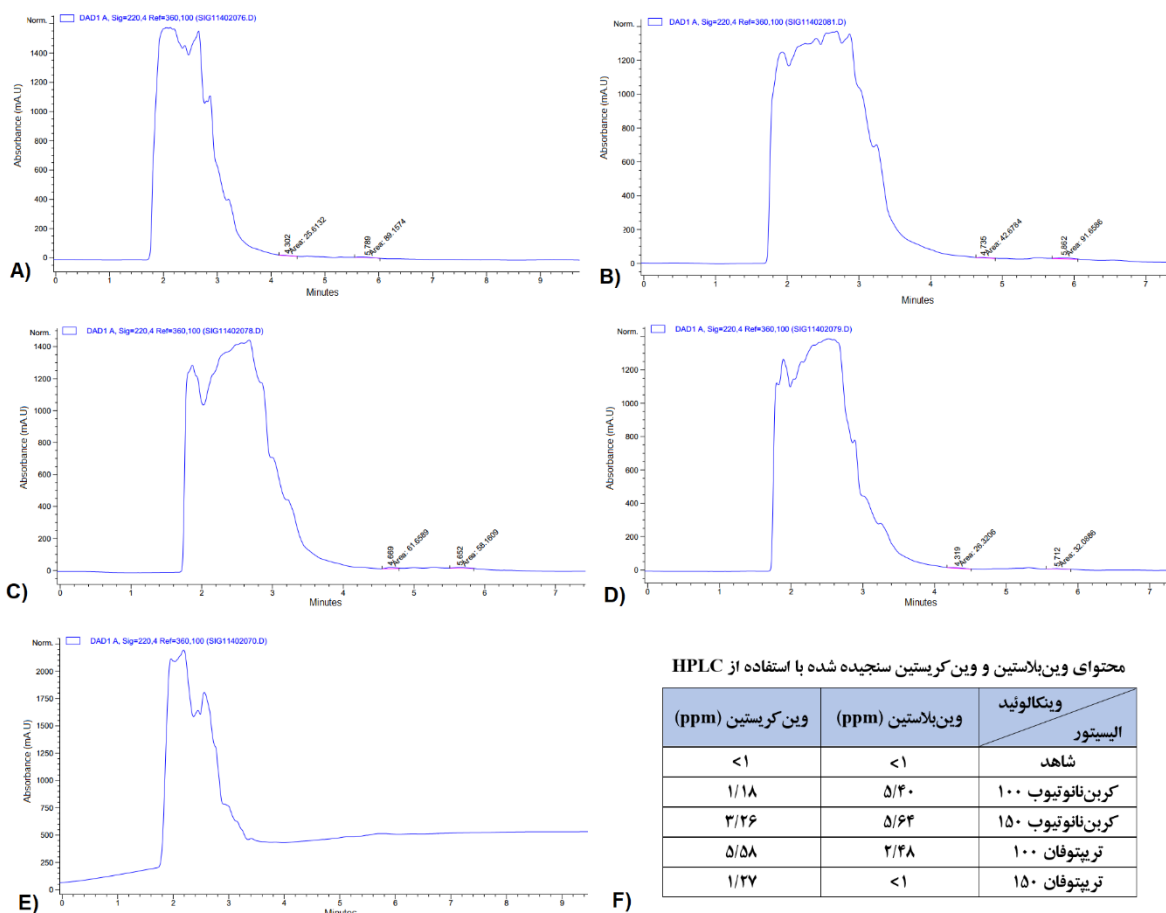
گرادیان چهار حلالی، سیستم گاز زدا، آون ستون (تنظیم شده در 25°C) و آشکارساز آرایه دیودی که در طول موج های ۲۵۰، ۲۷۲ و ۳۱۰ نانومتر تنظیم شده، صورت گرفت (Ghorbanpour and Hadian, 2015).

۳. نتایج

تأثیر MWCNT بر بیان ژن های خاص در گیاه *C. roseus* و تولید آلکالوئیدهای مهمی مانند وین بلاستین و وین کریستین، موضوعی است که در سال های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده است. MWCNT به عنوان یکی از نوآورانه ترین مواد نانو در علم مواد شناخته می شوند و ویژگی های منحصر به فردی دارند که می توانند به بهبود فرایندهای زیستی کمک کنند. این نانو مواد به دلیل سطح بالای نسبت سطح به حجم، استحکام مکانیکی بالا و قابلیت هدایت الکتریکی، در بسیاری از کاربردها از جمله بیوتکنولوژی و کشاورزی مورد استفاده قرار می گیرند.

در این تحقیق، هدف اصلی بررسی تأثیر MWCNT بر تولید آلکالوئیدها وین بلاستین و وین کریستین در گیاه *C. roseus* است. برای بررسی این تأثیر، از تکنیک HPLC استفاده شد که یکی از روش های دقیق و مرسوم برای اندازه گیری ترکیبات یک نمونه است. با استفاده از این تکنیک، تغییرات قابل توجهی در میزان تولید آلکالوئیدها پس از تیمار دانه های گیاه با MWCNT مشاهده شد. در شکل ۲، میزان تولید آلکالوئیدها نام برده در گیاه تیمار شده با MWCNT با غلظت های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر و تربیتوفان، با غلظت های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر، با استفاده از نتایج حاصل از HPLC قابل مشاهده است.

در مرحله اول، MWCNT طی تیماری توسط کربوکسیلیک اسید عامل دار و سپس به محیط کشت گیاه پروانش افزوده شدند. پس از گذشت یک دوره مشخص از رشد گیاه، نمونه برداری از بافت های گیاهی صورت گرفت. در این مرحله، عصاره ی بافت برگ گیاه به منظور انجام تست کروماتوگرافی تهیه گردید و میزان تولید دو آلکالوئید وین بلاستین و وین کریستین نسبت به نمونه ی شاهد ارزیابی شد.



شکل ۲ - کروماتوگرام‌های HPLC مربوط به برگ و ساقه پونه های رشد یافته در تیمارهای مختلف: الف) کربن نانوتیوب ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر؛ ب) کربن نانوتیوب ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر؛ ج) تریپتوفان ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر؛ د) تریپتوفان ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر؛ ه) شاهد؛ و) مقادیر حاصل از HPLC

نتایج تجزیه و تحلیل HPLC به وضوح نشان‌دهنده تأثیر قابل توجه MWCNT بر تولید آلکالوئیدها در گیاه مورد مطالعه است. با بررسی داده‌های به دست آمده، مشخص می‌شود که افزایش غلظت MWCNT به ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر منجر به تغییرات معناداری در میزان تولید آلکالوئیدها، به ویژه وین بلاستین و وین کریستین، شده است. این نتایج حاکی از آن است که نانوذرات می‌توانند به عنوان محرک‌های مؤثر در فرایند بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه عمل کنند.

به طور خاص، مقادیر جذب (mAU) در نمودارها نشان می‌دهد که تیمار با MWCNT منجر به افزایش قابل توجهی در تولید آلکالوئیدها شده است. به عنوان مثال، در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر از MWCNT، میزان تولید وین بلاستین و وین کریستین به وضوح افزایش یافته است. همچنین، استفاده از تریپتوفان به طور جداگانه نیز تأثیر مثبتی بر تولید آلکالوئیدها داشته و مقادیر جذب نشان‌دهنده افزایش در تولید این ترکیبات دارویی ارزشمند است.

این یافته‌ها نه تنها اهمیت نانوتکنولوژی را در بهبود کیفیت و کمیت تولیدات گیاهی تأکید می‌کنند، بلکه همچنین پتانسیل استفاده از نانوذرات را برای ارتقای بیوسنتز ترکیبات دارویی روشن می‌سازند. علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهند که MWCNT می‌تواند به عنوان یک استراتژی نوین در کشاورزی پایدار و تولید داروهای طبیعی مورد توجه قرار گیرد. بنابراین، ادامه این



تحقیقات می‌تواند به توسعه روش‌های مؤثرتر در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی و صنعتی منجر شود و به پیشرفت‌های قابل توجهی در زمینه کشاورزی و داروسازی کمک کند. این یافته‌ها نه تنها فرضیه تحقیق، مبنی بر تأثیر MWCNT بر افزایش تولید وین‌بلاستین و وین کریستین، را تأیید می‌کنند، بلکه نشان‌دهنده پتانسیل بالقوه‌ی MWCNT به عنوان محرک مؤثر برای افزایش تولید آلکالوئیدها یا سایر متابولیت‌های ثانویه در گیاهان است. با توجه به اهمیت دارویی این ترکیبات، نتایج این تحقیق می‌تواند به توسعه روش‌های جدید برای بهبود تولید ترکیبات دارویی گیاهی کمک کند.

به طور کلی، این تحقیق نمایانگر نقش MWCNT در بهبود فرایندهای بیوسنتزی در گیاهان است و می‌تواند راه را برای تحقیقات بیشتر در زمینه استفاده از نانوذرات در کشاورزی و داروسازی هموار کند. با توجه به پیشرفت‌های روزافزون در علم نانو، انتظار می‌رود که کاربردهای بیشتری از MWCNT در علوم زیستی و پزشکی به زودی ظهور کند.

۴. بحث و نتیجه گیری

ترکیبات زیست فعال مانند فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک و آلکالوئیدها به دلیل کاربردهای گسترده‌ای که در صنایع مختلف دارند، از ارزش تجاری بالایی برخوردارند. یکی از روش‌های مؤثر برای افزایش تولید این ترکیبات، تحریک کنترل شده است. اخیراً پژوهشگران به بررسی نقش نانوذرات، به ویژه نانوتیوب‌های کربنی، به عنوان محرک‌های نوین در بیوسنتز این ترکیبات پرداخته‌اند. در این میان عامل دار کردن نانوتیوب‌های کربنی موجب توزیع یکنواخت این نانوذرات در محیط‌های آبی و حاکی شده که باعث می‌شود گیاهان به راحتی آن‌ها را جذب کنند. این ویژگی به کاهش تجمع نانوتیوب‌ها در بافت گیاهی کمک کرده و از بروز سمیت ناشی از تجمع بیش از حد جلوگیری می‌کند. علاوه بر این، نانوتیوب‌های کربنی عامل دار شده با داشتن گروه‌های عاملی خاص، تعاملات بهتری با ترکیبات زیستی برقرار می‌کنند که می‌تواند به بهبود کارایی و اثرگذاری آن‌ها در فرایندهای متابولیکی گیاهان منجر شود؛ بنابراین استفاده از نانوتیوب‌های کربنی عامل دار شده برای تحریک گیاه روشی است که در این مطالعه از آن استفاده شده است.

پس از اتصال الیسیتورها به گیرنده‌های خاص در سطح غشای پلاسمایی یا در سیتوپلاسم، کانال‌های کلسیمی فعال می‌شوند که این امر منجر به افزایش غلظت کلسیم در گیاه و ایجاد تنش می‌گردد (Zhao et al., 2005). تنش ایجاد شده فاکتورهای رونویسی مانند ORCA3 را فعال می‌کند (Peebles et al., 2009) و همچنین بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز و گلوکاتایون ردوکتاز تأثیر می‌گذارد (Fatima et al., 2015; Maqsood and Abdul, 2017). این فعال‌سازی منجر به بروز پاسخ‌های دفاعی در گیاه می‌شود. یکی از این پاسخ‌ها، افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه همچون آلکالوئیدهایی مانند وین‌بلاستین و وین کریستین است (Zhao et al., 2005; Peebles et al., 2009; Fatima et al., 2015; Maqsood and Abdul, 2017).

استفاده از نانوذرات مختلف برای تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان مختلف از دیرباز مورد توجه دانشمندان زیادی قرار گرفته است و نتایج پژوهش‌های صورت گرفته حاکی از آن است که استفاده از نانوذرات روش مناسبی برای این کار است. به عنوان مثال در سال ۲۰۱۶، Večeřová و همکاران به بررسی تأثیر نانوذرات اکسید کادمیوم (CdO) بر برگ‌ها و



ریشه‌های گیاه جو پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که قرار گرفتن در معرض $10^5 \times 0.45 \pm 0.23$ نانوذره CdO در هر سانتی‌متر مکعب، منجر به افزایش چشمگیر محتوای کل ترکیبات فنولی، به‌ویژه اسید فرولیک و ساپونارین در برگ‌ها و ریشه‌ها گردید. علاوه بر این، این محققان همچنین افزایش محتوای ایزوتکسین را گزارش کردند (Večeřová et al., 2016).

همچنین، لی و همکاران دریافتند که برگ‌پاشی نانوذرات سلنیوم (Se) با غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر در کرفس، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را ۴۶/۷ درصد، فلاونوئیدهای کل را ۵۰ درصد (مانند آپیزین، اسید p-کوماریک، اسید فرولیک، لوتولین و کائمفرو) و ترکیبات فنولی کل را ۲۱/۴ درصد و ویتامین C را ۲۶/۷ درصد افزایش می‌دهد (Li et al., 2020).

عبداللهی و همکاران در سال ۲۰۱۹ مطالعه‌ای مبنی بر تأثیر نانوذرات پرلیت و نانوکامپوزیت‌های $\text{TiO}_2/\text{perlite}$ بر رشد و پروفایل متابولیت‌های ثانویه کالوس‌های *Hypericum perforatum* انجام دادند. نتایج نشان داد که این نانوذرات منجر به افزایش تنوع و مقدار ترکیبات ثانویه شد. کالوس‌های کشت‌شده در آزمایشگاه ترکیبات ثانویه‌ی بیشتری نسبت به نمونه‌های کشت‌شده در زمین تولید کردند. در نهایت، تولید هیپرین و سودوهیپرین در کشت‌های کالوس تحت تأثیر نانوذرات تأیید شد و نتایج نشان داد که نانوذرات پرلیت و $\text{TiO}_2/\text{perlite}$ می‌توانند به‌عنوان محرک‌های مؤثر برای تولید این ترکیبات در نظر گرفته شوند (Ebadollahi et al., 2019).

در مطالعه‌ی مشابهی دومانی و همکاران تأثیر نانوذرات TiO_2 برای القای جنین‌زایی سوماتیک و باززایی، کاهش رادیکال‌های آزاد و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را، در گونه‌های پاولونیا (*P. fortune* و *P. elongata*، *P. shantung*) بررسی کردند. نتایج نشان داد که TiO_2 تأثیر قابل‌توجهی بر القای کالوس و تولید ترکیبات ثانویه‌ی آنتی‌اکسیدان داشت، به‌طوری‌که در پاولونیا شانتونگ با ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر TiO_2 ، تشکیل کالوس به ۱۰۰٪ رسید. همچنین، بالاترین میزان جنین‌زایی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در این غلظت مشاهده شد (Dumani et al., 2022).

مقبول و همکاران در سال ۲۰۲۳ در تحقیق خود، کالوس گیاه دارویی *Aerva sanguinolenta* را برای بررسی تأثیر نانوذرات نقره (AgNPs) و اسید سالیسیلیک (SA) بر تولید متابولیت‌های ثانویه، مانند آروین و ترکیبات آنتی‌اکسیدان، مورد استفاده قرار دادند. سه غلظت از SA (۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و سه غلظت از AgNPs (۳۰، ۶۰ و ۹۰ میکروگرم در لیتر) در محیط کشت MS آزمایش شدند. نتایج نشان داد که هر دو محرک به‌طور معنی‌داری تولید متابولیت‌های آنتی‌اکسیدان، محتوای کل فنولیک (TPC) و فلاونوئید (TFC) را افزایش دادند. همچنین، محتوای آروین و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره نیز تقویت شد. AgNPs نسبت به SA تأثیر بیشتری داشتند و بهترین نتایج با ۹۰ میکروگرم در لیتر AgNPs و ۱۰۰ میکرومولار SA به‌دست آمد (Maqbool et al., 2023).

سجاد خان و همکاران در مطالعه‌ی خود از کودهای حاوی نانوذرات نقره در ترکیب با اوره (U-AgNPs) برای بررسی اثرات آنها بر محتوای متابولیکی گیاه گندم استفاده کردند. در این مطالعه اثرات غلظت‌های مختلف U- و A.N-AgNPs (از $0.75 \mu\text{g.ml}^{-1}$ تا ۱۵) بر روی بذره‌های گندم در شرایط کنترل‌شده بررسی شد و با گروه کنترل مقایسه گردید. نتایج نشان داد که این نانوذرات به‌عنوان القاکننده‌های متابولیت عمل کرده و تولید متابولیت‌های ثانویه مانند فنولیک‌ها و فلاونوئیدها



را افزایش می دهند. همچنین، U-AgNPs به عنوان یک منبع نیتروژن عمل کرده و موجب افزایش توده زیستی و عملکرد گیاه شد (Sajad Khan et al., 2023).

همچنین غلظت های مختلف نانوذرات ZnO، CuO و CoO برای افزایش تجمع متابولیت های ثانویه و فعالیت های آنتی اکسیدانی در کالوس های گیاه *Artemisia annua L.* توسط فاطیما و همکاران مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که محتوای فنولی در کالوس ساقه با غلظت ۰/۱ میلی گرم بر لیتر از نانوذرات CuO حداکثر (۶۰ میکروگرم) بود. همچنین، فعالیت آنتی اکسیدانی کل در کالوس ریشه در غلظت ۰/۱ میلی گرم بر لیتر از ZnO به حداکثر (۳۳ میکروگرم) رسید. قدرت کاهندگی و جمع آوری رادیکال ها نیز در غلظت های مختلف نانوذرات CoO و ZnO به حداکثر خود رسید. اسید گالیک و اسید کافئیک نیز با استفاده از HPLC شناسایی شدند. در این مطالعه نشان داده شد که نانوذرات مختلف تأثیر مثبتی بر القای متابولیت های ثانویه در گیاه *A. annua* دارند (Fatima et al., 2020).

پژوهشی که در سال ۲۰۲۱ توسط حلقومی و همکاران انجام شد نیز، نتایج قابل توجهی درباره تأثیر این نانوذرات بر گیاه *Ocimum basilicum L.* (ریحان) ارائه داد. این مطالعه نشان داد که نانوتیوب های کربنی اصلاح شده می توانند به عنوان ابزارهای مؤثر برای انتقال مولکول های زیستی، به ویژه اسیدهای آمینه، به درون سلول ها عمل کنند. در این تحقیق، پژوهشگران با هدف بررسی تأثیر نانوتیوب های کربنی بر فرایندهای بیولوژیکی گیاه ریحان، از این نانوذرات به عنوان حامل هایی برای انتقال مواد مغذی و محرک های زیستی بهره گرفتند. نتایج نشان داد که این نانوذرات نه تنها قادر به انتقال مؤثر اسیدهای آمینه به داخل سلول های گیاهی هستند، بلکه همچنین می توانند فعالیت های متابولیک و تولید ترکیبات خاص را در گیاه تحریک نمایند (Holghoomi et al., 2021).

در مطالعه ی حاضر، تأثیر دو غلظت متفاوت MWCNT و آمینو اسید تریپتوفان (۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر) بر تولید متابولیت های ثانویه در گیاه دارویی پروانش به دقت مورد بررسی قرار گرفت. برای ارزیابی دقیق اثر این نانوذرات بر تولید آلکالوئیدهای وین بلاستین و وین کریستین که از مهم ترین ترکیبات دارویی موجود در پروانش هستند، از تکنیک پیشرفته HPLC استفاده شد. این روش این امکان را فراهم می کند تا تغییرات ترکیبات موجود در نمونه ها با دقت و حساسیت بالا اندازه گیری شود و نتایج قابل اعتمادی به دست آید.

نتایج به دست آمده از این آزمایش ها نشان داد که تیمار گیاه با MWCNT به طور معناداری منجر به افزایش تولید آلکالوئیدهای وین بلاستین و وین کریستین در گیاه پروانش گردیده است. این یافته ها نشان دهنده ی پتانسیل MWCNT به عنوان الیستورهای مؤثر در تحریک مسیرهای بیوشیمیایی مرتبط با تولید متابولیت های ثانویه در گیاهان دارویی بوده و با یافته های مطالعات پیشین هم راستا می باشد.

به طور کلی، از نتایج حاصل از این تحقیق و دیگر مطالعات انجام شده در زمینه نانوذرات و کاربرد آن ها به عنوان الیستور برای گیاهان، چنین استنباط می شود که نانوذرات می توانند به عنوان ابزارهای مؤثری در تغییر خصوصیات گیاهان، به ویژه در افزایش میزان تولید متابولیت های ثانویه عمل کنند. این امر می تواند به ویژه در حوزه تولید ترکیبات دارویی و بهبود کیفیت محصولات گیاهی نقش مهمی ایفا کنند. با این حال، برای بهره برداری بهینه از این پتانسیل، تحقیقات گسترده تری نیاز است تا



مکانیسم دقیق تأثیر نانوذرات بر فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان شناسایی و درک شوند. شناخت این مکانیسم‌ها نه تنها می‌تواند به استفاده از نانوذرات به‌طور مؤثرتر کمک کند، بلکه می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را در زمینه بهبود روش‌های کشت و پرورش گیاهان دارویی ارائه دهد.

با توجه به چشم‌انداز پیش رو، می‌توان گفت که استفاده از نانوذرات می‌تواند نقطه عطفی در عرصه کشاورزی و نیز پرورش انواع گیاه از جمله گیاهان دارویی باشد. این نوآوری‌ها می‌توانند به افزایش کارایی تولید محصولات کشاورزی و همچنین بهبود کیفیت و کمیت متابولیت‌های ثانویه مؤثر در درمان بیماری‌ها کمک کنند. بنابراین، سرمایه‌گذاری در تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌تواند به پیشرفت‌های چشمگیری در صنعت کشاورزی و داروسازی منجر شود و راه را برای استفاده بهینه از منابع طبیعی هموار کند.

منابع

- Brodelius, P., and Pedersen, H. (1993). Increasing secondary metabolite production in plant-cell culture by redirecting transport. *Trends in Biotechnology*, 11(1): 30-36.
- Dhamodharan, R., Jordan, M. A., Thrower, D., Wilson, L., and Wadsworth, P. (1995). Vinblastine suppresses dynamics of individual microtubules in living interphase cells. *Molecular Biology of the Cell*, 6(9):1215-1229.
- Dhyani, P., Quispe, C., Sharma, E., Bahukhandi, A., Sati, P., Attri, D. C.,... and Cho, W. C. (2022). Anticancer potential of alkaloids: a key emphasis to colchicine, vinblastine, vincristine, vindesine, vinorelbine and vincamine. *Cancer Cell International*, 22(1):206.
- Dumani, Y., Mortazavian, S.M., Izadi-Darbandi, A., Ramshini, H., and Amini, F. (2022). Titanium dioxide nanoparticles affect somatic embryo initiation, development, and biochemical composition in *Paulownia* sp. seedlings. *Industrial Crops and Products*, 176:114398.
- Ebadollahi, R., Jafarirad, S., Kosari-Nasab, M., and Mahjouri S. (2019). Effect of explant source, perlite nanoparticles and TiO₂/perlite nanocomposites on phytochemical composition of metabolites in callus cultures of *Hypericum perforatum*. *Scientific Reports*, 9(1):12998.
- Fatima, K., Abbas, S.R., Zia, M., Sabir, S.M., Khan, R.T., Khan, A.A., Hassan, Z., and Zaman, R. (2020). Induction of secondary metabolites on nanoparticles stress in callus culture of *Artemisia annua* L. *Brazilian Journal of Biology*, 81:474-83.
- Fatima, S., Mujib, A., and Tonk, D. (2015). NaCl amendment improves vinblastine and vincristine synthesis in *Catharanthus roseus*: a case of stress signalling as evidenced by antioxidant enzymes activities. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 121: 445-458.
- Fouad, A. S., and Hafez, R. M. (2018). Effect of cobalt nanoparticles and cobalt ions on alkaloids production and expression of CrMPK3 gene in *Catharanthus roseus* suspension cultures. *Cellular and Molecular Biology*, 64(12): 62-69.
- Ghorbanpour, M., and Hadian, J. (2015). Multi-walled carbon nanotubes stimulate callus induction, secondary metabolites biosynthesis and antioxidant capacity in medicinal plant *Satureja khuzestanica* grown in vitro. *Carbon*, 94:749-59.
- Himes, R.H. (1991). Interactions of the *catharanthus* (Vinca) alkaloids with tubulin and microtubules. *Pharmacology & Therapeutics*, 51(2): 257-267.
- Holghoomi, R., Sarghein, S.H., Khara, J., and Hosseini, B. (2021). Effect of functionalized-carbon nanotube on growth indices in *Ocimum basilicum* l. grown in vitro. *Russian Journal of Plant Physiology*, 68:958-72.
- Khan, S., Khan, R.S., Zahoor, M., Islam, N.U., Khan, T., Muhammad, Z., Ullah, R., and Bari, A. (2023). *Alnus nitida* and urea-doped *Alnus nitida*-based silver nanoparticles synthesis, characterization, their effects on



- the biomass and elicitation of secondary metabolites in wheat seeds under in vitro conditions. *Heliyon*, 9(3).
- Li, D., An, Q., Wu, Y., Li, J.Q., and Pan, C. (2020). Foliar application of selenium nanoparticles on celery stimulates several nutrient component levels by regulating the α -linolenic acid pathway. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 8: 10502–10510.
- Maqbool, M., Ishtiaq, M., Mazhar, M.W., Casini, R., Mahmoud, E.A., and Elansary, H.O. (2023). Enhancing Bioactive Metabolite production in *Aerva sanguinolenta* callus cultures through silver nanoparticle and salicylic acid elicitation. *Sustainability*, 15(13):10395.
- Maqsood, M., and Abdul, M. (2017). Yeast extract elicitation increases vinblastine and vincristine yield in protoplast derived tissues and plantlets in *Catharanthus roseus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27(5):549-556.
- Murashige, T., and F. Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3).
- Namdeo, A. G. (2007). Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. *Pharmacogn Rev*, 1(1): 69-79.
- Peebles, C. A., Hughes, E. H., Shanks, J. V., and San, K. Y. (2009). Transcriptional response of the terpenoid indole alkaloid pathway to the overexpression of ORCA3 along with jasmonic acid elicitation of *Catharanthus roseus* hairy roots over time. *Metabolic Engineering*, 11(2): 76-86.
- Rezaee, M., Hosseini, R., and Asghari, B. (2016). Evaluating the effect of zinc and cobalt nanoparticles on expression of STR, DAT and D4H genes in periwinkle (*Catharanthus roseus*) suspension culture. *Cell and Tissue Journal*, 7(4): 355-364.
- Shabani, M., Farsi, M., and Mirshamsi Kakhki, A. (2014). Evaluation of ethylene effect on expression level of T16H, G10H, DAT and AVLBS genes in *Catharanthus roseus*. *Mod. Gen. J*, 9(2): 151-60.
- Varma, A., and A. Jain. (2021). Protocol for Seed Surface Sterilization and In Vitro Cultivation. *Biology and Biotechnology of Quinoa: Super Grain for Food Security*, 265-282.
- Vasconsuelo, A., and Boland, R. (2007). Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Science*, 172(5): 861-875.
- Večerová, K., Večera, Z., Dočekal, B., Oravec, M., Pompeiano, A., and Tříska, J. (2016). Urban, O. Changes of primary and secondary metabolites in barley plants exposed to CdO nanoparticles. *Environ. Pollut.* 218: 207–218.
- Yang, W., Thordarson, P., Gooding, J.J., Ringer, S.P., and Braet F. (2007). Carbon nanotubes for biological and biomedical applications. *Nanotechnology*, 18(41):412001.
- Zhao, J., and Verpoorte, R. (2007). Manipulating indole alkaloid production by *Catharanthus roseus* cell cultures in bioreactors: from biochemical processing to metabolic engineering. *Phytochemistry Reviews*, 6: 435-457.
- Zhao, J., Davis, L. C., and Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 23(4): 283-333.
- Zhu, J., Wang, M., Wen, W., and Yu, R. (2015). Biosynthesis and regulation of terpenoid indole alkaloids in *Catharanthus roseus*. *Pharmacognosy Reviews*, 9(17): 24.
- Zhu, X., Zeng, X., Sun, C., and Chen, S. (2014). Biosynthetic pathway of terpenoid indole alkaloids in *Catharanthus roseus*. *Frontiers of Medicine*, 8: 285-293.



بررسی اثرات همزمان تنش کادمیوم و محلول پاشی پوترسین بر خصوصیات رشدی ریحان (*Ocimum basilicum*)

مهسا رفعتی آلاشتی^{*۱}

^{*۱} گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران. m.alashti@pnu.ac.ir

چکیده

تنش های محیطی و مواد شیمیایی مانند کادمیوم، رشد و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می دهند. در این مطالعه، نقش پوترسین به عنوان یک تنظیم کننده رشد در کاهش اثرات منفی تنش کادمیوم بر صفات مختلف ریحان بررسی شد. تأثیر سطوح مختلف پوترسین (صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی مولار) و کادمیوم (صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) بر صفاتی مانند ارتفاع بوته، وزن تر و خشک برگ و ساقه، و وزن کل مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده پوترسین بر همه صفات به جز وزن خشک برگ معنی دار است. همچنین، اثر ساده کادمیوم و برهمکنش آن با پوترسین در همه صفات در سطح یک درصد معنی دار بود. بیشترین ارتفاع بوته در شرایط عدم استفاده از پوترسین و کادمیوم (۱۷/۷۷ سانتی متر)، عدم استفاده از کادمیوم و کاربرد ۰/۷۵ میلی مولار پوترسین (۱۸/۷۷ سانتی متر) و عدم استفاده از کادمیوم و کاربرد ۱/۵ میلی مولار (۱۸ سانتی متر) مشاهده شد، در حالی که کمترین مقدار (۹/۹۳ سانتی متر) در تیمار ۱/۵ میلی مولار پوترسین و ۱۲۰ میلی گرم کادمیوم ثبت شد. برای وزن تر برگ و ساقه، بیشترین مقادیر در تیمار ۱/۵ میلی مولار پوترسین و ۴۰ میلی گرم کادمیوم به دست آمد. وزن خشک برگ و ساقه نیز بیشترین مقادیر را در همین تیمار نشان داد. بیشترین وزن تر و خشک کل نیز در تیمار ۱/۵ میلی مولار پوترسین و ۴۰ میلی گرم کادمیوم مشاهده شد. این نتایج نشان می دهد که پوترسین می تواند به کاهش اثرات منفی کادمیوم کمک کند.

واژگان کلیدی: تنش، پوترسین، ریحان، کادمیوم، عملکرد.



۱. مقدمه

گیاهان دارویی به عنوان یکی از منابع مهم ترکیبات طبیعی، نقش بسزایی در صنایع داروسازی، غذایی و آرایشی ایفا می کنند. از جمله این گیاهان، ریحان (*Ocimum basilicum*) که به دلیل خواص دارویی و عطری خود شناخته شده است، اهمیت ویژه ای در تحقیقات زیست محیطی و کشاورزی دارد (Zhakipbekov et al., 2024). با این حال، رشد و عملکرد این گیاهان تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی قرار می گیرد که از جمله مهم ترین این عوامل، تنش های محیطی نظیر آلودگی های فلزی هستند (Gatasheh et al., 2024). کادمیوم، به عنوان یکی از فلزات سنگین سمی، به طور گسترده در خاک ها و آب های آلوده یافت می شود و می تواند با اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی، ساختاری و بیوشیمیایی گیاهان، عملکرد آن ها را کاهش دهد (Kaushik et al., 2024). تنش کادمیوم با القای تنش اکسیداتیو و تجمع رادیکال های آزاد، موجب آسیب به غشاهای سلولی، اختلال در جذب عناصر ضروری، کاهش فتوسنتز و در نهایت کاهش رشد و عملکرد گیاه می شود. این تنش نه تنها بر پارامترهای مورفولوژیکی مانند ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام های هوایی تأثیر منفی می گذارد، بلکه بر ترکیبات بیوشیمیایی نظیر پرولین، مالون دی آلدید و نشت الکترولیت نیز تأثیر می گذارد (Saleem et al., 2024; Gatasheh et al., 2024). بنابراین، شناسایی راهکارهایی برای کاهش اثرات منفی تنش کادمیوم بر گیاهان دارویی از اهمیت بالایی برخوردار است. در این راستا، استفاده از تنظیم کننده های رشد گیاهی مانند پوترسین به عنوان یک پلی آمین طبیعی، مورد توجه قرار گرفته است. پوترسین نقش حیاتی در مقابله با تنش های محیطی ایفا می کند و به عنوان یک مولکول محافظ، از سلول های گیاهی در برابر آسیب های ناشی از تنش های اکسیداتیو محافظت می کند (Joshi et al., 2024). این ترکیب با تقویت دیواره سلولی، تعدیل جذب عناصر معدنی، کاهش تخریب غشاء و افزایش تولید آنتی اکسیدان ها، می تواند اثرات منفی تنش کادمیوم را کاهش دهد. تحقیقات نشان داده اند که کاربرد پوترسین در شرایط تنش، میزان پرولین را افزایش داده و با کاهش میزان مالون دی آلدید، از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می کند. همچنین، پوترسین با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز، به کاهش تنش اکسیداتیو کمک می کند. این اثرات مثبت پوترسین، می تواند به بهبود خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی گیاهان تحت تنش کادمیوم منجر شود (González-Hernández et al., 2022; Kapoor, 2023).

با توجه به اهمیت ریحان به عنوان یک گیاه دارویی و ارزش اقتصادی آن، بررسی تأثیر تنش کادمیوم و کاربرد پوترسین بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی این گیاه، می تواند به درک بهتری از مکانیسم های مقاومت و تحمل گیاه در برابر تنش های محیطی منجر شود. در این مطالعه، تلاش شده است تا ضمن بررسی اثرات منفرد تنش کادمیوم بر صفاتی مانند ارتفاع بوته، وزن تر و خشک برگ و ساقه، و عملکرد کل، نقش پوترسین در کاهش اثرات منفی این تنش مورد ارزیابی قرار گیرد. نتایج این تحقیق می تواند به مدیریت بهتر شرایط کشت گیاهان دارویی در خاک های آلوده به کادمیوم کمک کند و راهکارهایی برای افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش های محیطی ارائه دهد. همچنین، این مطالعه می تواند به بهبود عملکرد و کیفیت محصولات گیاهی در شرایط نامساعد محیطی منجر شود و در نهایت، به توسعه کشاورزی پایدار و حفاظت از منابع گیاهی کمک کند.



هدف اصلی این تحقیق، شناسایی بهترین سطح کاربرد پوترسین برای کاهش اثرات منفی تنش کادمیوم و بهبود عملکرد گیاه ریحان است.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. مواد گیاهی و تیمارهای مورد مطالعه

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. عامل های مورد مطالعه شامل تنش کادمیوم در چهار سطح (عدم تنش، کادمیوم در غلظت های ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک) و محلول پاشی پوترسین در سه سطح (عدم کاربرد، ۷۵/۰ و ۱۵۰/۵ میلی مولار) بود. بذره های ریحان پس از ضد عفونی با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت پنج دقیقه و شش مرتبه شستشو با آب مقطر در بستر خاک کشت شد. در مرحله چهار برگی تیمار پوترسین اعمال شد و پس از ۳۰ روز صفات مورد نظر اندازه گیری شد.

۲-۲. تجزیه و تحلیل داده ها

در پایان آزمایش داده های حاصل ابتدا نرمال گردید، سپس با استفاده از نرم افزار آماری SAS ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین داده ها به روش حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال آماری پنج درصد انجام شد.

۳. نتایج

در این مطالعه، تأثیر سطوح مختلف پوترسین و کادمیوم بر صفات ارتفاع بوته، وزن تر برگ و وزن تر ساقه، وزن خشک برگ و ساقه و وزن تر و خشک کل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده پوترسین برای همه صفات مورد مطالعه به جز وزن خشک برگ معنی دار بود. علاوه بر این اثر ساده تنش کادمیوم و برهمکنش پوترسین و تنش کادمیوم در همه صفات در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱).

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات مختلف تحت تأثیر تیمارهای پوترسین و تنش کادمیوم در گیاه دارویی ریحان

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته	وزن تر برگ	وزن تر ساقه
پوترسین (A)	۲	۱/۴۱**	۵۵/۳۱*	۱۵۶/۲۱**
تنش کادمیوم (B)	۳	۱۱۱/۹۲**	۶۵۰/۴۴**	۱۸۳۰/۶۹**
A × B	۶	۱/۴۳**	۶۵/۷۷**	۱۸۶/۸۹**
خطای آزمایشی	۲۴	۰/۲۴	۱۴/۲۵	۱۱/۲۴
ضریب تغییرات (درصد)	-	۳/۲۵	۱۰/۸۹	۶/۱۸

* و ** به ترتیب نشان دهنده معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می باشد.

ادامه جدول ۱. تجزیه واریانس صفات مختلف تحت تأثیر تیمارهای پوترسین و تنش کادمیوم در گیاه دارویی ریحان

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	وزن تر کل	وزن خشک کل
---------------	------------	-------------	--------------	-----------	------------



۷/۷۵*	۳۵۱/۶۸**	۴/۲۳**	۰/۸۷ ^{ns}	۲	پوترسین (A)
۷۳/۹۲**	۴۴۹۹/۴۴**	۱۷/۴۳**	۱۹/۶۲**	۳	تنش کادمیوم (B)
۷/۷۳**	۳۵۵/۹۰**	۲/۳۴**	۲/۳۲**	۶	A × B
۱/۶۱	۲۵/۸۴	۰/۴۷	۰/۴۳	۲۴	خطای آزمایشی
۱۰/۵۲	۵/۷۲	۱۱/۰۹	۱۱/۳۶	-	ضریب تغییرات (درصد)

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم معنی داری، معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می باشد.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین برهمکنش پوترسین و تنش کادمیوم نشان داد که بیشترین مقدار ارتفاع بوته در شرایط عدم استفاده از پوترسین و کادمیوم (۱۷/۷۷ سانتی متر)، عدم استفاده از کادمیوم و کاربرد ۰/۷۵ میلی مولار پوترسین (۱۸/۷۷ سانتی متر) و عدم استفاده از کادمیوم و کاربرد ۱/۵ میلی مولار (۱۸ سانتی متر) مشاهده شد، در حالی که کمترین مقدار (۹/۹۳ سانتی متر) در حضور ۱/۵ میلی مولار پوترسین و ۱۲۰ میلی گرم کادمیوم ثبت شد (جدول ۲). برای وزن تر برگ، بیشترین مقدار (۵۰/۵ گرم بر بوته) در تیمار ۱/۵ میلی مولار پوترسین و ۴۰ میلی گرم کادمیوم و کمترین مقدار (۱۹/۷۱ گرم بر بوته) در همان تیمار با ۱۲۰ میلی گرم کادمیوم مشاهده شد. در مورد وزن تر ساقه، بیشترین مقدار (۷۰/۷۸ گرم بر بوته) در تیمار ۱/۵ میلی مولار پوترسین و ۸۰ میلی گرم کادمیوم و کمترین مقدار (۳۰/۲۲ گرم بر بوته) در تیمار مشابه با ۱۲۰ میلی گرم کادمیوم ثبت شد (جدول ۲).

جدول ۲. مقایسه میانگین برهمکنش پوترسین و کادمیوم مربوط به صفات ارتفاع بوته، وزن تر برگ و ساقه در گیاه دارویی

ریحان

پوترسین (میلی مولار)	کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)	ارتفاع بوته (سانتی متر)	وزن تر برگ (گرم بر بوته)	وزن تر ساقه (گرم بر بوته)
عدم کاربرد	عدم کاربرد	۱۷/۷۷	۳۵/۷۶	۵۳/۹۱
	۴۰	۱۶/۸۷	۴۳/۴۵	۵۴/۵۹
	۸۰	۱۴/۵۰	۲۸/۹۸	۶۱/۹۴
	۱۲۰	۹/۶۰	۲۷/۰۲	۳۱/۸۳
۰/۷۵	عدم کاربرد	۱۸/۷۷	۳۳/۴۴	۵۷/۴۰
	۴۰	۱۶/۷۰	۴۰/۷۵	۶۹/۴۳
	۸۰	۱۴/۳۷	۳۲/۳۴	۵۰/۶۹
	۱۲۰	۱۰/۹۰	۲۵/۶۰	۳۹/۵۰
۱/۵	عدم کاربرد	۱۸/۰۰	۳۶/۷۴	۵۵/۲۸
	۴۰	۱۷/۱۷	۵۰/۵۰	۷۴/۸۵
	۸۰	۱۶/۲۷	۴۱/۳۶	۷۰/۷۸
	۱۲۰	۹/۹۳	۱۹/۷۱	۳۰/۲۲
	LSD	۰/۸۲	۶/۳۶	۵/۶۵



برای وزن خشک برگ و ساقه، بیشترین مقادیر به ترتیب ۸/۸۰ و ۹/۵۳ گرم بر بوته در تیمار ۱/۵ میلی مولار پوترسین و ۴۰ میلی گرم کادمیوم و کمترین مقادیر ۳/۲۵ و ۴/۲۸ گرم بر بوته در تیمار مشابه با ۱۲۰ میلی گرم کادمیوم مشاهده شد (جدول ۳). بیشترین وزن تر کل (۱۲۵/۳۵ گرم بر بوته) و وزن خشک کل (۱۸/۳۳ گرم بر بوته) نیز در تیمار ۱/۵ میلی مولار پوترسین و ۴۰ میلی گرم کادمیوم و کمترین مقادیر به ترتیب ۴۹/۹۳ و ۷/۵۳ گرم بر بوته در تیمار مشابه با ۱۲۰ میلی گرم کادمیوم ثبت شد (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه میانگین برهمکنش پوترسین و کادمیوم مربوط به صفات وزن خشک برگ و ساقه، وزن تر و خشک کل در گیاه

دارویی ریحان

پوترسین (میلی مولار)	کادمیوم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)	وزن خشک برگ (گرم بر بوته)	وزن خشک ساقه (گرم بر بوته)	وزن تر کل (گرم بر بوته)	وزن خشک کل (گرم بر بوته)
عدم کاربرد	عدم کاربرد	۶/۲۱	۶/۲۵	۸۹/۶۷	۱۲/۴۶
	۴۰	۷/۰۳	۵/۹۸	۹۸/۰۵	۱۳/۰۰
	۸۰	۴/۶۳	۵/۶۹	۹۰/۹۲	۱۰/۳۲
	۱۲۰	۴/۶۷	۴/۱۶	۵۸/۸۵	۸/۸۳
۰/۷۵	عدم کاربرد	۵/۶۱	۶/۳۷	۹۰/۸۵	۱۱/۹۸
	۴۰	۷/۳۷	۸/۳۳	۱۱۰/۱۸	۱۵/۶۹
	۸۰	۵/۴۵	۶/۲۳	۸۳/۰۳	۱۱/۶۸
	۱۲۰	۴/۵۰	۵/۱۶	۶۵/۱۰	۹/۶۶
۱/۵	عدم کاربرد	۵/۸۶	۶/۰۱	۹۲/۰۳	۱۱/۸۷
	۴۰	۸/۸۰	۹/۵۳	۱۲۵/۳۵	۱۸/۳۳
	۸۰	۶/۶۶	۶/۴۹	۱۱۲/۱۳	۱۳/۱۴
	۱۲۰	۳/۲۵	۴/۲۸	۴۹/۹۳	۷/۵۳
	LSD	۱/۱۱	۱/۱۶	۸/۵۶	۲/۱۳

۴. بحث و نتیجه گیری

کادمیوم به عنوان یک فلز سنگین، باعث القاء تنش اکسیداتیو در گیاه می شود که منجر به کاهش تقسیم سلولی و افزایش مرگ سلولی می شود. این موضوع می تواند به کاهش ارتفاع بوته منجر شود (Kaushik et al., 2024). از طرف دیگر، پوترسین به عنوان یک پلی آمین طبیعی، نقش محافظتی در برابر تنش های محیطی دارد و می تواند تا حدی اثرات منفی کادمیوم را کاهش دهد. اما در غلظت های بالاتر، ممکن است خود نیز تأثیرات منفی داشته باشد (González-Hernández et al., 2022). از سویی دیگر کادمیوم با تداخل در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند جذب آب و مواد مغذی، باعث کاهش وزن تر برگ و ساقه می شود. پوترسین می تواند با تعدیل تنش اکسیداتیو و بهبود فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، اثرات منفی کادمیوم را کاهش دهد. اما در غلظت های بالاتر کادمیوم، حتی پوترسین نیز نمی تواند اثرات مخرب آن را کاملاً خنثی کند. کاهش وزن خشک



نشان‌دهنده کاهش مواد ذخیره‌ای و فعالیت متابولیکی در گیاه است. کادمیوم با القاء تنش اکسیداتیو و اختلال در فرآیندهای فتوسنتزی، باعث کاهش وزن خشک می‌شود. پوترسین با تعدیل تنش و بهبود فعالیت آنزیم‌ها، می‌تواند تا حدی این کاهش را جبران کند (Raychaudhuri et al., 2021).

نتایج این مطالعه نشان داد که کادمیوم به طور کلی باعث کاهش رشد و عملکرد گیاه شده است. این فلز سنگین با القاء تنش اکسیداتیو و اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی، باعث کاهش ارتفاع بوته، وزن تر و خشک برگ و ساقه، و وزن تر و خشک کل می‌شود. از طرف دیگر، پوترسین به عنوان یک پلی‌آمین طبیعی، نقش محافظتی در برابر تنش‌های محیطی دارد و می‌تواند تا حدی اثرات منفی کادمیوم را کاهش دهد. با این حال، در غلظت‌های بالاتر کادمیوم، حتی پوترسین نیز نمی‌تواند اثرات مخرب آن را کاملاً خنثی کند. این اطلاعات می‌توانند در مدیریت تنش‌های محیطی و بهبود عملکرد گیاهان تحت شرایط مختلف مفید باشند. این یافته‌ها نشان می‌دهند که استفاده از پوترسین به عنوان یک ترکیب محافظت‌کننده در برابر تنش‌های فلزی می‌تواند در برنامه‌های کشاورزی و اصلاحی مورد توجه قرار گیرد. همچنین، مدیریت صحیح غلظت کادمیوم در خاک می‌تواند به حفظ عملکرد و رشد گیاهان کمک کند.

منابع

- Kaushik, S., Ranjan, A., Sidhu, A., Singh, A. K., and Sirhindi, G. (2024). Cadmium toxicity: Its' uptake and retaliation by plant defence system and JA signaling. *BioMetals*, 1-18.
- Gatasheh, M. K., Shah, A. A., Noreen, Z., Usman, S., and Shaffique, S. (2024). FeONPs alleviate cadmium toxicity in *Solanum melongena* through improved morpho-anatomical and physiological attributes, along with oxidative stress and antioxidant defense regulations. *BMC Plant Biology*, 24(1): 742.
- González-Hernández, A. I., Scalschi, L., Vicedo, B., Marcos-Barbero, E. L., Morcuende, R., and Camañes, G. (2022). Putrescine: A key metabolite involved in plant development, tolerance and resistance responses to stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(6): 2971.
- Joshi, K., Ahmed, S., Ge, L., Avestakh, A., Oloyede, B., Phuntumart, V., & Morris, P. F. (2024). Spatial organization of putrescine synthesis in plants. *Plant Science*, 349, 112232.
- Kapoor, R. T. (2023). Role of polyamines in plants under abiotic stresses: Regulation of biochemical interactions. *Plant Stress Mitigators*, 209-220.
- Raychaudhuri, S. S., Pramanick, P., Talukder, P., and Basak, A. (2021). Polyamines, metallothioneins, and phytochelatins—Natural defense of plants to mitigate heavy metals. *Studies in Natural Products Chemistry*, 69: 227-261.
- Saleem, M. H., Parveen, A., Perveen, S., Akhtar, N., Abasi, F., Ehsan, M., and Fahad, S. (2024). Alleviation of cadmium toxicity in pea (*Pisum sativum* L.) through Zn–Lys supplementation and its effects on growth and antioxidant defense. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(7): 10594-10608.
- Zhakipbekov, K., Turgumbayeva, A., Akhelova, S., Bekmuratova, K., Blinova, O., Utegenova, G., and Karasova, Z. (2024). Antimicrobial and other pharmacological properties of *Ocimum basilicum*, Lamiaceae. *Molecules*, 29(2): 388.



مروری بر خصوصیات گیاه‌شناسی، فیتوشیمیایی و فارماکولوژیکی گیاه دارویی به‌لیمو (*Aloysia citrodora*)

خدیجه احمدی^{۱*}، امین پنجستونی^۲ و فاطمه مینا^۲

^{۱*} گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران. (kh.ahmadi612@gmail.com)

^۲ گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران.

چکیده

گیاه دارویی به‌لیمو (*Aloysia citrodora*)، که به‌عنوان یک گیاه آرایشی و درمانی شناخته می‌شود، یکی از منابع طبیعی مهم برای تولید عصاره‌ها و ترکیبات بیوشیمیایی است. این گیاه که بومی آمریکای جنوبی است، در حال حاضر در سراسر جهان، به‌ویژه در شمال آفریقا و جنوب اروپا، کشت می‌شود و در پزشکی سنتی به‌عنوان درمانی برای اختلالات گوارشی، بی‌خوابی، اضطراب، مشکلات قلبی و تنفسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از نظر گیاه‌شناسی، به‌لیمو یک درختچه همیشه‌سبز است که به محیط‌های گرم و مرطوب با نور خورشید زیاد نیاز دارد. این گیاه به خاک‌های سبک، شنی، لومی متوسط، اسیدی، خنثی و قلیایی با زهکشی خوب علاقه دارد. از نظر فیتوشیمیایی، عصاره‌های به‌لیمو شامل ترکیبات فنولی (فلاونوئیدها، لیگنان‌ها و تانن‌ها) و ترکیبات ولاتیل (مثل لیمونن، ژرانیال، نرال و ۱،۸-سینئول) است که تحت تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی قرار دارد. در مطالعات فارماکولوژیکی، به‌لیمو خواص آرام‌بخش، ضد تشنج، مدر، ضد التهابی، ضد اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد قارچی را نشان می‌دهد. این گیاه در مدیریت بیماری‌های مختلف، به‌ویژه در بهبود ایمنی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مقاومت در برابر عفونت‌های باکتریایی و قارچی مؤثر است. مطالعات نشان داده است که به‌لیمو می‌تواند به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت آرایشی‌پوری مورد استفاده قرار گیرد. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که به‌لیمو یک منبع بالقوه برای توسعه داروهای آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد سرطانی است. بنابراین، این گیاه دارویی به‌عنوان یکی از منابع طبیعی و امیدوارکننده برای درمان بیماری‌های مختلف شناخته می‌شود.

واژگان کلیدی: به‌لیمو، ترکیب فیتوشیمیایی، خواص دارویی، روغن‌های اسانس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی.



۱. مقدمه

سازمان بهداشت جهانی (WHO) اعلام کرده است که ۸۰ درصد کشورهای در حال توسعه از داروهای سنتی مشتق شده از گیاهان دارویی سود می‌برند. تعداد کل تخمین زده شده گیاهان تقریباً ۳۷۴۰۰۰ در مقایسه با ۲۸۱۸۷ گونه دارویی مورد استفاده انسان است (MNPS, 2021). سازمان بهداشت جهانی همچنین نام بیش از ۲۰۰۰۰ گونه از گیاهان دارویی را ثبت کرده است و گیاهان دارویی را یکی از منابع بالقوه داروهای جدید معرفی کرده است (Vaou et al., 2021). یکی از این گیاهان، گیاه دارویی به‌لیمو است که بانام علمی *Aloysia citrodora* Paláu، یک گیاه دارویی شناخته شده است (Funes et al., 2011). به‌لیمو بومی آمریکای جنوبی در نظر گرفته می‌شود، علی‌رغم اینکه در حال حاضر در سرتاسر جهان به‌ویژه در شمال آفریقا و جنوب اروپا کشت می‌شود (Majewska et al., 2022). به‌طور سنتی، این گیاه برای اهداف دارویی و معطر، یعنی به‌عنوان یک درمان عامیانه برای اختلالات معده، مدیریت بی‌خوابی و اضطراب، برونشیت و مشکلات قلبی، و همچنین برای خواص ضد اسپاسم و ادرارآور آن استفاده می‌شده است (Majewska et al., 2022). گیاه و اسانس آن به دلیل داشتن رایحه دلپذیر لیمویی، کاربردهای مکرری در صنایع آرایشی و بهداشتی و غذایی، به‌ویژه در صنعت عطرسازی به دلیل محتوای قابل توجه سیترال دارند (Bahramsoltani et al., 2018). علاوه بر این، در برخی مناطق، برگ‌های تازه یا خشک شده به‌لیمو اغلب در نوشیدنی‌های با طراوت و به‌عنوان طعم‌دهنده در مشروبات الکلی، پودینگ و مربا استفاده می‌شود. از آنجایی که اسانس به‌لیمو مورد توجه صنایع مذکور است، تقاضا برای این گیاه معطر رو به افزایش بوده است (Spree et al., 2023). هدف از این مقاله مروری بر گیاهشناسی، ترکیبات شیمیایی، فارماکولوژی و کاربرد دارویی و درمانی گیاه به‌لیمو بود.

۲. مواد و روش‌ها

پایگاه‌های اطلاعاتی الکترونیکی شامل PubMed، Scifinder، Cochrane library، Scopus و Science direct با نام علمی گیاه و مترادف‌های آن و همچنین نام رایج جستجو شدند. تمام مطالعات در مورد گیاهشناسی، فیتوشیمی، فارماکولوژی و کاربرد دارویی گیاه به‌لیمو تا اکتبر ۲۰۲۴ در این بررسی گنجانده شد.

۳. نتایج

۳-۱. گیاهشناسی و اکولوژی به‌لیمو

به‌لیمو در اصل در آمریکای جنوبی کشف شد، توسط اسپانیایی‌ها به اروپا آورده شد و در حال حاضر، بسیاری از کشورهای آمریکای لاتین و مرکزی، اروپای جنوبی (از جمله یونان و فرانسه)، شمال آفریقا (از جمله الجزایر و مراکش)، چین و ایران آن را کشت می‌کنند. در یونان، عمدتاً در مقدونیه مرکزی یافت می‌شود (MRDF, 2023). خانواده Verbenaceae که شامل ۸۰۰ گونه و ۳۲ جنس است، شامل جنس *A. citrodora* است. *Lippia citriodora*، *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton، *Verbena triphylla* L'Hér، *Lippia triphylla* (L'Hér.) Kuntze، *Kunth* از جمله *Zappania citrodora* Lam و مترادف‌های گیاهشناسی آن هستند (Dimopoulos et al., 2016). خواص دارویی و معطر زیادی در ارتباط با این درختچه



وجود دارد. به لیمو درختچه‌ای همیشه‌سبز چندساله و زیر درختچه‌ای خزان کننده است و حدود ۲۳۰۰ گونه در تیره *Aloysia* وجود دارد. یک محیط گرم و مرطوب با نور زیاد خورشید برای آن ایده آل است زیرا وقتی در معرض یخبندان قرار می‌گیرد برگ‌ریز می‌شود. با نیاز سالانه ۵۰۰ تا ۱۳۰۰ میلی‌متر، به لیمو به خاک‌های سبک، شنی، لومی متوسط، اسیدی با زهکشی خوب، خنثی و بازی قلیایی ($\text{pH} = 4.5-7.8$) علاقه دارد (Dimopoulos et al., 2016). به لیمو از طریق بذر و به صورت رویشی با قلمه زدن یا تقسیم توده‌ها پخش می‌شود. دانه‌ها توسط باد پراکنده می‌شوند و میوه‌ها اسکیزوکارپ‌های خشک هستند که می‌توانند با چسبیدن به حیوانات و انسان‌ها پراکنده شوند (India Biodiversity Portal, 2019). به لیمو درختچه‌هایی به ارتفاع ۱-۳ متر، معطر، ساقه‌های بدون کرک در زمان بلوغ، آویزان است. برگ‌ها سه‌تایی، مختصراً دم برگ، دم برگ‌ها ۱-۵ میلی‌متر. تیغه‌های بیضوی، ۲-۸ × ۱-۲ سانتی‌متر، رأس حاد، قاعده حاد، لبه‌های کامل یا کمی دندانه‌دار، تیغه به صورت آکسیورال، پوسته پشتی با تریکوم‌های غده‌ای زیر لبه‌ای، ورید میانی و ورقه‌ای برجسته نمایان است (Rojas-Sandoval, 2022). گل آذین انتهایی به عنوان گل آذین خوشه‌ای شکل گروه‌بندی می‌شوند. گل‌ها سفید، کوچک؛ براکت‌های گل کاهش یافته، بیضی شکل، ۱-۱/۵ میلی‌متر، پوسته دار هستند. گل با کاسه گل ۲/۵-۳ میلی‌متر، با ۴ دندان کوتاه، نابرابر، مثلثی است. لوله کرولا ۵-۶ میلی‌متر، بدون کرک یا بلوغ در رأس است (Rojas-Sandoval, 2022).

۳-۲. اکولوژی به لیمو

به لیمو (*Aloysia citrodora*) درختچه‌ای بومی آرژانتین، بولیوی و پاراگوئه است که به طور گسترده در مناطق گرمسیری و معتدل گرم به عنوان یک گیاه معطر، زینتی و دارویی معرفی شده است. اغلب در باغ‌ها و به عنوان گیاه گلدانی کاشته می‌شود. از کشت فرار کرده و پس از کشت نیز خودبه‌خود رشد می‌کند. این گونه قابلیت انتشار از طریق بذر و رویشی از قطعات ساقه یا قلمه را دارد. در حال حاضر، به لیمو به عنوان مهاجم در کوبا و آفریقای جنوبی فهرست شده است و می‌توان آن را به صورت طبیعی در طیف وسیعی از زیستگاه‌ها و مناطق در سراسر جهان یافت. در مجموعه جهانی علف‌های هرز گنجانده شده است (Rojas-Sandoval, 2022). به لیمو هم به عنوان یک گیاه آشپزی و هم به عنوان یک گیاه دارویی استفاده می‌شود. به لیمو در ارتفاعات از سطح دریا تا حدود ۲۰۰۰ متر رشد می‌کند. در مناطقی با میانگین دمای سالانه ۱۸ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد (۱۴ تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد را تحمل می‌کند) و میانگین بارندگی سالانه بین ۶۰۰ میلی‌متر تا ۱۰۰۰ میلی‌متر (۵۰۰ تا ۱۸۰۰ میلی‌متر را تحمل می‌کند) به خوبی رشد می‌کند. گیاهان بالغ را می‌توان در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد از بین برد و نهال‌ها و گیاهان جوان در دمای صفر درجه سانتی‌گراد به شدت آسیب می‌بینند. خاک حاصلخیز و با زهکشی خوب با $\text{pH} 5.5 - 7.5$ را ترجیح می‌دهد. آب اضافی باعث پوسیدگی ریشه می‌شود (ECOCROP, 2019; Useful Tropical Plants, 2019).

۳-۳. شناسایی ترکیبات شیمیایی

به لیمو یک گیاه معطر رایج است که بسیاری از کشورها برای اهداف غذایی و دارویی کشت می‌شود. عصاره‌ها و فرآورده‌های به لیمو عمدتاً دارای فعالیت‌های بیولوژیکی آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی هستند. از نظر فیتوشیمیایی، عصاره‌های



به لیمو دارای مقدار زیادی فنولیک مانند فنیل پروپانئیدها، فلاونوئیدها، لیگنانها، تانن ها و انواع دیگر ترکیبات غیر فنولی و ترکیبات اصلی روغن به لیمو ایزومرهای سیترا ل ژرانیال و نرال هستند (Rashid et al., 2022). با این حال، لیمون، ۱،۸-سینئول، بتا-کاریوفیلین، سیترونال و سیترونلول اغلب به عنوان مواد اصلی ذکر شده بودند. علاوه بر این، مطالعات نشان داد که ترکیب روغن تحت تأثیر عوامل متعددی مانند ژنوتیپ گیاهان، عوامل محیطی و شرایط رشد قرار دارد (Dambolena et al., 2010). چندین نوع فیتوکمیکال در قسمت های مختلف به لیمو یافت شده است. فلاونوئیدهای مختلفی از متانول، اتانول یا عصاره های آبی گیاه جدا می شوند. علاوه بر این، اسانس عمدتاً از هیدروکربن و مونو سسکوئی ترپن های اکسیژن دار تشکیل شده است (Molla et al., 2024). مطالعه ای که بر روی برگ های تازه و خشک به لیمو با منشأ اردن انجام دادند ۸۳ ترکیب از ترکیب شیمیایی اسانس به لیمو شناسایی شد (Abuhamdah et al., 2015). مطالعه دیگری در مورد اسانس به دست آمده از برگ های خشک به لیمو، لیمون، نرال و ژرانیال را به عنوان اجزای اصلی شناسایی کرد. آن ها همچنین در مقادیر کم α -پینن، α -ترپینن، سابینن، لینالول و کاریوفیلین را شناسایی کردند (Hudaib et al., 2013). در مطالعه ای اندام های هوایی به لیمو ترکیب لیمون را به عنوان بالاترین ترکیب، همراه با ایزومرهای سیترا ل نشان داد که بیش از یک سوم روغن را نشان می دهد (Hudaib et al., 2013). سایر اجزای اصلی شناسایی شده در روغن به لیمو عمدتاً شامل ۱،۸-سینئول، α -کارکامن و اجزای سزکوئی ترپن اکسیژن دار اسپاتولنول و اکسید کاریوفیلین بود (Argyropoulou et al., 2007). درصد فراوانی اجزائی اسانس به لیمو در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی اسانس و عصاره به لیمو

ردیف	ترکیب	درصد فراوانی
۱	لیمون	۱۲/۱۴
۲	اکسید کاریوفیلین	۱۰/۴۴
۳	کورکومن	۹/۱۷
۴	اسپاتولنول	۷/۱۶
۵	۱،۸-سینئول	۷/۹۴
۶	ژرانیال	۴/۰۳
۷	نرال	۲/۵۵

۳-۴. خواص فارماکولوژیک به لیمو

گیاه دارویی به لیمو دارای خواص درمانی بی شماری در طب سنتی کشورهای آسیایی، اروپایی و به ویژه کشورهای آمریکای جنوبی است. مطالعات زیادی در مورد اثرات آرامش بخش، هضم کننده و تسکین دهنده اسانس به لیمو از انجام شده است (Dimopoulos et al., 2016). در فرهنگ گیاه درمانی و طب ایرانی، برگ های این گیاه به صورت یک دم کردنی آرام بخش، ضد تشنج، مدر و برطرف کننده تپش قلب و سرگیجه مصرف دارد (اقبال و همکاران، ۱۳۹۵). همچنین به لیمو از دیرباز به عنوان درمانی برای مشکلات تنفسی و گوارشی استفاده می شده است. برخی از گونه ها علاوه بر ضد مالاریا، دارای



ویژگی‌های ضد ویروسی، ضد اسپاسم، ضد باکتریایی، آنتی اکسیدانی و سیتواستاتیک هستند (Funes et al., 2009). علاوه بر این برگ‌های تازه به‌لیمو را می‌توان به سوپ و خورش اضافه کرد (Regnier et al., 2010). تحقیقات متعدد نشان داده است که فواید درمانی مرتبط با به‌لیمو به فلاونوئیدها و اسانس‌ها نسبت داده می‌شود (Rosa et al., 2005). *Aloysia citrodora* به‌عنوان یک گیاه معطر و زینتی استفاده می‌شود. از برگ‌های به‌لیمو برای افزودن طعم به غذا، نوشیدنی‌ها و مشروبات الکلی استفاده می‌شود، به‌عنوان سبزی در سالاد و سوپ مصرف می‌شود و برای تهیه دمنوش‌های گیاهی استفاده می‌شود. از برگ‌های خشک آن به‌صورت پودری در غذا استفاده می‌شود. اسانس استخراج‌شده از برگ‌ها در عطرسازی و رایحه‌درمانی استفاده می‌شود. همچنین به‌عنوان گیاه دافع حشرات در باغ‌ها کاشته می‌شود (Useful Tropical Plants, 2019; USDA-ARS, 2019). به‌لیمو همچنین یک گیاه دارویی محبوب است که برای درمان اختلالات گوارشی (هاضمه، ضد اسپاسم، ضد اسهال، ضد اسهال)، بی‌خوابی و روماتیسم استفاده می‌شود. همچنین به‌عنوان یک آرام‌بخش ملایم، قلب و عروق، تب بر، ضد درد و ضد عفونی‌کننده استفاده می‌شود (Useful Tropical Plants, 2019).

۳-۵. اثرات بیولوژیکی

به‌لیمو (*Aloysia citrodora*) یک گیاه پلی فنلی است که خواص آنتی اکسیدانی و محرک ایمنی از خود نشان می‌دهد. در این زمینه، پودر به‌لیمو باعث افزایش رشد و ژن‌های مرتبط با ایمنی و ایمنی در سرم و مخاط پوست ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) شد (Hoseinifar et al., 2020). یافته‌های پژوهشی نشان داد که به‌لیمو رژیم غذایی در ۲ درصد ژن‌های مرتبط با ایمنی ($IL-1\beta$, $IL-8$ و $TNF-\alpha$) را تنظیم می‌کند، لیزوزیم و ایمونوگلوبولین کل را در مخاط سرم و پوست بهبود می‌بخشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را افزایش می‌دهد (Hoseinifar et al., 2020). عصاره گیاه دارویی به‌لیمو به میزان ۱۰-۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم در جیره ماهیان خاویاری سبزی برای افزایش عملکرد رشد، استفاده از خوراک، ایمنی خون و مخاط پوست توصیه می‌شود. ژن‌های ایمنی در ماهی‌های تحت تیمار عصاره به‌لیمو بیان شد که ماهی را قادر می‌سازد تا در برابر عفونت *A. hydrophila* مقاومت کند. عصاره LV می‌تواند به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها برای آبی‌پروری پایدار و دوستانه ماهیان خاویاری سبزی استفاده شود (Adel et al., 2021). نتایج تحقیق نشان داد که ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه به‌لیمو دارای فعالیت ضد میکروبی بالایی در برابر باکتری‌ها و قارچ‌ها (مثل *P. vulgaris* و *C. albicans*) است و بر آنزیم‌های COX-1 و COX-2 تأثیر می‌گذارند، که نشان‌دهنده خواص ضدالتهابی آن‌هاست. بنابراین، اسانس این گیاه می‌تواند برای داروهای آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد توموری امیدوارکننده باشد (Jaradat et al., 2021).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

به‌لیمو یک گونه گیاهی دارویی است که به‌طور گسترده در جهان پراکنده شده و معمولاً در طب عامیانه کشورهای مختلف از جمله طب سنتی چین استفاده می‌شود. مونوگراف‌های به‌لیمو از سال ۲۰۰۸ در فارماکوپه اروپا و از سال ۱۹۹۵ در فارماکوپه چینی گنجانده شده است. این کار ویژگی‌های گیاه‌شناسی این گونه را ارائه می‌دهد. این دانش کنونی از ترکیب شیمیایی آن، که



منبعی غنی از ایریدوئیدها، گلیکوزیدهای فنیل پروپانوئید، اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و اسانس است، مرور می‌کند (Kubica et al., 2020). بخش بزرگی از این مقاله کاربردهای دارویی سنتی و مطالعات فارماکولوژیکی حرفه‌ای در شرایط آزمایشگاهی و درون تنی را خلاصه می‌کند که کاربردهای مهم جدیدی را ثابت می‌کند، به‌عنوان مثال، آنتی‌اکسیدان، ضد میکروبی، ضد التهاب، ضد سرطان محافظ عصبی، ضد درد یا ضد تشنج عصاره‌های گیاه سرخابی و متابولیت‌های فردی. علاوه بر این، تأکید بر استفاده از به‌لیمو در صنایع غذایی و آرایشی و بهداشتی به‌ویژه به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضدالتهابی آن و وجود اسانس با ترکیب معطر جذاب است (Kubica et al., 2020). به‌لیمو گیاهی محبوب با طیف گسترده‌ای از اثرات دارویی هستند. آن‌ها در طب گیاهی به‌عنوان مکمل‌های سلامتی و/یا دمنوش‌های گیاهی استفاده شده‌اند. ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های هیدرو متانولی و آبی (جوشانده‌ها و دمنوش‌ها) برگ‌های معمولی و لیمو، تفاوت‌هایی را از نظر ارزش غذایی، ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین دو گونه نشان داد. علاوه بر این، بین ترکیبات فنلی کشف شده و فعالیت بیولوژیکی عصاره‌ها به‌لیمو نشان‌دهنده نقش حیاتی ترکیبات فنلی به‌عنوان عوامل آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های رایج به‌لیمو است (Polumackanycz et al., 2022). چندین فعالیت دارویی برای به‌لیمو گزارش شده است. با این حال، این گیاه به طور کامل از نظر ایمنی و کارایی آن در انسان ارزیابی نشده است.

به‌لیمو یک منبع گیاهی چندمنظوره است که با توجه به خواص دارویی، معطر و غذایی خود، در صنایع مختلف و مدیریت سلامت دارای کاربردهای گسترده‌ای است. این گیاه نه تنها در پزشکی سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد بلکه به‌عنوان یک مکمل غذایی و مواد اولیه در صنایع دارویی و آرایشی نیز قابل استفاده است. همچنین، به‌لیمو می‌تواند در تقویت سیستم ایمنی موجودات زنده و مدیریت عفونت‌ها نقش مؤثری ایفا کند. با توجه به تقاضای رو به افزایش برای این گیاه، پژوهش‌های بیشتر برای استخراج ترکیبات فعال و توسعه کاربردهای جدید ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

- اقبال، ح.، بهلولی، ش.، و ابراهیمی، آ. ۱۳۹۵. بررسی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس گیاه دارویی به‌لیمو (*Lippia citriodora* H.B.K.) منطقه مشکین شهر و خاصیت ضد میکروبی آن علیه باکتری‌های عامل عفونت تنفسی، همایش ملی گیاهان دارویی، شاهرود. ۱۳۹۵.
- Abuhamdah, S., Abuhamdah, R., Howes, M.-J.R., Al-Olimat, S., Ennaceur, A., and Chazot, P.L. (2015). Pharmacological and neuroprotective profile of an essential oil derived from leaves of *Aloysia citrodora* Palau. *J. Pharm. Pharmacol.*, 67: 1306–1315.
- Adel, M., Dawood, M.A.O., Gholamhosseini, A., Sakhaie, F., and Banaee, M. (2021). Effect of the extract of lemon verbena (*Aloysia citrodora*) on the growth performance, digestive enzyme activities, and immune-related genes in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*), *Aquaculture*, 541: 736797.
- Argyropoulou, C., Daferera, D., Tarantilis, P.A., Fasseas, C., and Polissiou, M. (2007). Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* HBK (Verbenaceae) at two developmental stages. *Biochem. Syst. Ecol.*, 35, 831–837.
- Bahramsoltani, R., Rostamiasrabadi, P., Shahpiri, Z., Marques, A.M., Rahimi, R., and Farzaei, M.H. (2018). *Aloysia Citrodora* Paláu (*Lemon verbena*): A Review of Phytochemistry and Pharmacology. *J. Ethnopharmacol.*, 222: 34–51.



- Dambolena, J.S., Zunino, M.P., Lucini, E.I., Zygodlo, J.A., Banchio, E., Biurrun, F., Rotman, A., and Ahumada, O. (2010). Aromatic plants of northwest Argentina. Constituents of the essential oils of aerial parts of seven Verbenaceae: Lantana and Aloysia. *Journal of Essential Oil Research*, 22: 289–293.
- Dimopoulos, P., Raus, T., Bergmeier, E., Constantinidis, T., Iatrou, G., Kokkini, S., Strid, A., and Tzanoudakis, D. (2016). Vascular plants of Greece: An annotated checklist. Supplement. *Willdenowia*, 46: 301–347.
- ECOCROP, 2019. Crop Ecological Requirements Database. FAO. <http://ecocrop.fao.org/ecocrop/srv/en/home>.
- Funes, L., Carrera-Quintanar, L., Cerdán-Calero, M., Ferrer, M.D., Drobnic, F., Pons, A., Roche, E., Micol, V. (2011). Effect of lemon verbena supplementation on muscular damage markers, proinflammatory cytokines release and neutrophils' oxidative stress in chronic exercise. *Eur. J. Appl. Physiol*, 111: 695–705.
- Funes, L., Fernandez-Arroyo, S., Laporta, O., Pons, A., Roche, E., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutiérrez, A., and Micol, V. (2009). Correlation between plasma antioxidant capacity and verbascoside levels in rats after oral administration of lemon verbena extract. *Food Chem.*, 117: 589–598.
- Hellenic Republic, Ministry of Rural Development and Food (MRDF). (2023). Available online: <https://www.minagric.gr> (accessed on 23 December 2023).
- Hoseinifar, S.H., Shakouri, M., Van Doan, H., Shafiei, S., Yousefi, M., Raeisi, M., Yousefi, S., Harikrishnan, R., and Reverter, M. (2022). Dietary supplementation of lemon verbena (*Aloysia citrodora*) improved immunity, immune-related genes expression and antioxidant enzymes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 99: 379–385.
- Hudaib, M., Tawaha, K., and Bustanji, Y. (2013). Chemical profile of the volatile oil of Lemon verbena (*Aloysia citrodora* Paláu) growing in Jordan. *J. Essent. Oil Bear. Plants*, 16: 568–574.
- India Biodiversity Portal, (2019). Online Portal of India Biodiversity. In: Online Portal of India Biodiversity. <http://indiabiodiversity.org/species/list>
- Jaradat, N., Hawash, M., Abualhasan, M.N. et al. (2021). Spectral characterization, antioxidant, antimicrobial, cytotoxic, and cyclooxygenase inhibitory activities of *Aloysia citrodora* essential oils collected from two Palestinian regions. *BMC Complement Med Ther* 21: 143.
- Kubica, P., Szopa, A., Dominiak, J., Luczkiewicz, M., and Ekiert, H. (2020). Verbena officinalis (*Common Vervain*) - A Review on the Investigations of This Medicinally Important Plant Species. *Planta Med.* 86(17):1241-1257.
- Majewska, E., Kozłowska, M., Tarnowska, K., Gruczyńska-Sękowska, E., and Kowalska, D. (2022). Chemical Composition and Biological Activity of Lemon Verbena (*Lippia citrodora*) Essential Oil—A Review. *J. Essent. Oil Bear. Plants*, 25: 796–810.
- MNPS. Medicinal Plant Names Services (MNPS). (2021). Available online: <https://www.kew.org/science/our-science/science-services/medicinal-plant-names-services> (accessed on 14 August 2021).
- Molla, A., Solomou, A.D., Tziouvakas, M., Lolas, A., and Skoufogianni, E. (2024). Dynamics of Agronomic Characteristics and Plant Diversity in Lemon Verbena (*Aloysia citrodora* Paláu) Cultivation in Greece. *Agriculture*, 14: 97.
- Polumackanycz, M., Petropoulos, S.A., Añibarro-Ortega, M., Pinela, J., Barros, L., Plenis, A., and Viapiana, A. (2022). Chemical Composition and Antioxidant Properties of Common and Lemon Verbena. *Antioxidants (Basel)*. 2022 15;11(11): 2247.
- Rashid, H.M., Mahmod, A.I., Afifi, F.U., and Talib, W.H. (2022). Antioxidant and Antiproliferation Activities of Lemon Verbena (*Aloysia citrodora*): An In Vitro and In Vivo Study. *Plants*, 11: 785.
- Regnier, T., and Combrinck, S. (2010). In vitro and in vivo screening of essential oils for the control of wet bubble disease of *Agaricus bisporus*. *S. Afr. J. Bot.* 76: 681–685.
- Rojas-Sandoval, J. (2022). *Cabicompendium*. 112152, CABI Compendium, doi:10.1079/cabicompendium.112152, CABI International, *Aloysia citrodora* (lemon verbena), (2022).
- Rosa, P.T.V., and Meireles, M.A.M. (2005). Rapid estimation of the manufacturing cost of extracts obtained by super critical fluid extraction. *Journal Food Eng.* 67: 235–240.
- Sprea, R.M., Fernandes, L.H.M., Pires, T.C.S.P., Calhella, R.C., Rodrigues, P.J., and Amaral, J.S. (2023). Volatile Compounds and Biological Activity of the Essential Oil of *Aloysia citrodora* Paláu: Comparison of Hydrodistillation and Microwave-Assisted Hydrodistillation. *Molecules*, 28: 4528.



- USDA-ARS, (2019). Germplasm Resources Information Network (GRIN). Online Database. In: Germplasm Resources Information Network (GRIN). Online Database. Beltsville, Maryland, USA: National Germplasm Resources Laboratory. <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxon/taxonomysimple.aspx>.
- Useful Tropical Plants, (2019). Useful tropical plants database. In: Useful tropical plants database. K Fern. <http://tropical.theferns.info/>.
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., and Bezirtzoglou, E. (2021). Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. *Microorganisms*, 9: 2041.



بررسی اثر رویشگاه بر روی تنوع مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی جمعیت‌های *Artemisia sieberi* Besser.

شهرام یزدی‌فر^{۱*}، سودابه نورزاد^۲، رضا شیخ‌اکبری‌مهر^۳

^{۱*} گروه تولیدات گلخانه، دانشگاه قم، قم، ایران. (Shahram_yazdifar@yahoo.com)

^۲ گروه گیاه پزشکی، مرکز علمی کاربردی بهار آوران نسترن، قم، ایران.

^۳ گروه کشاورزی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران.

^۴ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران.

چکیده

درمنه دشتی از مهم‌ترین گیاهان مرتعی ایران، گیاهی مقاوم به شرایط سخت می‌باشد. با توجه به اینکه بوته‌های درمنه دشتی در مکان‌های مختلف تحت تأثیر عوامل محیطی مانند اقلیم، خصوصیات خاک و شرایط جغرافیایی قرار دارند، لذا جهت حفظ بقاء، خود را با شرایط رویشگاه‌ها سازگار می‌نمایند که نهایتاً سبب تغییرات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی می‌شود. تحقیق‌های زیادی با هدف اثر رویشگاه بر روی جمعیت‌های گیاهان دارویی مختلف انجام شد. نتایج نشان داد که افزایش ارتفاع از سطح دریا، کاهش شدت دمای هوا، افزایش میزان بارندگی، کاهش pH و EC خاک، اثر معنی‌دار مثبتی بر روی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاهان مختلف از جمله درمنه دشتی می‌گردند. هر گیاه درمنه دشتی، سازگاری زیادی در اقلیم‌های گرم و خشک دارد ولی در صورت وجود شرایط اقلیمی مناسب، رشد و نمو خوبی داشته و مقادیر پارامترهای مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی آن از قبیل ارتفاع گیاه، ابعاد برگ، وزن خشک اندام هوایی و برگ، تعداد شاخه گل‌دهنده، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، مقادیر فنول و فلاونوئید کل و اسانس افزایش می‌یابد. شوری خاک، عاملی محدود کننده و اثرگذار بر روی رشد و حتی پراکنش گیاهان دارویی خصوصاً درمنه دشتی می‌باشد که مطالعات بیانگر افزایش مقادیر پرولین و قندهای محلول در برخی رویشگاه‌ها است. این پژوهش بر اهمیت درک سازگاری‌های خاص رویشگاه در *Artemisia sieberi* برای کاربردهای اهلی‌سازی، تولید اسانس، افزایش متابولیت‌های ثانویه و حفاظت از مراتع تأکید می‌کند. با استفاده از این دانش، می‌توان راهبردهای هدف‌مندی برای بهینه‌سازی کشت و استفاده از این گیاه دارویی ارزشمند توسعه داد.

واژگان کلیدی: اسانس، اقلیم، تنوع، درمنه دشتی، سازگاری.



۱. مقدمه

کشور ایران یکی از غنی ترین کشورهای دنیا از لحاظ تنوع زیستی است و تعداد گونه های گیاهی آن در حدود ۸۰۰۰ گونه است که بیش از ۲۰۰۰ گونه از آن ها گیاهان دارویی و معطر هستند (مظفریان، ۱۳۹۶)، همچنین به دلیل تضادهای گسترده اقلیمی، پیشینه زیستی و نیز توان بالای گونه زایی، زیستگاه های مساعدی را جهت استقرار گونه های متنوع گیاهی و جانوری پدید آورده است. ظرفیت تنوع گیاهی کشور در مقیاس ناحیه ریشی، جغرافیای گیاهی، جوامع و تیپ های گیاهی، اکوسیستم ها، تنوع گونه ای، تنوع گونه های انحصاری، کانون های گونه زایی و در نهایت تنوع ژنتیکی یا تنوع جمعیت ها قابل بررسی، اندازه گیری و پایش هستند (جلیلی و حمزاد، ۱۳۹۹). در این تنوع بی نظیر، جنس درمنه یکی از با اهمیت ترین جنس های گیاهی ایران است (مظفریان، ۱۳۹۶). از بین گونه های مختلف این جنس، درمنه دشتی مهم ترین گونه از این جنس در ایران به شمار می آید، چون پوشش غالب منطقه ایران و تورانی را این گونه تشکیل داده که به واسطه ویژگی های بارز خود به شدت در مقابل شرایط سخت محیطی مقاوم بوده و در نتیجه در پایداری و بقای پوشش گیاهی نقش مهمی دارد (Azarnivand and Zare-chahouki, 2011).

جنس *Artemisia* شامل گیاهان دارویی مهمی می باشد که در حال حاضر به دلیل تنوع بیولوژیکی و شیمیایی و تولید اسانس مورد توجه قرار گرفته اند، از جمله گیاهان مهم این جنس، می توان به درمنه دشتی اشاره نمود که به عنوان گسترده ترین گیاه در مراتع ایران می باشد (یزدی فر و همکاران، ۱۴۰۱). از جنس *Artemisia* در ایران ۳۵ گونه گزارش شده که گونه *Artemisia sieberi* Besser در مناطق بیابانی ایران گسترش دارد (مظفریان، ۱۳۹۶). پراکنش درمنه دشتی افزون بر ایران در آسیای مرکزی گزارش شده است. انتشار جغرافیایی آن، شمال غربی، غرب، بخش مرکزی، جنوب، جنوب شرقی، شمال شرقی و جنوب شرقی ایران است (Yazdi far et al., 2024). به شناخت و بررسی تنوع فیتوشیمیایی و مورفوفیزیولوژیکی جمعیت های *A. sieberi* در رویشگاه های طبیعی می تواند در تحقیقات آتی در خصوص اهلی سازی، افزایش مقادیر ترکیبات ثانویه گیاه، حفاظت از مراتع و کاربردهای دارویی و حتی زینتی بصورت هدفمندتر اقدام گردد.

۲. مواد و روش ها

در این مطالعه مروری، با هدف بررسی مکانیسم اثر و نقش شاخص های مقاومت به تنش در گیاهان دارویی و تولید اسانس، مطالعات مروری و مقالات پژوهشی مرتبط مورد بررسی قرار گرفتند. جستجوی مقالات در پایگاه های اطلاعاتی معتبر از جمله Google Scholar، PubMed، ScienceDirect، Scopus و پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID) انجام شد. برای جستجو، از ترکیبی از کلیدواژه های فارسی و انگلیسی نظیر "اسانس"، "اقلیم"، "تنوع"، "درمنه دشتی"، "سازگاری"، "گیاهان دارویی"، "Essential Oils"، "Medicinal Plants"، "Diversity" و "Stress" استفاده گردید.

۳. نتایج

3-1. گیاهشناسی

گیاه درمنه دشتی متعلق به شاخه گیاهان دانه دار، زیرشاخه نهان دانگان، رده دولپه ای های پیوسته گلبرگ، راسته میناسانان (Asterales) و تیره کاسنی (Asteraceae)، زیرخانواده کاسنی واریان (Asteroideae) با نام علمی *Artemisia sieberi* Besser می باشد (Yazdi Far et al., 2024). گیاهی بوته ای (شکل ۱)، چند ساله، بیخ ساقه چوبی و ضخیم، پر ساقه و همچنین ساقه های بارور به ارتفاع ۱۵ تا ۵۵ سانتی متر است (مظفریان، ۱۳۹۹). گل آذین پانیکول و ریشه این گیاه شامل یک ریشه اصلی که به طور مستقیم تا عمق تقریبی ۴۵ سانتی متر در خاک نفوذ می کند و ریشه های فرعی به طور عمده در عمق ۵ سانتی متری به طور نسبتاً افقی از ریشه اصلی منشعب می شوند (یزدی فر و همکاران، ۱۴۰۱).

درمنه دشتی، در اوایل بهار شروع به رشد نموده، در اواسط پاییز به گل نشسته و در اواخر پاییز تولید بذر می نماید (Ghasemi Arian, 2019؛ یزدی فر و همکاران، ۱۴۰۱).



شکل ۱- نمونه ای از برگ های یک گیاه تازه روئیده، گیاه کامل و سرشاخه گل دار درمنه دشتی (یزدی فر، ۱۴۰۳)

3-2. ترکیبات شیمیایی

به طور کلی جنس *Artemisia* دارای طیف وسیعی از فعالیت های زیستی می باشد که به دلیل وجود چندین ماده فعال (متابولیت های ثانویه) است (Nigam et al., 2019). گیاهان موجودات بی تحرکی هستند و برای دفاع از خود در برابر محدودیت های زیستی برونزا، مجموعه ای از متابولیت های ثانویه را سنتز می کنند که اثرات فیزیولوژیکی و اکولوژیکی مهمی دارند (Guerriero et al., 2018). متابولیسم ثانویه در یک گیاه نه تنها در بقای گیاه در تولید عوامل جذب کننده برای گرده افشانی نقش دارد، بلکه به عنوان یک عامل دفاعی شیمیایی موثر عمل می کند (Khadivi-khub et al., 2014; Naghavi et al., 2019).

مهم ترین گروه از گیاهان دارویی کشور ایران، گیاهان اسانس دار هستند که استفاده های وسیعی در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی-بهداشتی دارند. مبنای تمام دانش بشر در مورد یک گیاه دارویی و آثار و خواص ناشی از آن، بسته به شناخت صحیح و علمی نسبت به نوع و میزان مواد مؤثره آن است (Yazdi Far et al., 2015)، این شناخت، سبب تعیین تمام فراورده های قابل



تهیه از یک گیاه می شود، تا در نهایت، بتوان محصولات متنوع، اسانس و عصاره را از گیاه استخراج کرد. بنابراین بررسی های فیتوشیمیایی، نقش بسیار تعیین کننده و اساسی در بهره برداری از گیاهان دارویی و معطر دارد (سفیدکن، ۱۴۰۰).
درمنه دشتی حاوی ترکیبات متنوعی از قبیل اسانس، فلفل، فلاونوئید، پروتئین، کومارین، سانتونین، چربی و مواد تلخ می باشد (یزدی فر و همکاران، ۱۴۰۱). از جمله ترکیبات موجود در اسانس این گیاه می توان به α -thujene، α -pinene، β -thujone، Verbenone، Terpinene-4-ol، Borneol، 1,8- Cineole، Camphene، Camphor Yazdi Far et al., 2017 (al., 2024; Youssefi et al., 2017) اشاره کرد.

۳-۳. خواص درمانی

درمنه دشتی حاوی فلاونوئیدهایی است که خاصیت آنتی اکسیدانی دارند (یزدی فر و همکاران، ۱۴۰۱). ترکیبات فنی این گیاه، با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کبدی؛ پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش می دهد (Arianfar et al., 2018)، درمنه دارای خواص ضد عفونی کننده، ضد انگل، تب بر، ضد سرفه، بادشکن، اشتها آور و ضد التهاب نیز می باشد (Mahmoud Dif et al., 2023).

3-4. نقش رویشگاه در تنوع مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاهان دارویی

رویشگاه ها بستر اساسی تنوع گونه های گیاهی محسوب می شوند، لذا بررسی رویشگاه ها به عنوان یکی از مهم ترین مطالعات در اکوسیستم ها محسوب می شود (محرابی و همکاران، ۱۳۸۶).

3-5. تاثیر رویشگاه بر درمنه دشتی

بر اساس تحقیقات (میرحاجی و همکاران، ۱۳۷۸) خاک در استقرار *A. sieberi* نقش اصلی را ایفا و عوامل توپوگرافیکی شیب زمین، جهت و ارتفاع از سطح دریا حساسیت بیشتری در این گیاه ایجاد می کند. نتایج تحقیق (آذرنیوند و همکاران، ۱۳۸۲) نشان داد که تراکم روزنه های برگ در سطح فوقانی، قطر دایره محیطی ساقه و ریشه و قطر دایره مرکزی ساقه با افزایش ارتفاع از سطح دریا کاهش می یابد. احتمالاً یکی از دلایل سازگاری گونه *A. sieberi* با اقلیم خشک و نیمه خشک خصوصیات آناتومیکی گیاه است که باعث کاهش تبخیر آب میان بافتی آن از سطح برگ و استفاده بهینه از رطوبت خاک به دلیل ساختار ویژه ریشه آن شده است.

در استان قم پراکنش گونه *sieberi* تقریباً شامل تمامی اراضی دشتی استان به جز مناطق شور می باشد. درمنه دشتی در حاشیه دریاچه حوض سلطان با ارتفاع ۹۰۰ متر، قسمت بیشتری از حوضه آبخیز طغرود تا منطقه مهرزمین و در اکثر قسمت های حوضه آبخیز کهک و کبار تا ارتفاع ۱۹۰۰ متر و حوضه آبخیز مرکزی رویش دارد (آذرنیوند و همکاران، ۱۳۸۲). این گیاه ارتفاعات ۱۸۰۰-۱۴۰۰ متر، شیب های صفر تا ۱۲ درصد، بارندگی ۲۰۰-۱۶۰ میلی متر و خاک های لومی تا لومی ماسه ای آهک دار با شوری کم را ترجیح می دهد (Ghasemi Arian, 2019).



با شروع باران‌های پاییزی، اسانس موجود در برگ‌ها و سرشاخه‌های درمنه دشتی کاهش یافته و از نظر دام خوش خوراک می‌شود، از این رو درمنه‌زارها اغلب در پاییز و زمستان مورد استفاده برای چرای دام قرار می‌گیرند (Azarnivand and Zare-
chahouki, 2012).

در تحقیقی نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به درصد پوشش تاجی، میزان بیوماس اندام هوایی و زیرزمینی و همچنین میزان ترسیب کربن اندام هوایی، زیرزمینی و خاک پای گونه درمنه دشتی (۳۰-۰ سانتی‌متر) در سه طبقه ارتفاعی مورد مطالعه نشان داد که کلیه فاکتورهای مورد بررسی در ارتفاعات مختلف دارای اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد بودند به طوری که هر چه ارتفاع افزایش یافت، درصد پوشش تاجی، میزان بیوماس و میزان ترسیب کربن نیز زیاد شد. همچنین از بین اندام هوایی، زیرزمینی و خاک پای گونه درمنه دشتی، مقدار ترسیب کربن خاک در هر سه طبقه ارتفاعی اول، دوم و سوم به ترتیب با ۹/۳۲، ۱۰/۹۳ و ۱۳/۰۸ تن در هکتار بیشتر از اندام هوایی و زیرزمینی بود. (یوسفیان و همکاران، ۱۳۹۳).

(میرحاجی، ۱۳۷۸) طبق تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده چنین استنباط کرد که خاک در استقرار گونه درمنه دشتی نقش اصلی را ایفا می‌کند و عوامل توپوگرافیکی شیب، جهت و ارتفاع از سطح دریا حساسیت بیشتری در این گیاه ایجاد می‌کند، به طوری که تغییرات اندک در این عوامل از پراکنش و استقرار آن جلوگیری می‌نماید. بررسی سیستم ریشه نشان داد که این گیاه دارای یک ریشه راست و عمیق و نیز ریشه‌های سطحی فراوان است که در ۵ سانتی‌متری محل یقه ظاهر می‌شوند، به طوری که علاوه بر رطوبت عمق خاک از رطوبت سطحی آن نیز استفاده می‌کند. عمق تقریبی ریشه ۴۱ سانتی‌متر و طول بلندترین ریشه ۱۲۵ سانتی‌متر می‌باشد. نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی این گیاه ۰/۸۲ است. این نسبت نشان‌دهنده تجمع بخش قابل ملاحظه‌ای از اندام زنده گیاه در خاک می‌باشد که بیانگر نقش مؤثر این گونه مرتعی در افزایش مواد آلی خاک از طریق ریشه می‌باشد.

(بهتری و همکاران، ۲۰۱۲)، اثر ارتفاع و مرحله رشد را بر میزان اسانس گونه دارویی درمنه دشتی در مراتع گرگان از پنج ارتفاع ۱۱۰۰، ۱۲۰۰، ۱۲۸۰ و ۱۳۸۰ متری از سطح دریا در دو مرحله رشد رویشی و گلدهی بررسی کردند. نتایج نشان داد بیشترین میزان اسانس (۰/۸ تا ۰/۹۲ میلی‌لیتر بر گرم) در ارتفاع ۱۲۸۰ متری و به ترتیب در مرحله رشد رویشی و گلدهی مشاهده شد.

(دهقانی بیدگلی، ۲۰۱۲)، بیان کرد که سه ترکیب عمده و مشترک اسانس درمنه دشتی در مراتع اصفهان عبارتند از: α -pinene، α -thujene و camphene می‌باشد. نتایج تحقیق (آریانفر و همکاران، ۱۳۹۷) که بر روی درمنه دشتی در سه سطح ۱۴۰۰، ۱۶۰۰ و ۱۸۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا صورت گرفت نشان داد که اثر ارتفاع از سطح دریا بر روی بازده اسانس، فنول و میزان تانن معنی‌دار بود که با افزایش ارتفاع بر درصد بازده اسانس و فنول درمنه دشتی افزوده و از میزان تانن کل کاسته شد، بیشترین بازده اسانس و فنول در ارتفاع ۱۸۰۰ متری از سطح دریا و بیشترین میزان تانن در ارتفاع ۱۲۰۰ متری از سطح دریا مشاهده گردید.

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس تاثیر کنتورفارو بر تاج پوشش درمنه، درصد پوشش گیاهی کل، یکنواختی و غنای گونه‌ای و رطوبت خاک باعث افزایش پوشش گیاهی شد. افزایش پوشش گیاهی در سایت فارو بدلیل رطوبت ذخیره شده در



فاروها است. رطوبت خاک در اردیبهشت ماه ۷۱ درصد بیشتر از سایت شاهد اندازه گیری شد. رطوبت موجود شرایط مناسب تری برای پوشش گیاهی در داخل فارو به وجود آورد. حداکثر توان اکولوژیک منطقه مورد مطالعه با روش فوق برای توسعه پوشش گیاهی باید در طرح های اجرایی مد نظر قرار گیرد (زارع و همکاران، ۱۴۰۰).

طبق تحقیقی که توسط (لایق حقیقی و همکاران، ۱۳۹۶) در کنار دریاچه حوض السلطان صورت گرفت، نتایج همبستگی صفات نشان داد که قندهای محلول با پرولین و کلر همبستگی مثبت معنی دار ولی با سبزینه کل، سبزینه a و سبزینه b همبستگی منفی معنی دار داشت. درمنه دشتی گیاهی متحمل به شوری کم بوده و با افزایش اسمولیت های تنظیم کننده، نسبت به شوری تحمل نشان داده و عملکرد اندام های هوایی با افزایش شوری به شدت کاهش یافت.

(باقری، ۲۰۰۰)، در تحقیقی که در رابطه با ارتباطات متقابل ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک با گیاه درمنه دشتی انجام داد مشاهده کرد، درصد تاج پوشش این گونه با ویژگی های افق سطحی خاک به ویژه با هدایت الکتریکی (۵۸ درصد) و درصد شن (۳۱ درصد) همبستگی مثبت معنی دار داشت و با درصد سیلت (۰/۳۱-) و ضخامت افق سطحی (۰/۴۱-) همبستگی منفی معنی داری نشان داد. همچنین این گونه با میزان اسیدیته (۲۸ درصد) همبستگی مثبت معنی دار داشت.

(ربیعی و همکاران، ۱۳۸۸) تنوع جمعیتی درمنه دشتی بر اساس صفات کمی برگ و بذر، ۳۴ جمعیت از این گونه واقع در ۱۰ استان کشور را بررسی نمودند. جمعیت های درمنه دشتی بر اساس صفات کمی برگ ها و بذر ها با استفاده از روش تجزیه خوشه ای به پنج گروه تقسیم شدند. تجزیه واریانس این صفات نشان داد که بین آن ها از لحاظ کشش، مساحت، وزن تر، وزن خشک و رطوبت برگ، وزن هزار دانه، طول و عرض و قطر بذر اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد و از نظر خاکستر برگ اختلاف معنی داری در سطح احتمال پنج درصد وجود داشت. همچنین تجزیه واریانس خصوصیات اقلیمی، ارتفاعی و خاکی رویشگاه های *A. sieberi* بر اساس گروه بندی جمعیت ها در دندروگرام حاصل از این صفات نشان داد که بین گروه ها از لحاظ میزان بارندگی سالانه اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد و از نظر متوسط حداکثر دما، حداکثر مطلق دما و کربن آلی اختلاف معنی داری در سطح احتمال پنج درصد وجود دارد. از بین صفات مورد مطالعه وزن خشک، وزن تر، مساحت و رطوبت برگ بیشترین تاثیر پذیری (پلاستیستی) و صفات طول و عرض بذر و ضخامت برگ کمترین تاثیر پذیری را نسبت به تغییرات شرایط رویشگاهی نشان دادند.

در تحقیق دیگری که توسط (ربیعی و همکاران، ۲۰۱۲) بر روی بازده و ترکیب های شیمیایی ۳۴ جمعیت از *A. sieberi* در سه ناحیه اقلیمی نیمه خشک، خشک و فراخشک صورت گرفت، مشخص گردید که بین متوسط بازده اسانس در مزرعه و طبیعت تفاوت معنی داری وجود دارد، بررسی همبستگی بین عوامل محیطی و بازده اسانس نشان داد که از میان کلیه عوامل مورد بررسی، تعداد روزهای بارندگی، نیتروژن، کربن و فسفر خاک از مهم ترین پارامترها در کمیت اسانس بودند. ترکیب های اصلی اسانس مانند camphor، borneol، 1,8-cineole، trans-thujone، camphene و PCA بر اساس ترکیب های شیمیایی بر سه گروه اقلیمی مشخص نمود که ترکیب های camphor، cis-thujone و trans-thujone ترکیب های اصلی تفکیک کننده این گروه های اقلیمی می باشند.



(محبوبی و همکاران، ۲۰۱۵) با بررسی اسانس سیزده نمونه درمنه دشتی که از مناطق مختلف ایران و فرانسه تهیه شده بود یافتند که حضور و تغییرات ترکیب‌های اسانس α -Thujone (۶۲-۰/۱ درصد)، β -thujone (۱۱-۰/۶ درصد)، Camphor (۸/۹-۲/۴۲ درصد) و 1,8-cineole (۴۸-۰/۷ درصد) بیشتر از سایر ترکیب‌ها می‌باشد، همچنین بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های مختلف اسانس، تفاوت معنی‌داری وجود داشته و 1,8-cineole فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به سایر اجزای اصلی نشان داد.

تحقیقات (آذر نیوند و همکاران، ۱۳۸۲) نشان داد که از بین عوامل توپوگرافی، عامل ارتفاع از سطح دریا به دلیل تاثیر در اقلیم منطقه بر پراکنش گونه‌های درمنه نقش دارد، به طوری که تا ارتفاع حدود ۱۸۰۰ متر، درمنه دشتی (*Artemisia sieberi*) و از ۱۸۰۰ متر به بالا گونه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) مشاهده شد. همچنین نتایج تحقیق (عبدی و همکاران، ۱۳۹۲) بر روی تراکم درمنه دشتی در ارتفاعات ۱۰۰ تا ۲۱۶۸ متر از سطح دریا در گنبد نشان داد که گونه درمنه دشتی در ارتفاعات متوسط نسبت به ارتفاعات پائین و بالا دارای تراکم بیشتری بود.

نتایج حاصل از مطالعات *Artemisia sieberi* در رویشگاه‌های طبیعی استان قم توسط (یزدی‌فر و همکاران، ۱۴۰۱) نشان داد که از بین صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه در این تحقیق صفاتی چون وزن خشک اندام هوایی، طول و عرض برگ، کلروفیل (a و b)، میزان فنول و فلاونوئید فاکتورهای تاثیرگذار برای جدا کردن جمعیت‌های *Artemisia sieberi* از یکدیگر بودند که از نظر شرایط اقلیمی از جمله میزان بارندگی سالانه، بیشینه بارندگی در یک روز و میانگین دما شرایط یکسانی را داشتند. از طرفی بین وزن خشک اندام هوایی و قطر تاج پوش ارتباط معنی‌دار مثبت وجود داشت. همچنین ارتباط بین صفات مورفوفیزیولوژیکی و متغیرهای آب و هوایی و خاک نیز مورد بررسی قرار گرفت که بر اساس نتایج به دست آمده، ارتفاع از سطح دریا دارای همبستگی معنی‌دار منفی با میزان پرولین، قندهای محلول و همبستگی معنی‌دار مثبت با مقادیر اسانس فلاونوئید و فنل بود. پرولین، قندهای محلول، فنول و فلاونوئیدها دارای ارتباط معنادار با صفات اکولوژیکی دمایی و میزان بارندگی در هر منطقه می‌باشند و ارتفاع گیاه با میزان pH در هر منطقه ارتباط معکوس دارد و همچنین کلروفیل‌ها، پرولین، قندهای محلول، فنول و فلاونوئید دارای ارتباط معنادار با میزان pH خاک هستند. در نتیجه در مناطق شور گیاه برای مقابله با شوری میزان پرولین را افزایش داده که در نتیجه میزان اسانس کاهش یافته و همچنین طول و عرض برگ در گیاهان کاهش می‌یابد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

بررسی‌ها نشان داد که هر چند این گیاه، سازگاری زیادی در اقلیم‌های گرم و خشک و همچنین شرایط سخت دارد و چرخه زندگی خود را حفظ می‌نماید ولی با افزایش ارتفاع از سطح دریا و در صورت شرایط اقلیمی مناسب، رشد و نمو خوبی داشته و مقادیر پارامترهای مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی آن از قبیل وزن خشک اندام هوایی، ارتفاع گیاه، طول و عرض برگ، وزن خشک و خاکستر برگ، کلروفیل، فنول و فلاونوئید، قطر بزرگ و کوچک تاج پوش، تعداد شاخه گل دهنده، اسانس افزایش یافته از طرفی در شرایط تنش و اقلیم گرم و خشک، مقادیر پرولین و قندهای محلول افزایش می‌یابد و همچنین شوری، عاملی محدود کننده و اثرگذار بر روی رشد و حتی پراکنش این گیاه می‌باشد. با بررسی و شناخت عادات رشدی و تاثیر



رویشگاه‌ها بر گیاهان می‌توان در تحقیقات آتی در خصوص اهلی سازی، مقدار اسانس و نوع ترکیبات آن، ارزش غذایی جهت چرای دام، حفاظت از مراتع و بسیاری از موارد دیگر بصورت هدفمندتر اقدام نمود.

منابع

- آذرینوند، ح.، جعفری، م.، مقدم، م.، جلیلی، ا. و زارع چاهوکی، م. ع. ۱۳۸۲. بررسی اثرات خصوصیات خاک و ارتفاع در تخریب دو گونه درمنه (مطالعه موردی: وردآورد گرمسار و مراتع سمنان)، مجله منابع طبیعی. ۵۶: ۱-۲۰.
- آریانفر، م.، اکبری نودهی، د.، همتی، خ. و رستم‌پور، م. ۱۳۹۷. اثر ارتفاع و جهت بر بازده اسانس و برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گونه‌های دارویی *Artemisia aucheri* Boiss. و *Artemisia sieberi* Besser. در مراتع خراسان جنوبی. نشریه علمی پژوهشی مرتع، سال دوازدهم، شماره سوم، پائیز. ۲۸۱-۲۹۴.
- جلیلی، ع. و جمزاد، ز. ۱۳۹۹. تنوع گیاهی ایران، ظرفیت‌ها و تهدیدها. طبیعت ایران، ۵(۳): ۳-۴.
- ریعی، م.، جلیلی، ع.، عصری، ی. و حمزه‌ای، ب. ۱۳۸۸. تنوع جمعیتی درمنه دشتی در ایران براساس صفات کمی برگ و بذر و ارتباط آن‌ها با شرایط رویشگاهی. رستنی‌ها. جلد ۱۰(۱): ۵۱-۶۷.
- ریعی، م.، عصری، ی.، حمزه، ب. و جلیلی، ع. ۱۳۸۸. فلور رویشگاه‌های *Artemisia sieberi* در ایران. زمستان ۱۳۸۸، زیست شناسی ایران. دوره ۲۲، شماره ۴، ۶۴۵-۶۶۰.
- سفیدکن، ف. ۱۴۰۰. استخراج و شناسایی مواد موثره گیاهان دارویی و معطر ایران، نشریه طبیعت ایران، ۶(۳): ۷-۳۵.
- محراییان، ا.، عبدلی، ا.، مصطفوی، ح.، سلمان ماهینی، ع.، احمدزاده، ف. و ابراهیمی، م. ۱۳۸۶. سیمای پوششی رویشگاه‌های گیاهی استان قم. علوم محیطی. ۵(۱): ۸۱-۹۶.
- مظفریان، و. ۱۳۹۶. شناخت گیاهان دارویی و معطر ایران. فرهنگ معاصر. چاپ سوم. ۲۰۵-۲۰۶.
- میرجلیلی، ع. ب.، زارعی، ص. و جعفریان جلودار، ز. ۱۴۰۰. اثرات توپوگرافی بر تنوع و غنای گونه‌ای مراتع ییابانی و خشک (مطالعه موردی: مراتع تنگ الیبد یزد). سال اول، شماره اول، ۲۶-۳۶.
- میرحاجی، س. ت. ۱۳۷۸. مقایسه اکولوژیک گونه‌های جنس *Artemisia* در استان سمنان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس. ۱۴۷ ص.
- یزدی فر، شهرام، نقدی بادی، حسنعلی، مهرآفرین، علی، کلاته جاری، سپیده، و دانائی، الهام. ۱۴۰۱. ارزیابی تنوع اکومورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی *Artemisia sieberi* Besser. در رویشگاه‌های مختلف استان قم، اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۰(۱): ۲۷-۴۶.
- یزدی‌فر، ش.، نقدی بادی ح.، مهرآفرین، ع.، کلاته جاری، س. و دانایی، ا. ۱۴۰۳. بررسی تأثیر عصاره درمنه دشتی (*Artemisia sieberi* Besser) رویشگاه‌های مختلف منطقه قم بر کیفیت و ماندگاری پنیر سفید ایرانی. مجله علوم و صنایع غذایی ایران. ۲۱ (۱۴۶): ۱۷۹-۱۶۹.
- یوسفیان، م.، تمرناش، ر. و طاطیان، م. ر. ۱۳۹۳. بررسی اثر ارتفاع بر میزان ترسیب کربن گونه درمنه دشتی (*Artemisia sieberi* Besser) در مراتع کوهستانی کیاسر استان مازندران. علوم و مهندسی محیط زیست. ۱(۴): ۱-۱۰.



- Arianfar, M., Akbari Nodehi, D., Khodayar, H. and Rostampour, M. (2018). Effect of height and aspect on essential oil yield and some phytochemical properties of medicinal plants. *Artemisia aucheri* Bois. and *Artemisia sieberi* Besser. in South Khorasan rangelands. *Journal of Rangeland*, 11(3): 281-294.
- Azarnivand, H. and Zare-chahoki, M.A. (2011). *Rangeland ecology*. Tehran University Press, Iran, 345 p.
- Azarnivand, H., Ghasemi Arian, Y., Yari, R., Zare-Chahouki, M.A. and Jahantab, E. (2012). Investigation of allelopathic activity of mountain sagebrush (*Artemisia aucheri*) on seed germination and seedling features of *Festuca ovina* in green house condition, *Iranian Journal of Natural Research*, 19(2): 297-305.
- Bagheri, H. (2000). Investigation physicochemical traits of soil to found the plant represents the Mehrzamin in Qom. M.Sc. thesis. Tehran University, 60 p.
- Behtari, B., F. Gholami., A.K. Khalid., G.D. Tilaki and Bahari, R. (2012). Effect of growth stages and altitude on *Artemisia herba-alba* Asso essential oil growing in Iran. *J. Essent. Oil Bear. Plants*, 15: 307-313.
- Dehghani Bidgoli, R. (2012). Comparison of the effect of some ecological and grazing parameters on the quantity and quality of essential oils of *Artemisia sieberi* and *Artemisia aucheri* species in steppe and semi steppe rangelands of Isfahan province. Ph.D. Thesis of Range Management, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
- Ghasemi Arian, A., Fazeli Kakhki, S.F. and Rohani, H. (2019). Investigation of some ecological characteristics of *Artemisia sieberi* Besser. and estimation of its density by neural networks in Roodab section of Sabzevar. *Ecophytochemical Journal of Medicinal Plants*, 7(4): 97-109.
- Ghasemi Arian, A., Fazeli Kakhki, S.F. and Rohani, H. (2019). Investigation of some ecological characteristics of *Artemisia sieberi* Besser. and estimation of its density by neural networks in Roodab section of Sabzevar. *Ecophytochemical Journal of Medicinal Plants*, 7(4): 97-109.
- Guerriero, G., Berni, R., Muñoz-Sanchez, J.A., Apone, F., Abdel-Salam, E. M., Qahtan, A. A., Alatar, A. A., Cantini, C., Cai, G., Hausman, J. F., Siddiqui, K. S., Hernández-Sotomayor, S. M. T. and Faisal, M. (2018). Production of Plant Secondary Metabolites: Examples, Tips and Suggestions for Biotechnologists. *Genes (Basel)*, 9(6):309.
- Khadivi-khub, A., Salehi-Arjmand, H., and Hadian, J. 2014. Morphological and phytochemical variation of *Satureja bachtiarica* populations from Iran. *Industrial Crops and Products*, 54: 257-265.
- Mahboubi, M. Valian, M. and Kazempour, N. (2015). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of *Artemisia sieberi* oils from different parts of Iran and France, *Journal of Essential Oil Research*, 27(2): 140-147.
- Mahmoud Dif, M. and Fatima zohra, D. (2023). Antimicrobial Properties and Physical Characteristics of Essential Oil Extracted from *Artemisia herba alba* Collected in El Bayadh, Algeria. *bioRxiv*, 150-165.
- Naghavi, M.R., Aryakia, E., Hadi, S., Ghafoori, H., Mousavi, H. and Ramazani, H. (2019). Characterization of Morphological, Phytochemical and Molecular Diversity of *Artemisia annua* Accessions in Hyrcanian Area of Iran. *Agricultural Science and Technology*, 21(5): 1265-1276.
- Nigam, M., Atanassova, M., Mishra, A.P., Pezzani, R., Devkota, H.P., Plygun, S., Salehi, B., Setzer, W.N. and Sharifi-Rad, J. (2019). Bioactive Compounds and Health Benefits of *Artemisia* Species. *Natural Product Communications*, 1-7.
- Rabiei, M. Asri, Y. Hamzehee, B. Jalili, A. and Sefidkon, F. (2012). Determination of chemotaxonomic indices of *artemisia sieberi* Besser. Based on environmental parameters in Iran. *The Iranian Journal of Botany*, 18 (1): 149-157.
- Yazdi Far, S., Naghdi Badi, H., Mehrafarin, A. Kalateh Jari, S., and Danaee, E. (2024). Chemical composition diversity in wild populations of *Artemisia sieberi* Besser. under the same climate conditions. *Genetic Resource Crop Evolution*, 1-25.
- Yazdi Far, Sh., Moradi, P. and Yousefi Rad, M. (2015). Effect of foliar application of methanol and chelated zinc on the quantities and qualities yield of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*. 170-176.
- Youssefi, M.R. Abouhosseini Tabari, M. and Moghadamnia, A. A. (2017). In vitro and in vivo activity of *Artemisia sieberi* against *Trichomonas gallinae*. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 18(58): 25-29.

مکانیسم اثر و نقش شاخص‌های مقاومت به تنش در گیاهان دارویی و تولید اسانس

سودابه نورزاد^{۱*}، شهرام یزدی‌فر^۲، زهرا رحیمی آسیابری^۳

^{۱*} گروه کشاورزی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران. (Soudabeh.nourzad@srbiau.ac.ir)

^۲ گروه تولیدات گلخانه، دانشگاه قم، قم، ایران.

^۳ گروه گیاه پزشکی، مرکز علمی کاربردی بهار آوران نسترن، قم، ایران.

^۴ گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران.

چکیده

گیاهان دارویی به دلیل تولید متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس‌ها، در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی-بهداشتی اهمیت زیادی دارند. با این حال، تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری و دمای بالا می‌توانند بر رشد و تولید این ترکیبات تأثیر منفی بگذارند. مقاومت به تنش در گیاهان دارویی از طریق شاخص‌هایی مانند شاخص تحمل (TOL)، میانگین بهره‌وری (MP)، شاخص تحمل به استرس (STI)، میانگین هندسی بهره‌وری (GMP) و میانگین هارمونیک (Harm) ارزیابی می‌شود. این شاخص‌ها به شناسایی گیاهان مقاوم و بهینه‌سازی تولید اسانس کمک می‌کنند. تنش‌های محیطی می‌توانند به عنوان محرک‌های القایی برای افزایش تولید اسانس عمل کنند، اما شدت تنش باید کنترل شود تا از کاهش رشد گیاه جلوگیری شود. مکانیسم‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی مانند تنظیم اسمزی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بیان ژن‌های مرتبط با سنتز متابولیت‌های ثانویه، مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌ها افزایش می‌دهند. شاخص‌هایی مانند TOL و STI عملکرد گیاهان را در شرایط تنش و بهینه مقایسه کرده و به انتخاب گیاهان مقاوم کمک می‌کنند. استفاده از فناوری‌های نوین مانند مهندسی ژنتیک و کشت بافت می‌تواند مقاومت به تنش و تولید اسانس را بهبود بخشد. تحقیقات آینده باید بر شناسایی ژن‌ها و مسیرهای بیوسنتزی مرتبط با تولید اسانس تحت تنش متمرکز شود.

واژگان کلیدی: اسانس، شاخص تحمل، گیاهان دارویی، متابولیت ثانویه، مکانیسم مقاومت.



۱. مقدمه

گیاهان دارویی به دلیل تولید متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس‌ها، از اهمیت بالایی در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی-بهداشتی برخوردار هستند (یزدی‌فر و همکاران، ۱۴۰۱). با این حال، این گیاهان اغلب در معرض تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری، دمای بالا و آلودگی‌های خاک قرار می‌گیرند که می‌تواند بر رشد و تولید متابولیت‌های آن‌ها تأثیر منفی بگذارد (Azizi et al., 2021). مقاومت به تنش در گیاهان دارویی از طریق شاخص‌های مختلفی مانند شاخص تحمل (TOL)، میانگین بهره‌وری (MP)، شاخص تحمل به استرس (STI)، میانگین هندسی بهره‌وری (GMP) و میانگین هارمونیک (Harm) ارزیابی می‌شود (نورزاد و همکاران، ۱۴۰۳). این شاخص‌ها به محققان کمک می‌کنند تا گیاهان مقاوم به تنش را شناسایی کرده و تولید اسانس را بهینه‌سازی کنند.

از طرفی مقاومت به تنش در گیاهان دارویی از طریق مکانیسم‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی تنظیم می‌شود که شناخت این شاخص‌ها می‌تواند به بهبود تولید اسانس و سایر ترکیبات مفید کمک کند.

۲. مواد و روش‌ها

در این مطالعه مروری، با هدف بررسی مکانیسم اثر و نقش شاخص‌های مقاومت به تنش در گیاهان دارویی و تولید اسانس، مطالعات مروری و مقالات پژوهشی مرتبط مورد بررسی قرار گرفتند. جستجوی مقالات در پایگاه‌های اطلاعاتی معتبر از جمله Google Scholar، PubMed، ScienceDirect، Scopus و پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID) انجام شد. برای جستجو، از ترکیبی از کلیدواژه‌های فارسی و انگلیسی نظیر "اسانس"، "تنش"، "گیاهان دارویی"، "medicinal plants"، "stress" و "Stress Tolerance Index" استفاده شد.

۳. نتایج

۳-۱. تأثیر تنش‌های محیطی بر تولید اسانس

تنش‌های محیطی می‌توانند به عنوان محرک‌های القایی برای افزایش تولید اسانس در گیاهان دارویی عمل کنند (نورزاد و همکاران، ۱۳۹۴). تنش خشکی در گیاهان خانواده نعنائیان (Lamiaceae) مانند مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) و رزماری (*Rosmarinus officinalis*) باعث افزایش تولید ترکیبات فنلی و ترپنوئیدی می‌شود که نقش مهمی در کیفیت اسانس دارند (Selmar and Kleinwächter, 2013). با این حال، شدت تنش باید به دقت کنترل شود، زیرا تنش‌های شدید می‌توانند به کاهش رشد گیاه و تولید متابولیت‌های ثانویه منجر شوند.

کنترل شدت تنش در گیاهان به دلیل تأثیر مستقیم آن بر مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، از اهمیت بالایی برخوردار است. تنش‌های شدید باعث اختلال در فرآیندهای رشد، کاهش فتوسنتز و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شوند که به سلول‌های گیاهی آسیب می‌رسانند. شاخص‌های مقاومت به تنش مانند شاخص تحمل (TOL)، میانگین بهره‌وری (MP) و شاخص تحمل به استرس (STI) ابزارهایی برای سنجش پاسخ گیاهان به این شرایط هستند. STI گیاهانی را شناسایی



می‌کند که در شرایط تنش و بدون تنش عملکرد بالایی دارند، در حالی که TOL تفاوت عملکرد را در این دو شرایط اندازه‌گیری می‌کند.

گیاهانی که شاخص‌های مقاومت بالاتری دارند، معمولاً مکانیسم‌های تطبیقی مانند تنظیم اسمزی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع متابولیت‌های ثانویه را فعال می‌کنند. این مکانیسم‌ها به گیاه کمک می‌کنند تا با تنش‌های محیطی مقابله کرده و از کاهش رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه جلوگیری کنند. بنابراین، استفاده از این شاخص‌ها در برنامه‌های اصلاح نباتات و مدیریت تنش، به بهبود مقاومت گیاهان و افزایش بهره‌وری کشاورزی کمک می‌کند.

۳-۱-۱. شاخص تحمل (TOL)^۱

شاخص تحمل، یکی از معیارهای مهم برای ارزیابی مقاومت گیاهان به تنش است. این شاخص تفاوت بین عملکرد گیاه در شرایط تنش و شرایط بهینه را نشان می‌دهد. هرچه مقدار TOL کمتر باشد، گیاه مقاومت بیشتری به تنش نشان می‌دهد. در گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)، شاخص TOL تحت تنش خشکی به طور معنی‌داری کاهش یافت، که نشان‌دهنده مقاومت بالای این گیاه به شرایط کم‌آبی است (Ghorbanpour et al., 2020). این گیاه با کاهش نرخ فتوسنتز و تعلق، آب را در بافت‌های خود حفظ کرده و تولید اسانس را افزایش می‌دهد. مطالعات نشان داده‌اند که گیاهان با TOL پایین‌تر، معمولاً تولید اسانس بالاتری در شرایط تنش دارند (Bistgani et al., 2019).

۳-۱-۲. میانگین بهره‌وری (MP)^۲

میانگین بهره‌وری (MP) به عنوان میانگین عملکرد گیاه در شرایط تنش و شرایط بهینه تعریف می‌شود. این شاخص برای شناسایی گیاهانی که در هر دو شرایط عملکرد مناسبی دارند، استفاده می‌شود. در گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*)، MP تحت تنش شوری به طور معنی‌داری کاهش یافت، اما برخی ژنوتیپ‌ها توانستند عملکرد مناسبی در هر دو شرایط نشان دهند (Bistgani et al., 2019). این ژنوتیپ‌ها با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT)، به مقابله با تنش شوری پرداخته و تولید اسانس را حفظ کردند. MP به عنوان یک شاخص مفید برای انتخاب گیاهان مقاوم به تنش و با عملکرد بالا در نظر گرفته می‌شود.

۳-۱-۳. شاخص تحمل به استرس (STI)^۳

شاخص تحمل به استرس (STI) یکی از معیارهای جامع برای ارزیابی مقاومت گیاهان به تنش است. این شاخص هم عملکرد گیاه در شرایط تنش و هم در شرایط بهینه را در نظر می‌گیرد. گیاهانی که STI بالاتری دارند، معمولاً در شرایط تنش عملکرد بهتری نشان می‌دهند. در گیاه اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*)، STI تحت تنش خشکی به طور معنی‌داری

¹ Tolerance Index

² Mean Productivity

³ Stress Tolerance Index



افزایش یافت، که نشان دهنده مقاومت بالای این گیاه به کم آبی است (Lange and Ahkami, 2013). این گیاه با افزایش بیان ژن های مرتبط با سنتز مونوترپن ها، تولید اسانس را در شرایط تنش افزایش می دهد. STI به عنوان یک شاخص کلیدی برای انتخاب گیاهان مقاوم به تنش و با پتانسیل تولید اسانس بالا استفاده می شود.

۳-۱-۴. میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)^۱

میانگین هندسی بهره‌وری (GMP) به عنوان ریشه دوم حاصلضرب عملکرد گیاه در شرایط تنش و شرایط بهینه تعریف می شود. این شاخص برای شناسایی گیاهانی که در هر دو شرایط عملکرد مناسبی دارند، استفاده می شود. در گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*)، GMP تحت تنش خشکی به طور معنی داری کاهش یافت، اما برخی ژنوتیپ ها توانستند عملکرد مناسبی در هر دو شرایط نشان دهند (Selmar and Kleinwächter, 2013). این ژنوتیپ ها با افزایش تولید ترکیبات فنلی و ترپنوئیدی، به مقابله با تنش خشکی پرداخته و تولید اسانس را حفظ کردند. GMP به عنوان یک شاخص مفید برای انتخاب گیاهان مقاوم به تنش و با عملکرد بالا در نظر گرفته می شود.

۳-۱-۵. میانگین هارمونیک (Harm)^۲

میانگین هارمونیک (Harm) به عنوان معکوس میانگین معکوس عملکرد گیاه در شرایط تنش و شرایط بهینه تعریف می شود. این شاخص برای شناسایی گیاهانی که در هر دو شرایط عملکرد مناسبی دارند، استفاده می شود. در گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*)، Harm تحت تنش شوری به طور معنی داری کاهش یافت، اما برخی ژنوتیپ ها توانستند عملکرد مناسبی در هر دو شرایط نشان دهند (Bistgani et al., 2019). این ژنوتیپ ها با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و تولید ترکیبات فنلی، به مقابله با تنش شوری پرداخته و تولید اسانس را حفظ کردند. Harm به عنوان یک شاخص مفید برای انتخاب گیاهان مقاوم به تنش و با عملکرد بالا در نظر گرفته می شود.

۳-۲. شاخص های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش

شاخص های فیزیولوژیکی مانند نرخ فتوسنتز، تعرق و محتوای نسبی آب برگ (RWC) از جمله معیارهای مهم برای ارزیابی مقاومت گیاهان به تنش هستند. تحت شرایط تنش خشکی، کاهش نرخ فتوسنتز و تعرق به عنوان مکانیسم های تطبیقی برای حفظ آب در گیاهان عمل می کنند (Farooq et al., 2019). در گیاهان دارویی مانند نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)، کاهش نرخ فتوسنتز تحت تنش خشکی با افزایش تولید اسانس همراه بوده است که نشان دهنده ارتباط بین مقاومت به تنش و تولید متابولیت های ثانویه است (Ghorbanpour et al., 2020).

¹ Geometric Mean Productivity

² Harmonic Mean



۳-۳. شاخص‌های بیوشیمیایی مقاومت به تنش

تنش‌های محیطی باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در گیاهان می‌شوند که می‌توانند به سلول‌ها آسیب برسانند. گیاهان دارویی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD) به مقابله با این آسیب‌ها می‌پردازند (Hasanuzzaman et al., 2020). در گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*)، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تنش شوری با افزایش تولید اسانس همراه بوده است (Bistgani et al., 2019).

۳-۴. شاخص‌های مولکولی مقاومت به تنش

در سطح مولکولی، بیان ژن‌های مرتبط با سنتز متابولیت‌های ثانویه و پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) نقش کلیدی در مقاومت به تنش ایفا می‌کنند. تنش‌های محیطی می‌توانند بیان ژن‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتزی اسانس‌ها را افزایش دهند (Dudareva et al., 2016). در گیاه اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*)، تنش خشکی باعث افزایش بیان ژن‌های مرتبط با سنتز مونوترپن‌ها شده است که منجر به افزایش تولید اسانس می‌شود (Lange and Ahkami, 2013).

۳-۵. ارتباط شاخص‌های مقاومت تنش با شاخص‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی

شاخص‌های مقاومت به تنش مانند شاخص تحمل (TOL)، میانگین بهره‌وری (MP)، شاخص تحمل به استرس (STI)، میانگین هندسی بهره‌وری (GMP) و میانگین هارمونیک (Harm) ارتباط تنگاتنگی با شاخص‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی مقاومت به تنش در گیاهان دارویی دارند. این شاخص‌ها به طور مستقیم یا غیرمستقیم بر فرآیندهای مختلف مانند فتوسنتز، تعرق، محتوای نسبی آب برگ (RWC)، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تجمع ترکیبات محافظتی مانند پرولین، فنل‌ها و ترپنوئیدها و همچنین تنظیم مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس‌ها تأثیر می‌گذارند. این شاخص‌ها همچنین به طور مستقیم بر بیان ژن‌های مرتبط با پاسخ به تنش، تنظیم مسیرهای سیگنالینگ و فعالیت پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) تأثیر می‌گذارند.

شاخص تحمل (TOL) با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با سنتز و تجمع پرولین، گلوکاتیون و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) در گیاهان دارویی به گیاه کمک می‌کند تا با تنش‌های اکسیداتیو ناشی از شرایط خشکی مقابله کرده و تولید اسانس را افزایش دهند (Ghorbanpour et al., 2020). میانگین بهره‌وری (MP) با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با سنتز ترکیبات فنلی و ترپنوئیدی به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی عمل کرده و از آسیب‌های ناشی از تنش شوری جلوگیری می‌کنند (Bistgani et al., 2019).



شاخص تحمل به استرس (STI)، با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با مسیرهای بیوسنتزی اسانس‌ها همراه است. این افزایش بیان ژن‌ها منجر به تولید بیشتر ترکیبات مونوترپن‌ها و سسکویی‌ترپن‌ها در شرایط تنش خشکی می‌شود (Lange and Ahkami, 2013).

میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)، با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با سنتز ترکیبات فنلی و ترپنوئیدی به گیاه کمک می‌کند تا با تنش خشکی مقابله کرده و تولید اسانس را حفظ کنند (Selmar and Kleinwächter, 2013). میانگین هارمونیک (Harm)، با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با سنتز ترکیبات محافظتی مانند پرولین و گلوکاتایون به گیاه کمک می‌کند تا با تنش مقابله کرده و تولید اسانس را حفظ کنند (Bistgani et al., 2019).

۳-۶. مطالعات پیشین

در بررسی اثرات تنش خشکی و کاربرد کیتوزان بر شاخص‌های مقاومت به تنش مانند TOL، MP و STI در گیاه آویشن (*Thymus daenensis*) نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش عملکرد گیاه می‌شود، اما کاربرد کیتوزان می‌تواند با بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش تولید اسانس، مقاومت گیاه را افزایش دهد (Bistgani et al., 2019). مطالعه‌ای به بررسی نقش باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بر شاخص‌های مقاومت به تنش مانند TOL و MP در گیاه بنگدانه (*Hyoscyamus niger*) تحت تنش کم‌آبی پرداخت. نتایج نشان داد که PGPR با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تولید متابولیت‌های ثانویه، مقاومت گیاه را بهبود می‌بخشد (Ghorbanpour et al., 2020).

در مقاله مروری به بررسی مسیرهای بیوسنتزی ترپنوئیدها و ارتباط آن‌ها با شاخص‌های مقاومت به تنش مانند STI و GMP در گیاهان دارویی پرداخته شد. نویسندگان به این نتیجه رسیده‌اند که مهندسی متابولیک می‌تواند به بهبود مقاومت گیاهان به تنش و افزایش تولید اسانس کمک کند (Lange and Ahkami, 2013).

در تحقیقی تأثیر تنش‌های محیطی بر تولید متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس‌ها و ارتباط آن با شاخص‌های مقاومت به تنش مانند Harm و GMP بررسی شد. تنش‌های محیطی به عنوان محرک‌های القایی برای افزایش تولید اسانس معرفی شدند (Selmar and Kleinwächter, 2013).

در یک بررسی مروری که به بررسی اثرات تنش خشکی بر گیاهان دارویی و ارتباط آن با شاخص‌های مقاومت به تنش مانند TOL، MP و STI پرداخته شد، تنش خشکی با تغییر در بیان ژن‌های مرتبط با سنتز متابولیت‌های ثانویه، تولید اسانس را تحت تأثیر قرار داد (Azizi et al., 2021).

تنش خشکی می‌تواند با تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بیان ژن‌های مرتبط با سنتز متابولیت‌های ثانویه، تولید اسانس را تحت تأثیر قرار داد (Farooq et al., 2019). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مقاومت گیاهان به تنش را بهبود بخشد (Hasanuzzaman et al., 2020). بیان ژن‌های مرتبط با سنتز متابولیت‌های ثانویه می‌تواند مقاومت گیاهان به تنش را افزایش دهد (Khan et al., 2021; Yazdi far at al., 2024).

در تحقیقی که به بررسی تأثیر تنش‌های محیطی قبل از برداشت بر تجمع ترکیبات زیست‌فعال در محصولات باغی و گیاهان دارویی پرداخته است. نتایج نشان می‌دهد که تنش‌هایی مانند خشکی و شوری می‌توانند با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بیان ژن‌های مرتبط با سنتز متابولیت‌های ثانویه، تولید ترکیبات زیست‌فعال را افزایش دهند (Toscano et al., 2019).

در بررسی مکانیسم‌های مولکولی مقاومت به تنش در گیاهان و ارتباط آن با شاخص‌های مقاومت به تنش مانند Harm و GMP پرداخته است. نویسندگان به این نتیجه رسیده‌اند که بیان ژن‌های مرتبط با سنتز متابولیت‌های ثانویه می‌تواند مقاومت گیاهان به تنش را افزایش دهد (Ghasemi Pirbalouti et al., 2014).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

شناخت شاخص‌های مقاومت به تنش در گیاهان دارویی می‌تواند به توسعه روش‌های بهینه برای افزایش تولید اسانس و سایر متابولیت‌های ثانویه کمک کند. استفاده از شاخص‌هایی مانند STI، MP، TOL، GMP و Harm و فناوری‌های نوین مانند مهندسی ژنتیک و کشت بافت می‌تواند در بهبود مقاومت به تنش و افزایش تولید اسانس مؤثر باشد (Khan et al., 2021). همچنین، تحقیقات آینده باید بر روی شناسایی ژن‌ها و مسیرهای بیوسنتزی مرتبط با تولید اسانس تحت شرایط تنش متمرکز شود.

منابع

- نورزاد، س.، احمدیان، ا. و مقدم، م. ۱۳۹۴. بررسی میزان پرولین، کلروفیل کل، کربوهیدرات و مقدار جذب عناصر معدنی در گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) تحت تأثیر تنش خشکی و تیمار کودی. مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۳(۱): ۱۳۹-۱۳۱.
- نورزاد، س.، و خالدیان، ن. (۱۴۰۳). ارزیابی شاخص‌های تنش در گیاه زیتنی گازانیا (*Gazania rigens*) با کاربرد سوپرجاذب ژئولیت تحت شرایط تنش خشکی. ششمین کنگره ملی و بین‌المللی گل و گیاهان زینتی. ۳۰ تا ۳۱ مرداد ۱۴۰۳. دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی.
- یزدی فر، ش.، نقدی بادی، ح.، مهرآفرین، ع.، کلاته جاری، س.، دانائی، ا. (۱۴۰۱). ارزیابی تنوع اکومورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی *Artemisia sieberi* Besser. در رویشگاه‌های مختلف استان قم. اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۰(۱): ۲۷-۴۶.
- Azizi, A., Yan, F., and Honermeier, B. (2021). Medicinal plants under drought stress: A review. *Journal of Plant Physiology*, 258-259: 153-162.
- Bistgani, Z. E., Siadat, S. A., Bakhshandeh, A., Pirbalouti, A.G., and Hashemi, M. (2019). Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological traits and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *Industrial Crops and Products*, 125: 581-588.
- Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., and Siddique, K.H.M. (2019). Drought stress in plants: An overview. In *Plant Responses to Drought Stress*, (pp. 1-33). Springer.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Sajjadi, S.E., and Parang, K. (2014). A review (research and patents) on jasmonic acid and its derivatives. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47(17): 2159-2175.



- Ghorbanpour, M., Hatami, M., and Khavazi, K. (2020). Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid production of *Hyoscyamus niger* under water deficit stress. *Turkish Journal of Biology*, 44(1): 58-69.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M.H.M.B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S.M., Mahmud, J.A., ... and Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8): 681.
- Khan, A.L., Asaf, S., Lee, I.J., and Al-Harrasi, A. (2021). Insights into the molecular mechanisms of stress tolerance in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(2): 567-580.
- Lange, B.M., and Ahkami, A. (2013). Metabolic engineering of plant monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes—current status and future opportunities. *Plant Biotechnology Journal*, 11(2): 169-196.
- Selmar, D., and Kleinwächter, M. (2013). Stress enhances the synthesis of secondary plant products: The impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products. *Plant and Cell Physiology*, 54(6): 817-826.
- Toscano, S., Trivellini, A., Cocetta, G., Bulgari, R., Francini, A., Romano, D., and Ferrante, A. (2019). Effect of preharvest abiotic stresses on the accumulation of bioactive compounds in horticultural produce. *Frontiers in Plant Science*, 10: 1212.
- Yazdi Far, S., Naghdi Badi, H., Mehrafarin, A. Kalateh Jari, S., and Danaee, E. (2024). Chemical composition diversity in wild populations of *Artemisia sieberi* Besser. under the same climate conditions. *Genetic Resource Crop Evolution*, 1-25.



تأثیر اسیدسالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.) تحت تنش شوری

حسین توکلی نکو^{۱*}، سارا سعادتمند^۲، فرزانه توکلی شاتوری^۳

^۱بخش تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان قم، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی،

قم، ایران. (h.tavakoliNeko@areeo.ac.ir)

^۲گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۳گروه جنگلداری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.) یکی از گونه‌های رایج در توسعه فضای سبز شهری و برون شهری در بسیاری از مناطق ایران می‌باشد. این تحقیق به منظور ارزیابی اثر اسیدسالیسیلیک بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی دانه‌های زیتون تلخ در شرایط تنش شوری به صورت گلخانه‌ای اجرا شد. نهال‌های دو ساله‌ی زیتون تلخ در گلدان‌های حاوی مخلوط یکنواختی از خاک با بافت رس - ماسه‌ای تحت تأثیر تنش شوری شامل غلظت‌های مختلف کلرید سدیم در چهار سطح بدون شوری (شاهد)، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی‌مولار و تیمار اسید سالیسیلیک شامل غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند. نتایج تحقیق نشان داد اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای شوری و همچنین بین تیمارهای اسید سالیسیلیک وجود داشت، هرچند بین اثر متقابل تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن نشان داد غلظت پتاسیم، محتوی نسبی آب برگ و میزان کلروفیل برگ به‌تنهایی یا همراه با تیمار ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم در بالاترین گروه و در تیمار ۲۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم در پایین‌ترین گروه قرار گرفتند. در مقابل نشت یونی، میزان کاروتنوئید برگ، غلظت سدیم و میزان قندهای محلول، در شاهد در پایین‌ترین گروه قرار گرفت، درحالی‌که تیمار ۲۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم در بالاترین گروه قرار گرفت. نتایج همبستگی صفات نشان داد بین غلظت پتاسیم، محتوی نسبی آب برگ، کلروفیل‌ها و مقدار پرولین همبستگی مثبت و بین این صفات با تجمع سدیم، میزان کاروتنوئیدها و قندهای محلول همبستگی منفی وجود داشت. نتایج کلی تحقیق نشان داد تأثیر تیمار اسید سالیسیلیک بر کاهش تنش شوری، به‌ویژه در غلظت‌های پایین‌تر نمک مؤثر بود.

واژگان کلیدی: اسید سالیسیلیک، تنش شوری، زیتون تلخ، صفات فیزیولوژیک.



۱. مقدمه

زیتون تلخ با نام علمی (*Melia azedarach* L.) از خانواده Meliaceae (سنجد تلخ) نام یک سرده از تیره زیتون تلخیان است و از راسته افراسانان (Sapindales) که بومی نواحی هیمالیا می باشد. زیتون تلخ در نواحی شمال ایران و جنگل های ساحلی دریای خزر از لاهیجان و رامسر تا میاندرد گرگان به صورت طبیعی انتشار دارد (مظفریان، ۱۳۸۹). زیتون تلخ از جمله گیاهانی است که به واسطه شرایط خاص رویشگاهی و رشد و توسعه در مناطق گرم و نامساعد در حفظ و نگهداری محیط زیست در این مناطق نقش به سزایی دارد. توجه بیشتر به این گونه از گیاهان علاوه بر رونق و توسعه اقتصاد روستایی، با کاهش تخریب و در نتیجه پایداری محیط زیست در مناطق نیمه خشک کشور همراه است.

از آنجا که بیشتر از ۱۵ درصد اراضی کشور دارای خاک شور هستند و هر ساله نیز به آن اضافه می گردد، نیاز به کشت بیشتر این گونه در عرصه منابع طبیعی کشور در آنجایی که خاک های نیمه شور قرار دارند، امری ضروری است. ارزیابی راهکارهای مناسب جهت افزایش مقاومت این گیاه به شوری و در نتیجه خشکی بیشتر و اختصاص دادن اراضی بیشتری به کشت این گیاه ارزشمند، پایه ریز طرح مسأله در این تحقیق می باشد. شوری از اثر گذارترین عوامل محدود کننده محیطی برای تولیدات گیاهی است و به همین دلیل عملکرد گیاهان، تحت تأثیر نمک کاهش یافته و در بسیاری از آنها حساسیت ایجاد می نماید. مقدار قابل توجهی از اراضی در سراسر جهان در معرض شوری قرار دارند که مقدار آن روز به روز در حال افزایش است. طبق برآورد سازمان خواروبار و کشاورزی جهانی در حدود ۸۳۱ میلیون هکتار خاک شور و سدیمی (۳۹۷ میلیون هکتار خاک شور و ۴۳۴ میلیون هکتار خاک سدیمی) در جهان وجود دارد. تنش شوری با تحت تأثیر قرار دادن فرایند فتوسنتز منجر به کاهش رشد گیاهان و تولید محصول می شود که به واسطه برهم خوردن تعادل در جذب عناصر ضروری، آب و تنش اکسیداتیو صورت می گیرد (Molassiotis et al., 2006). یکی از روش های فیزیولوژیک که در سال های اخیر برای کاهش تنش های محیطی روی گیاهان مختلف استفاده شده است، کاربرد خارجی مواد کاهش دهنده تنش از جمله اسید سالیسیلیک است (Yuan and Lin, 2008). اسید سالیسیلیک آثار منفی تنش شوری و قلیائی بودن خاک بر رشد و عملکرد گیاه فلفل (*Capsicum annuum* L.) را کاهش داده است (قنبری و همکاران، ۱۳۹۵). اسید سالیسیلیک یکی از مولکول های پیام رسان مهم است و باعث عکس-العمل گیاه در برابر تنش های محیطی می شود و همانند یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی، نقش مهمی در تنظیم فعالیت های فیزیولوژیک گیاه ایفا می کند (Arfan et al., 2007). در این تحقیق مقاومت گیاه زیتون تلخ در برابر شوری و همچنین اثر اسید سالیسیلیک در کاهش اثر ناشی از تنش شوری در این گیاه مورد بررسی قرار گرفته است.

۲. مواد و روش ها

این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نهال های دو ساله زیتون تلخ در شرایط گلخانه ای ابتدا توسط اسید سالیسیلیک با مقادیر صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر و سپس تحت غلظت های شوری در مقادیر صفر، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ میلی مولار کلرید سدیم به مدت دو ماه تیمار شدند. پس از طی دوره آزمایش برگ های گیاه جمع آوری شد و برای تجزیه و تحلیل های مورد نظر آماده سازی گردید.



برای اندازه گیری غلظت یون های سدیم و پتاسیم در برگ، وزن مشخصی از نمونه خشک شده برگ زیتون تلخ را آسیاب کرده و پس از تبدیل به خاکستر، به میزان ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک دو نرمال به هر نمونه اضافه کرده و حجم نهایی توسط آب مقطر به ۵۰ میلی لیتر رسانیده شد. سپس توسط دستگاه فلیم فتومتر (مدل Cornuig M405) ساخت کشور انگلستان میزان سدیم و پتاسیم اندازه گیری شد. عصاره برگ با روش (Arnon and Kopeika, 1994) استخراج شده و میزان جذب در طول موج های ۶۴۵ نانومتر، ۶۶۳ نانومتر، ۴۸۰ نانومتر و ۵۱۰ نانومتر قرائت شد. برای اندازه گیری محتوای آب برگ برحسب درصد به روش ریچی و هولادی، نمونه برداری از آخرین برگ توسعه یافته صورت گرفت و سپس وزن تر، وزن اشباع و وزن خشک آن با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد (Ritchie and Holaday, 1990). نشت الکترولیتی برحسب درصد به روش ژانو و همکاران اندازه گیری شد (Zhao et al., 1992). میزان پرولین برحسب میکرومول در میلی گرم وزن تر به روش اسپکتروفتومتری و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با استفاده از روش بیتس و همکاران در فاز تولوئن اندازه گیری شد (Bates and Teare, 1973). قندهای محلول در وزن خشک گیاه به روش ایریگوین و همکاران، با توجه به معادله رگرسیون حاصل از قرائت محلول های استاندارد، جذب نور نمونه در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه پلیت ریدر (مدل Biotech eon) ساخت کشور آمریکا قرائت و محتوای قندهای محلول برحسب میلی گرم در گرم وزن خشک نمونه گزارش شد (Irigoyen et al., 1992).

آزمون داده ها و تجزیه های آماری از جمله تجزیه واریانس داده ها، مقایسه میانگین ها به روش آزمون چند دامنه ای دانکن و ضریب همبستگی به روش پیرسون صورت گرفت. برای تجزیه آماری از نرم افزار SAS 9.1 و برای رسم نمودارها از نرم افزار Microsoft Excel 2010 استفاده شد.

۳. نتایج

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی شامل غلظت های یون سدیم و پتاسیم در برگ، کلروفیل b و کلروفیل کل و کارتنوئیدها، نشت الکترولیتی، محتوای نسبی آب برگ، میزان پرولین و قندهای محلول نشان داد، بین سطوح مختلف شوری با اطمینان ۱٪ اختلاف معنی داری وجود داشت. صفات نشت الکترولیتی، محتوای نسبی آب برگ، میزان پرولین، قندهای محلول، کلروفیل a و غلظت های یون سدیم و پتاسیم در برگ با اطمینان ۱٪ و کلروفیل کل با اطمینان ۵٪ اختلاف معنی داری وجود داشت و تنها برای کارتنوئیدها با اطمینان ۵٪ اختلاف معنی داری نداشت. اثر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک در صفات مورد بررسی شامل نشت یونی، غلظت پتاسیم در برگ و میزان پرولین با اطمینان ۱٪ برای محتوای نسبی آب برگ با اطمینان ۵٪ اختلاف معنی داری وجود داشت. تجمع سدیم، کلروفیل ها و کارتنوئیدها و قندهای محلول که در اثر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک با اطمینان ۵٪ اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۱).



جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس داده‌های مورد بررسی

منبع تغییرات	میانگین مربعات (MS)				ضریب تغییرات
	شوری	اسید سالیسیلیک	شوری × اسید	خطا	
محتوی نسبی آب برگ (درصد)	۴۵۸/۵۷ ^{**}	۷۴/۲۴ ^{**}	۲۶/۷۰ [*]	۱۱/۹۵	۴/۸۸
نشت یونی (درصد)	۱۸۹۷/۵۲ ^{**}	۳۰/۴۶ ^{**}	۴/۵۵ ^{**}	۱/۱۰	۵/۱۷
سدیم برگ (میلی گرم بر کیلو گرم)	۲/۶۵ ^{**}	۰/۰۰۶ ^{**}	۰/۰۰۰۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۹	۵/۰۳
پتاسیم برگ (میلی گرم بر کیلو گرم)	۰/۳۱ ^{**}	۰/۰۲ ^{**}	۰/۰۱ ^{**}	۰/۰۰۵	۳/۶۰
کلروفیل a (میلی گرم در گرم وزن تر)	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۸۱ ^{**}	۰/۰۰۰۱۳ ^{ns}	۰/۰۰۷	۴/۴۶
کلروفیل b (میلی گرم در گرم وزن تر)	۰/۰۰۱ ^{**}	۰/۰۰۰۴ ^{**}	۰/۰۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۳	۶/۹۷
کلروفیل کل (میلی گرم در گرم وزن تر)	۰/۰۰۴۴ ^{**}	۰/۰۰۱۶ [*]	۰/۰۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۵	۸/۷۰
کارتوئیدها (میلی گرم در گرم وزن تر)	۰/۰۰۰۱۷ ^{**}	۰/۰۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۱	۶/۴۶
قندهای محلول (میلی گرم در گرم وزن خشک)	۶۱۵۴ ^{**}	۵۱۰/۰۲ ^{**}	۲۰/۹۲ ^{ns}	۲۸/۵۲	۲/۸۵
پروکلین (میکرومول در میلی گرم وزن تر)	۰/۱۱ ^{**}	۰/۵۳ ^{**}	۰/۰۹ ^{**}	۰/۰۱	۴/۵۸

^{**} و ^{*} به ترتیب در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ اختلاف معنی دار است و ^{ns} در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی داری وجود ندارد.

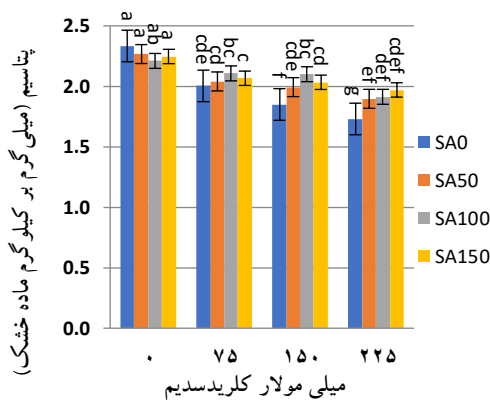
مقایسه میانگین داده‌های به دست آمده از تاثیر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک به روش دانکن نشان داد، بیشترین میانگین غلظت سدیم در برگ در سطح شوری ۲۲۵ میلی مولار و اسید سالیسیلیک صفر وجود داشت (شکل ۱). در حالی که در تیمارهای مختلف، غلظت پتاسیم در برگ با اطمینان ۱٪ اختلاف معنی داری وجود داشت و با افزایش شوری از میزان غلظت پتاسیم برگ کاسته شد. بیشترین میزان غلظت پتاسیم در شاهد و اسید سالیسیلیک صفر و کمترین آن در سطح شوری ۲۲۵ میلی مولار و اسید سالیسیلیک صفر مشاهده شد (شکل ۲).

با افزایش تیمار شوری نسبت سدیم به پتاسیم افزایش پیدا کرد، البته در سطوح شوری ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار این روند افزایش با شیب ملایم تر و از شوری ۱۵۰ میلی مولار و بالاتر با شیب بیش تری بود، هرچند تیمارهای مختلف اسید سالیسیلیک در سطوح ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار شوری باعث کاهش اثر تخریبی سدیم شده بود (شکل ۳). بیشترین میزان نشت یونی در سطح شوری ۲۲۵ میلی مولار و سطح اسید سالیسیلیک صفر مشاهده شد (شکل ۴). در تنش شوری و اعمال تیمار اسید سالیسیلیک میزان قند کل افزایش داشت ولی اثر متقابل سطوح شوری در اسید سالیسیلیک بر میزان قندهای محلول معنی دار نشد (شکل ۵).

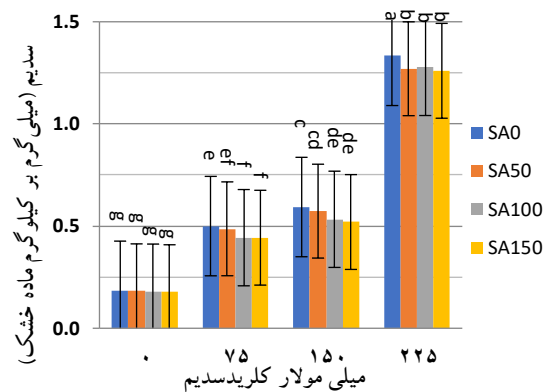
اثر متقابل سطوح شوری در اسید سالیسیلیک بر پروکلین در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی داری داشت. با اعمال تیمار شوری و اسید سالیسیلیک به ترتیب در سطوح ۱۵۰ میلی مولار و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، میزان تجمع پروکلین افزایش داشت (شکل ۶). اثر متقابل سطوح مختلف شوری در اسید سالیسیلیک نشان داد، در میزان محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی داری وجود داشت و با افزایش شوری از میزان محتوای نسبی آب برگ کاسته شد. بیشترین محتوای نسبی آب برگ در سطح شوری صفر و اسید سالیسیلیک ۱۵۰ میلی گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۷). اثر متقابل سطوح مختلف شوری در اسید سالیسیلیک نشان داد، در تیمارهای مختلف میزان کلروفیل a با اطمینان ۵٪ اختلاف معنی داری نداشت. با این حال میزان



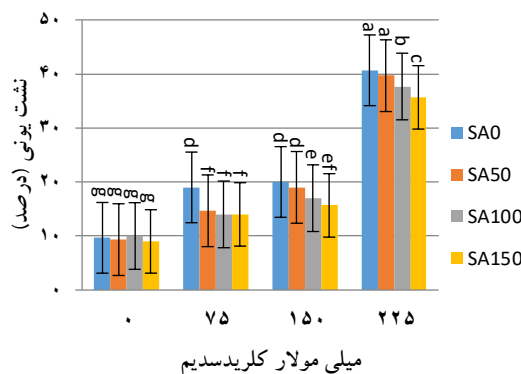
کلروفیل a در سطح اسید سالیسیلیک ۱۵۰ میلی گرم در لیتر و شوری صفر با شیب بسیار ملایمی کاهش داشت (شکل ۸). اثر متقابل سطوح مختلف شوری در اسید سالیسیلیک نشان داد که در تیمارهای مختلف میزان کلروفیل b در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی داری نداشت. با این حال میزان کلروفیل b با شیب ملایمی روند کاهشی داشت (شکل ۹). گرچه اثر متقابل سطوح مختلف شوری در اسید سالیسیلیک بر کلروفیل کل معنی دار نشد، اما بیشترین میزان کلروفیل کل در شوری ۷۵ میلی مولار و اسید سالیسیلیک ۱۵۰ میلی گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۱۰). اثر متقابل سطوح شوری در اسید سالیسیلیک نشان داد، میزان کارتنوئیدها در تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی داری نداشت، ولی از تیمار شوری ۱۵۰ میلی مولار و بالاتر با افزایش شوری در سطح اسید سالیسیلیک ۱۵۰ میلی گرم در لیتر روند کاهشی نشان داد (شکل ۱۱).



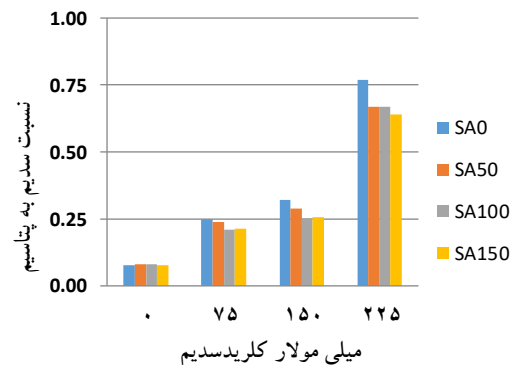
شکل ۲- اثر متقابل شوری در اسید سالیسیلیک
بر غلظت پتاسیم در برگ



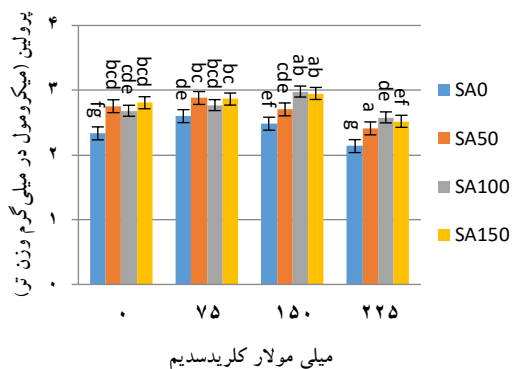
شکل ۱- اثر متقابل شوری در اسید سالیسیلیک
بر غلظت سدیم در برگ



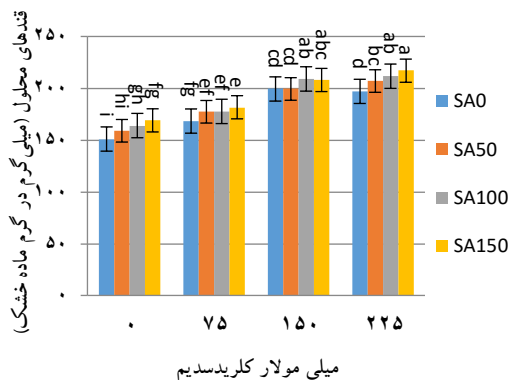
شکل ۴- اثر متقابل شوری در اسید سالیسیلیک
بر میزان نشت یونی



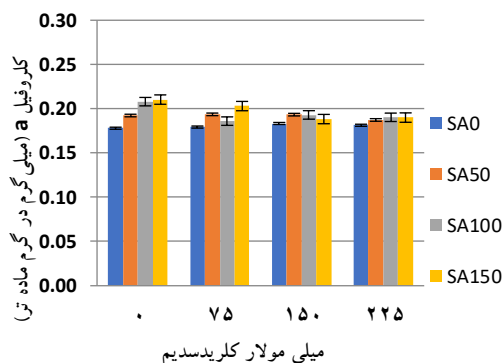
شکل ۳- اثر متقابل شوری در اسید سالیسیلیک
بر نسبت سدیم به پتاسیم



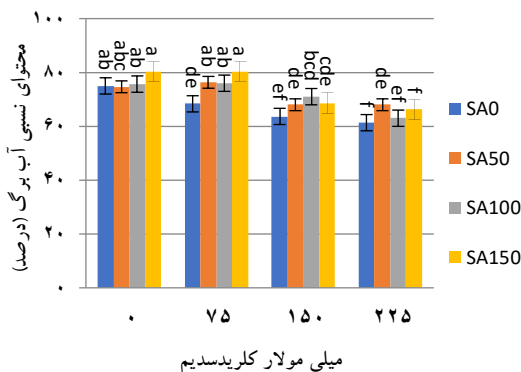
شکل ۶- اثر متقابل شوری در اسید سالیسیلیک
بر میزان پرولین



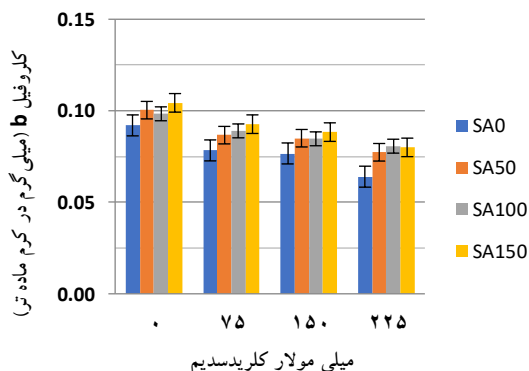
شکل ۵- اثر متقابل شوری در اسید سالیسیلیک
بر میزان قندهای محلول



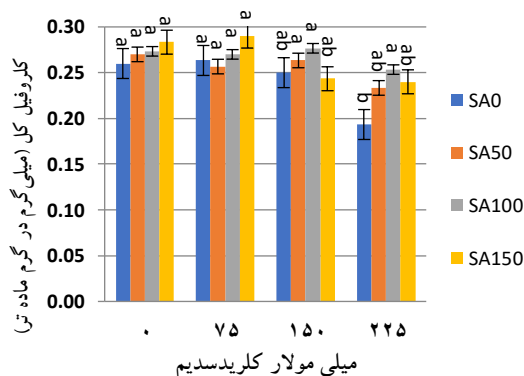
شکل ۸- اثر متقابل شوری در اسید سالیسیلیک
بر میزان کلروفیل a



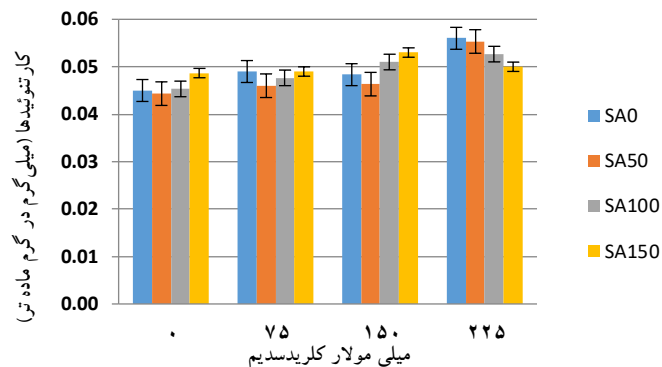
شکل ۷- اثر متقابل شوری در اسید سالیسیلیک
بر محتوی نسبی آب



شکل ۱۰- اثر متقابل شوری در اسید سالیسیلیک
بر کلروفیل b



شکل ۹- اثر متقابل شوری در اسید سالیسیلیک
بر میزان کلروفیل کل



شکل ۱۱- اثر متقابل شوری در اسید سالیسیلیک
بر میزان کارتنوئیدها

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق نشان داد از نظر غلظت‌های یون سدیم و پتاسیم در برگ، کلروفیل b و کلروفیل کل و کارتنوئیدها، نشت الکترولیتی، محتوای نسبی آب برگ، میزان پرولین و قندهای محلول در سطوح مختلف شوری اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در این پژوهش محتوای نسبی آب اندام هوایی در تنش شوری کاهش یافت که در گیاهان برنج (Xiong et al., 2012) و سیاه دانه (Kabiri et al., 2014) نیز نتایج مشابهی گزارش شده است. کنترل فعالیت‌های فیزیولوژیکی به محتوای آب گیاه وابسته بوده و تغییرات محتوای نسبی آب به‌طور مستقیم روی دستگاه فتوسنتزی تأثیر می‌گذارد (Graça et al., 2010). اثر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک در صفات مورد بررسی شامل نشت یونی، غلظت پتاسیم در برگ، میزان پرولین و محتوای نسبی آب برگ اختلاف معنی‌داری وجود داشت. پیش‌تیمار گیاهان با اسید سالیسیلیک، موجب بهبود پرولین، قندهای محلول و پتاسیم تحت تنش گردید، نتایج مشابهی در سیب‌زمینی (Daneshmand et al., 2010)، سیاه دانه (Kabiri et al., 2014) و ذرت (Tufail et al., 2013) در تیمار اسید سالیسیلیک گزارش شده است. از دلایل تأثیر تیمار اسید سالیسیلیک بر بهبود این پارامترها در گیاهان تحت تنش را می‌توان تأثیر آنها در حفاظت از رنگیزه‌ها و آنزیم‌های دستگاه فتوسنتزی، هدایت روزنه‌ای، دفاع آنتی‌اکسیدانی، کاهش نشت یونی و افزایش همبستگی غشاهای زیستی، تجمع اسمولیت‌های سازگار، متابولیسم و تغذیه معدنی و تثبیت ازت در گیاه را نام برد که در مطالعات مختلف به آنها اشاره شده است (Kabiri et al., 2013; Kausar and Shahbaz, 2013; El-Tayeb, 2005; al., 2014).

بررسی نشت یونی در تأثیر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک نشان داد که با افزایش میزان شوری بر میزان نشت یونی افزوده شد. در تنش شوری و اعمال تیمار اسید سالیسیلیک میزان قند کل افزایش داشت ولی اثر متقابل سطوح شوری در اسید سالیسیلیک بر میزان قندهای محلول معنی‌دار نشد. با افزایش سطوح مختلف شوری در ارقام ذرت میزان سدیم افزایش داشت اما پتاسیم تغییر معنی‌داری نداشت (کیسک و کاکیلار، ۲۰۰۸). با این حال پیش‌تیمار گندمیان با اسید سالیسیلیک باعث کاهش جذب سدیم می‌شود و از این طریق از خسارت سدیم جلوگیری می‌شود (El-Tayeb, 2005). همچنین کاربرد اسید سالیسیلیک در انتهای پنجه‌زنی از طریق بهبود ویژگی‌های بیوشیمیایی، در کاهش عوارض تنش خشکی موثر بوده است (شعاع و همکاران، ۱۴۰۱).



افزایش میزان قندهای محلول با افزایش سطوح شوری، به دلیل تجمع کربوهیدرات‌ها مانند قندهای (گلوکز، فروکتوز، سوکروز و فروکتان) و نشاسته در تنش شوری می‌باشد (Singh et al., 2000). همچنین مقدار قندها در ژنوتیپ‌های برنج در تنش شوری افزایش دارد (Alamgir and Ali, 1999).

اثر متقابل سطوح شوری در اسید سالیسیلیک نشان داد، میزان کارتنوئیدها در تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌داری نداشت، ولی از تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و بالاتر با افزایش شوری در سطح اسیدسالیسیلیک ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر روند کاهشی نشان داد. معنی‌دار نشدن اثر متقابل در کارتنوئید احتمالاً به علت کمکی بودن این رنگیزه در فتوسنتز است. مقدار کلروفیل و کارتنوئید در هویج تحت تاثیر شوری کاهش دارد (Eraslan et al., 2007). در این پژوهش نیز کاهش کلروفیل با افزایش شوری تناسب داشت، یعنی با افزایش شوری میزان کلروفیل کمتر شد. این کاهش کلروفیل ناشی از فعال شدن مسیر کاتابولیکی کلروفیل می‌باشد. با این حال (El-Tayeb, 2005) و (Yildirim et al., 2008) اظهار داشتند که تیمار اسید سالیسیلیک میزان کلروفیل و کارتنوئیدها را در گیاهان افزایش داده و سبب افزایش سرعت فتوسنتز تحت شرایط تنش شوری می‌شود. اسپری برگ‌های اسید سالیسیلیک در گیاه ریحان، مرزه و مرزنجوش نیز باعث افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی شده است (Khurana and Maheshwari, 1980). همچنین در شرایط تنش شوری بر گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa* L.) پیش تیمار اسید سالیسیلیک، موجب افزایش کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، پرولین و گایوکل پراکسیداز شده و اثرات مضر تنش شوری در گیاه سیاهدانه را کاهش داده است (زارعی و همکاران، ۱۳۹۸).

نتایج تحقیق که افزایش قند کل تحت تنش شوری و تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش سازگاری گیاه به شوری شده است که با نتایج به دست آمده در گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) همخوانی دارد (Nemati et al., 2011). با اعمال تیمار شوری و اسید سالیسیلیک هر دو به ترتیب در سطوح ۱۵۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان تجمع پرولین افزایش داشت. پرولین به عنوان یک آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی در گیاه فعال بوده و افزایش آن در شرایط تنش به عنوان یکی از شاخص‌های تحمل تنش محسوب می‌شود. در طی بروز تنش شوری برخی گیاهان سعی دارند در تنظیم اسمزی از ترکیبات آلی مانند پرولین و کربوهیدرات‌ها استفاده نمایند. این ترکیبات تا حد زیادی شرایط و انرژی لازم را برای ادامه رشد و فتوسنتز برای این گونه گیاهان را فراهم می‌کنند (Chey and Li, 2007). محققین بیان کردند که پرولین با چندین مکانیسم مانند جاروب کردن رادیکال‌های هیدروکسید، تنظیم اسمزی، جلوگیری از دنا توره شدن آنزیم‌ها و حفظ و سنتز پروتئین، بردباری و مقاومت گیاه را در برابر تنش‌ها بالا می‌برد (El-Tayeb, 2005).

نتایج کلی تحقیق نشان داد، تأثیر مقادیر مختلف شوری در تجمع و غلظت یونی و برخی صفات فیزیولوژیک، اختلاف معنی‌دار داشت. همچنین اثر بهبوددهندگی اسید سالیسیلیک برای تحمل تنش در اکثر صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری داشت. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزایش قند کل و پرولین تحت تنش شوری و تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش تحمل پذیری گیاه به تنش شوری شده است. البته اثر اسید سالیسیلیک در تحمل تنش در مقادیر پایین شوری است و در سطح چهارم تیمار شوری (۲۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم) در سطوح اسید سالیسیلیک میزان پرولین کاهش نشان داد، اسید سالیسیلیک

در غلظت‌های مشخصی در مسیرهای خاص فیزیولوژیک تداخل ایجاد می‌کند، که این مقدار کاهش پرولین در این ترکیب تیماری مربوط به اثرات تخریبی گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد شده توسط تنش شوری است.

منابع

- زارعی، ب.، فاضلی، آ.، طهماسبی، ز. ۱۳۹۸. تأثیر اسید سالیسیلیک در کاهش اثرات تنش شوری بر صفات رشدی گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa* L.). فرآیند و کارکردهای گیاهی، ۸ (۲۹): 298-287.
- شعاع، م.، مهاجری، ف.، رحیم اوجی، ک.، باقری، ع. ۱۴۰۱. تأثیر زمان‌های کاربرد اسید سالیسیلیک بر خصوصیات بیوشیمیایی، زراعی و عملکرد جو (*Hordeum vulgare* L.) در رژیم‌های مختلف رطوبتی. اکوفیزیولوژی گیاهی، ۱۴ (۱): ۷۲-۸۸.
- قنبری، ف.، امیری‌نژاد، ع.، سیاری، م.، کردی، س. ۱۳۹۵. اثر اسید سالیسیلیک بر مقاومت به تنش‌های شوری و قلیائیت گیاه فلفل شیرین (*Capsicum annuum* L.). پژوهش‌های گیاهی، ۲۶ (۱): ۱۳۰-۱۴۱.
- مظفریان، و. ۱۳۸۹. درختان و درختچه‌های ایران. انتشارات فرهنگ معاصر. تهران، ایران.
- Alamgir, A., and Ali M.Y. (1999). Effect of salinity on leaf pigments, sugar and protein concentrations and chloroplast ATPase activity of rice (*Oryza sativa* L.). Bangladesh Journal of Botany, 28(2): 145-149.
- Arfan, M., Athar, H.R., and Ashraf, M. (2007). Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? Journal of plant physiology, 164(6): 685-694.
- Arnon, S., and Kopeika, N. (1994). Effect of particulates on performance of optical communication in space and an adaptive method to minimize such effects. Applie optics, 33(21): 4930-4937.
- Bates L.S., Waldren R.P., and Teare I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39:205-207.
- Chey, Y.L., and Li, Q. (2007). Prediction of a poptosis protein subcellular location using improved hybrid approach and pseudoamino acid camposition. Jurnal of Theoretical Biology, 248(2):377-381.
- Daneshmand, F., Arvin, M.J., and Kalantari, K.M. (2010). Physiological responses to NaCl stress in three wild species of potato in vitro. Acta Physiologiae Plantarum, 32(1): 91-101.
- El-Tayeb, M. (2005). Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation, 45(3): 215-224.
- Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A., and Alpaslan, M. (2007). Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. Scientia Horticulturae, 113(2): 120-128.
- Graça, J.P.d., Rodrigues, F.A., Farias, J.R.B., Oliveira, M.C N.d., Hoffmann- Campo, C.B., and Zingaretti, S.M. (2010). Physiological parameters in sugarcane cultivars submitted to water deficit. Brazilian Journal of Plant Physiology, 22(3): 189-197.
- Irigoyen, J. J., Emerich, D.W., and Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of prolin and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Plant Physiology, 84: 55-60.
- Kabiri, R., Nasibi, F., and Farahbakhsh, H. (2014). Effect of exogenous salicylic acid on some physiological parameters and alleviation of drought stress in *Nigella sativa* plant under hydroponic culture. Plant Protect Sci., 50(6): 41-51.
- Kausar, F., and Shahbaz, M. (2013). Interactive effect of foliar application of nitric oxide (NO) and salinity on wheat (*Triticum aestivum* L.). Pak. J. Bot., 45(SI): 67-73.
- Khurana, J.P., and Maheshwari, S. (1980). Some effects of salicylic acid on growth and flowering in *Spirodela polyrrhiza* SP20. Plant and Cell Physiology, 21(5): 923-927.



- Molassiotis, A., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G., and Therios, E. (2006). Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM 106 treated with NaCl, KCl, mannitol or sorbitol. *Biologia Plantarum*, 50(1): 61-68.
- Nemati, I., Moradi, F., Gholizadeh, S., Esmaili, M., and Bihamta, M. (2011). The effect of salinity stress on ions and soluble sugars distribution in leaves, leaf sheaths and roots of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant Soil Environ*, 57(1): 26-33.
- Ritchie, S.W., Nguyen, H.T., and Holaday, A.S. (1990). Leaf water content and gas- exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30(1): 105-111.
- Singh, S., Sharma, H., Goswami, A., Datta, S., and Singh, S. (2000). In vitro growth and leaf composition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. *Biologia Plantarum*, 43(2): 283-286.
- Tufail, A., Arfan, M., Gurmani, A. R., Khan, A., and Bano, A. (2013). Salicylic acid induced salinity tolerance in maize (*Zea mays*). *Pakistan J Bot*, 45(4): 75-82.
- Xiong, J., Zhang, L., Fu, G., Yang, Y., Zhu, C., and Tao, L. (2012). Drought-induced proline accumulation is uninvolved with increased nitric oxide, which alleviates drought stress by decreasing transpiration in rice. *Journal of plant research*, 125(1): 155-164.
- Yuan, S., and Lin, H. (2008). Role of salicylic acid in plant abiotic stress. *Zeitschrift fur Naturforschung c*, 63(5/6): 313.
- Yildirim, E., Turan, M., and Guvenc, I. (2008). Effect of foliar salicylic acid applications on growth, chlorophyll, and mineral content of cucumber grown under salt stress. *Journal of plant nutrition*, 31(3): 593-612.
- Zhao, Y., Aspinall, D., and Paleg, L.G. (1992). Protection of membrane integrity in *Medicago saliva* L. by glycinebetaine against the effects of freezing. *Journal of Plant Physiology* 140, 541-543.



بررسی متابولیت ها و اثرات دارویی گیاه گزنه سفید

Lamium album L. subsp. *Crinitum* در رویشگاه طبیعی دره تنگ شهرستان الشترالهام فاریابی^{۱*}، محمد الماسی نیا^۲^{۱*} گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران. (E_faryabi@pnu.ac.ir)^۲ گروه جغرافیا و برنامه ریزی شهری، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیده

عبارت گیاهان دارویی به آن دسته از گیاهانی اطلاق می شود که دارای مقدار معینی ماده موثره است که برای تشخیص، درمان، پیشگیری، کمک به اعمال فیزیولوژیک و حفظ بهداشت بدن استفاده می شود. گزنه سفید با نام علمی *Lamium album* L. subsp. *crinitum* بوته‌هایی علفی، پایا به رنگ سبز تیره، کرک‌دار هست که متعلق به خانواده بزرگی از گیاهان بنام لابیاته است. این مطالعه با هدف بررسی ترکیب‌های فلاونوئیدی گیاه گزنه سفید در رویشگاه طبیعی دره تنگ شهرستان الشتر استان لرستان انجام گرفت. در این مطالعه جهت بررسی پروفایل فلاونوئید آن با استفاده از روشهای کروماتوگرافی کاغذی دو بعدی و لایه نازک و ترکیبات آنالیز و اجزای متشکله آن شناسایی شد. مطالعه کروماتوگرام‌های کاغذی دو بعدی از عصاره‌ی بخش هوایی نمونه به کمک UV در طول موج ۳۶۶ نانومتر صورت گرفت. گونه مورد مطالعه دارای فلاونوئید سولفات‌ها و فلاون C & C/O گلیکوزیدها و آگلیکونها بود. نتایج مطالعه فلاونوئیدها به روش کروماتوگرافی لایه نازک TLC نشان می‌دهد، اوریتین به مقدار قابل ملاحظه‌ای وجود دارد، کامفرول و ایزورامتین و روتین به مقدار زیاد، نمونه فاقد مورین، رامنتین، تریستین و ویتکسین بود و مقدار کمی لوتئولین، آپیجین، میرستین و کوئرستین مشاهده گردید.

واژگان کلیدی: گزنه سفید، گیاهان دارویی، متابولیت های ثانویه



۱. مقدمه

گزنه سفید با نام علمی *Lamium album* L. subsp. *Crinitum* بوته‌هایی علفی، پایا به رنگ سبز تیره، کرک‌دار هستند. ساقه برخاسته، به طول ۶۰-۲۰ سانتیمتر، دارای مقطع چهار گوش است. برگ‌ها متقابل، دمبرگ‌دار، با پهنک قلبی-تخم‌مرغی، نوک‌دار، در حاشیه شامل دندانه‌های درفش و نرم بلندتر از لوله هستند. جام درشت به طول تقریبی ۲ سانتیمتر، در انتها برگشته و بساک‌ها مخملی هستند. گل آذین محوری، دارای چرخه‌های دور از هم هستند (قهرمان ۱۳۸۷-۱۳۵۴؛ Parsa 1949؛ Rechinger et al., 1982).

شرایط جغرافیایی و اکولوژیک در جنس *Lamium* L.: پراکنش جنس *Lamium* یا چرخک خاص منطقه اوراسیا (هولارکتیک) است که از غرب اروپا تا شرق آسیا، جنوب آفریقا و جزایر قناری را شامل می‌شود. در گونه‌ی *Lamium album* موسم گل فروردین تا اواسط تابستان است و انتشار جغرافیایی در کوه‌های شمالی تهران، کرج، کندوان، گیلان: آستارا، ارسباران می‌باشد (قهرمان ۱۳۸۷-۱۳۵۴؛ Parsa 1949؛ Rechinger et al., 1982).

خواص بیولوژیکی و کاربرد ها: جنس *Lamium* آثار دارویی زیادی دارد که شامل خاصیت آنتی‌اکسیدان، ضد رادیکال‌های آزاد، ضدالتهاب، ضد تکثیر سلولی، ضد درد، سلول‌کش، ضداسپاسم و مهارکننده‌ی تیروزین است (Budzianowski and Skrzypczak, 1995). گونه‌ی *L. album* با نام گزنه سفید شناخته می‌شود، گیاهی پایا است که عامه مردم به‌عنوان داروهای گیاهی استفاده می‌کنند و غنی از تری‌ترین، فلاونوئیدها و اسیدهای فنلیک است (Paduch et al., 2008). خاصیت ضدالتهاب، قابض و ضداسپاسم دارد، ترکیبات متفاوتی در متابولیت‌های ثانویه این گیاه وجود دارد. این گیاه را می‌توان در طبیعت به صورت خود رو یافت یا کشت کرد (Veleva et al., 2017).

فلاونوئیدهای جنس *Lamium*: از نظر ترکیبات شیمیایی در گل‌ها و شاخه‌های گل‌دار گیاه، مواد کولین، کامفرول، کامفرول-۳-گلوکوزید یافت می‌شود. برگ‌های آن خوراکی و منبع غنی از کاروتن می‌باشد (میرحیدر، ۱۳۸۵). این گیاه غنی از تری‌ترینها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنلیک است (Paduch et al., 2008). بررسی‌های فیتوشیمیایی گونه‌های *Lamium* وجود ایریدوئیدها، سکوایریدوئیدها، فنیل پروپانوئیدها، فلاونوئیدها، بتائین فیتواسیدستروئیدها، آنتوسیانین‌ها، تری‌ن‌ها، و نیز روغن‌های اصلی را نشان داد (Alipieva et al., 2006; Budzianowski and Skrzypczak, 1995). خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گونه‌های لامیوم به دلیل وجود محتوای فلاونوئیدی موجود در آن‌ها است. چنانکه کوئرستین و کاتپسین فلاونوئیدهای اصلی موجود در این گونه است (Ertil, 2014). در گونه‌ی *L. album* ترکیبات فنلی ورباسکونید و ۳-متیل، استیل و گلیکوزیل ایزوساکولارین جداسازی شده‌اند (Pereira et al., 2012). فلاونوئیدهای ۷-ا-گلوکوزیل-۳-متیل کامفرول و کریسیرول، ۵،۷-تری هیدروکسی ۳-متوکسی فلاون و همچنین استرول‌های سیتوسترول (sitosterol) و سیگماسترول (stigmasterol) نیز از این گونه جداسازی شدند (Laggoune et al., 2008).

خواص بیولوژیکی و کاربرد های جنس *Lamium*: جنس *Lamium* آثار دارویی زیادی دارد که شامل خاصیت آنتی‌اکسیدان، ضد رادیکال‌های آزاد، ضدالتهاب، ضد تکثیر سلولی، ضد درد، سلول‌کش، ضداسپاسم و مهارکننده‌ی تیروزین



است (Budzianowski and Skrzypczak, 1995). از شاخه‌های جوان *L. purpurea* به عنوان خوراکی استفاده می‌شود (Ranfa and Bodesmo, 2017).

۲. مواد و روش ها

مطالعات فلاونوئیدهای گونه مورد مطالعه: بخش هوایی گونه‌ها *Lamium album* از رویشگاه طبیعی منطقه دره تنگ شهرستان الشتر در استان لرستان به منظور مطالعات فیتوشیمیایی آن جمع‌آوری، در هوای آزمایشگاه خشک و در کیسه پلاستیکی برچسب‌دار در محل خشک و خنک نگهداری شد.

عصاره گیری از نمونه‌های مورد مطالعه برای بررسی های فلاونوئیدها: ۲۰۰ میلی گرم از بخش هوایی گیاه خشک شده به طور جداگانه وزن و پس از خرد شدن درون لوله آزمایش برچسب‌دار ریخته شد. ۵ cc اتانول ۷۰٪ به هر لوله افزوده و به مدت ۲ دقیقه در بن ماری در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد جوشانده شد. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در آزمایشگاه قرار گرفت. پس از آن محلول رویی لوله، درون شیشه ساعت برچسب‌دار ریخته شده و جهت تبخیر به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در زیر هود قرار گرفت.

کروماتوگرافی کاغذی دو بعدی نزولی (2-DPC): برای انجام کروماتوگرافی کاغذی دو بعدی نزولی ابتدا کاغذ واتمن شماره ۱ را به ابعاد ۲۸/۵ cm در ۲۳ بریده و سپس محل قرار گرفتن نمونه و معروف روتین بر روی کاغذ علامت گذاری گردید. به کمک لوله موئینه معرف روتین در قسمت ۱ سانتی متری از لبه سمت چپ کاغذ قرار داده شد. پس از حل کردن عصاره تبخیر شده در اتانول ۷۰٪ به وسیله لوله موئینه از آن‌ها، در ۷ سانتی متری لبه سمت راست کاغذ، لکه گذاری گردید. لکه گذاری روتین ۲ تا ۳ بار و لکه گذاری نمونه‌ها ۵ تا ۸ بار تکرار شد. در نیم استوانه های کروماتوتانک مشابه شاندون بزرگ محلول BAW ریخته و کاغذهای کروماتوگرافی تهیه شده پس از تا خوردن به آرامی و با دقت درون آن‌ها قرار گرفتند. وقتی محلول به حدود ۵-۱/۲ cm به ی انتهای کاغذ رسید، کاغذها از حلال خارج شده و به مدت ۲۴ ساعت زیر هود قرار گرفته تا کاملاً خشک شود. سپس به کمک اشعه UV با طول موج ۳۶۶ nm اندازه و رنگ لکه‌های جدا شده از نمونه و شاهد روتین با مداد مشخص شدند. آخرین نقطه پیشرفت حلال BAW را نیز علامت گذاری کرده تا برای احتساب R_f (Retention factors) از آن‌ها استفاده گردد. سپس بالای کروماتوگرام بریده شده، از سمت دیگر شبیه حالت قبل تا زده شده و سپس در کروماتوتانک حاوی اسیداستیک ۱۵٪ قرار گرفت. قبل از رسیدن حلال به لبه انتهای کاغذ (۲ cm) کروماتوگرام‌ها از تانک خارج و زیر هود قرار داده شدند تا به آرامی خشک شوند. سپس به کمک UV در طول موج ۳۶۶ نانومتر اندازه و رنگ لکه‌های تفکیک شده با مداد روی کروماتوگرام‌ها علامت گذاری گردید.

شناسایی فلاونوئیدها: شناسایی فلاونوئیدهای هر کروماتوگرام بر مبنای کلید شناسایی فلاونوئیدهای (Mabry و همکاران، ۱۹۷۰) و (Markham, ۱۹۸۲) و بر مبنای مقادیر R_f هر یک از لکه‌ها در BAW و اسید استیک ۱۵٪ انجام گردید.

کروماتوگرافی به روش TLC: عصاره باقیمانده از کروماتوگرافی کاغذی دو بعدی نمونه مورد نظر، در ۵/۵ اتانول ۷۰٪ حل و به آرامی در لوله آزمایش ریخته شد. سپس ۲ cc اسید کلریدریک ۲ مولار به لوله افزوده و به مدت نیم ساعت در بن ماری

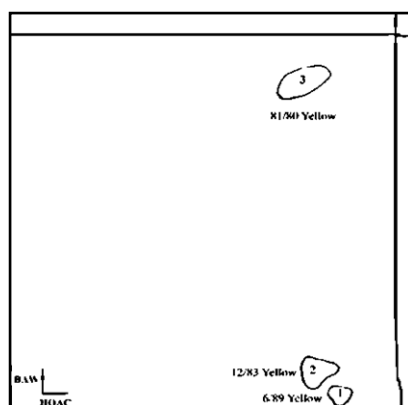


۱۰۰ درجه سانتی گراد گذاشته تا به طور کامل هیدرولیز شود. پس از سرد شدن ۲ cc اتیل استات ۱۰٪ به هر لوله اضافه تا دو فاز تشکیل شود. فاز روپی در هر لوله آزمایش با کمک پی پت پاستور جدا و در شیشه ساعت های برچسب دار ریخته و زیر هود گذاشته شد تا تبخیر شود. پس از آن ۵/۵ cc اتانول ۷۰٪ به هر یک از آن ها اضافه کرده و از عصاره حاصل برای TLC استفاده گردید. کاغذهای کروماتوگرافی لایه نازک را به ابعاد مناسب بریده و به وسیله لوله فوق موئینه از عصاره ی نمونه مورد مطالعه و معرف های فلاونوئیدی آپیزین، کریسین، جنستین، هسپریدین، ایزورامنتین، کامفرول، لوتولین، مورین، میریستن، نارنجین، اورنیتین، کوئرستین، رامنتین، روتین، تریسین و ویتکسین لکه گذاری گردید. پس از خشک شدن لکه ها، کروماتوگرام ها در کروماتوتانک حاوی حلال CAW و در شرایط کنترل شده از نظر نور و دما قرار گرفت. وقتی حلال تا ۱ cm مانده به انتهای کاغذ بالا آمد، آن ها را بیرون آورده و زیر هود گذاشته تا خشک شود. سپس به کمک اشعه ی UV در طول موجهای ۲۵۴ و ۳۶۶ نانومتر اندازه و رنگ لکه ها با مداد مشخص و مقدار Rf برای هر لکه محاسبه گردید. رنگ و مقدار Rf هر یک از لکه ها با رنگ و Rf استانداردهای مورد استفاده، مقایسه و نوع هر لکه مشخص گردید.

۳. نتایج

3-1. نتایج مطالعات کروماتوگرافی دوبعدی (2-DPC)

ترکیبات فلاونوئیدی از لحاظ تاکسونومیکی مهم هستند. آن ها شاخص های معمولی در مطالعات کموتاکسونومیک هستند. فلاونوئیدها اغلب با رده بندی های موجود در سطح خانواده، جنس و گونه هم بستگی نشان داده و بازنگری رده بندی های موجود در سطح خانواده، جنس و گونه را تأیید می کنند. با این وجود، فلاونوئیدها به ندرت صفات کلیدی ارائه می کنند (Harborne and Turner, 1984). بسیاری از خواص آنتی اکسیدانی فلاونوئیدها به دلیل وجود مقادیر بالای گروه های هیدروکسیلی فعال در ترکیبات فنلی است. گلیکوزیلاسیون، متیلاسیون و استیلاسیون این گروه های عملکردی خواص آنتی اکسیدانی را کاهش می دهند (Seyoum et al., 2006). مطالعه کروماتوگرام های کاغذی دوبعدی از عصاره ی بخش هوایی نمونه های مورد مطالعه از خانواده نعناع به کمک UV در طول موج ۳۶۶ نانومتر صورت گرفت. این نتایج شامل ثبت رنگ لکه ها و مقادیر Rf در BAW و اسیداستیک ۱۵٪ بود (جدول شماره ۱). گونه مورد مطالعه دارای فلاونوئید سولفات ها و فلاون C & C/O گلیکوزیدها و آگلیکونها هست. (جدول شماره ۱) در شکل ۱ کروماتوگرام دوبعدی فلاونوئیدهای موجود در بخش هوایی گونه ی مورد مطالعه در طول موج ۳۶۶ نانومتر نشان داده شده است. در این کروماتوگرام اعداد مقادیر Rf در BAW و اسید استیک ۱۵٪ و کلمات، رنگ هر لکه را نشان می دهد.



شکل ۱- کروماتوگرام دوبعدی *Lamium album subsp. crinitum* در طول موج ۳۶۶ نانومتر، کلمات رنگ لکه‌ها و اعداد مقادیر Rf در BAW و اسیداستیک ۱۵٪ را نشان می‌دهند.

جدول شماره ۱- داده‌های حاصل از مطالعات فلاونوئیدهای تاکسون مورد مطالعه از خانواده نعناع به روش 2-DPC

Voucher samples	Taxon	Total flavonoids number	C-Flavone & C-O-glucosides number	Flavonoid sulphates number	Aglycones number
	<i>Lamium album</i> L. ssp. <i>crinitum</i>	5	1	3	1

3-2. نتایج مطالعات فلاونوئیدها به روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)

ترکیبات فلاونوئیدی سبب مقاومت گیاه در برابر اشعه‌ی ماوراء بنفش، پاتوژن‌ها و علفخواری می‌شوند. مطالعات کلینیکی و آزمایشات روی حیوانات نشان می‌دهد، فلاونوئیدها دارای آثار حفاظتی بر علیه بسیاری از بیماری‌ها مانند بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان هستند. فلاونوئیدها همچنین خواص ضدباکتریایی، ضدویروس و ضدالتهابی دارند (Velayutham and Liu, 2009). بسیاری از مطالعات ارتباط زیادی بین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فلاونوئیدی نشان می‌دهند (Eghdami et al., 2011). تیمول و کارواکرول موجود در این گیاهان به دلیل خاصیت ضدباکتریایی و ضد قارچی ترکیبات مناسبی برای استفاده در صنایع غذایی هستند (Schulz et al., 2005). مطالعه کروماتوگرام‌های TLC نمونه مورد مطالعه و استانداردهای فلاونوئید مورد استفاده به کمک UV در طول موج‌های ۳۶۶ و ۲۵۴ نانومتر لکه‌هایی به رنگ‌های متفاوت را نشان داد. نتایج مطالعه فلاونوئیدها در جدول شماره ۲ نشان می‌دهد، اورینتین به مقدار قابل ملاحظه‌ای وجود دارد، کامفرول و ایزورامنتین و روتین به مقدار زیاد، نمونه فاقد مورین، رامنتین، تریستین و ویتکسین بود و مقدار کمی لوتئولین، آپیجین، میرستین و کوثرستین مشاهده گردید.

جدول شماره ۲- داده‌های کروماتوگرافی لایه نازک فلاونوئیدهای بخش هوایی گونه مورد مطالعه از خانواده در منطقه دره تنگ شهرستان الشتر - استان لرستان

Voucher samples	Flavonoids identification														
	Apigenin	Chrysin	Genistein	Isorhamnetin	Kaempferol	Luteolin	Morin	Myricetin	Naringenin	Orientin	Quercetin	Rhamnetin	Rutin	Tricin	Vitexin
	+	±	-	++	++	+	-	+	±	+++	+	-	++	-	-

Concentration of flavonoids: - (non flavonoid), ± (none or a few flavonoid), + (few flavonoid), ++ (middle concentration of flavonoid), +++ (high concentration of flavonoid).

۴. بحث و نتیجه گیری

دو فلاون گلوکوزید کامفرول و کوئرستین از بخش هوایی *Lamium amplexicaule* var. *amplexicaule* جداسازی شدند (Nugroho et al., 2009) ولی مقدار کمی آگلیکون در *L. album* subsp. *crinitum* یافت گردید (Paduch et al., 2008). آگلیکون‌ها در گونه‌های *Lamium* مورد مطالعه یافت نشدند ولی هر دو دارای اورینتین هستند. کوئرستین و کامفرول ۳-O- گلیکوزید، از گل های *L. album* subsp. *crinitum* استخراج شدند (Budzianowski and Skrzypczak, 1995). مشتقات مفید برای سلامتی ورباسکوزید و ایزواسکونلارین از ترکیبات اصلی عصاره اتانولی *L. album* subsp. *crinitum* هستند (Pereira et al., 2012).

گونه‌های *Lamium* دارای فلاون C & C-O گلوکوزیدها، فلاونوئید سولفات‌ها و فاقد آگلیکون‌ها هستند. بررسی‌های فیتوشیمیایی گونه‌های *Lamium* وجود ایریدوئیدها، سکوایریدوئیدها، فیل پروپانوئیدها، فلاونوئیدها و بتائین را در آن‌ها نشان داده است (Budzianowski and Skrzypczak, 1995؛ Alipieva et al., 2006). این جنس غنی از تری‌ترپن‌ها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنلیک است (Paduch et al., 2008). کامفرول، کامفرول-۳- گلوکوزید در جنس *Lamium* یافت می‌شود (میرحیدر، ۱۳۸۵). طبق تحقیقات انجام شده *Lamium album* ssp. دارای فلاونوئیدهای کریسین، ایزورامنتین، کامفرول، لوتئولین، میرستین، نارنجین، اورینتین و روتین است، ولی در دیگر گزارشات کوئرستین و کاتپسین از فلاونوئیدهای اصلی موجود در این گونه هستند (Erbil et al., 2014). از گونه‌ی *L. album* subsp. *crinitum* ترکیبات فنلی ورباسکونوئید و سه نوع متیل، استیل و گلیکوزیل ایزوساکولارین جداسازی شده‌اند (Pereira et al., 2012).

منابع

- قهرمان، ا. ۱۳۷۳. کوروموفیت‌های ایران سیستماتیک گیاهی، مرکز نشر دانشگاهی تهران. جلد ۳. ۲۱۲-۱۳۵.
میرحیدر، ح. ۱۳۸۵. معارف گیاهی، جلد، ۱-۸. ناشر چاپی: دفتر نشر فرهنگ اسلامی - تهران. چاپ: هفتم. ۲۳۶-۵۵۴.



- Budzianowski J. and Skrzypczak L. 1995 Phenylpropanoid esters from *Lamium album* flowers. *Phytochemistry*. (38): 4. 997-1001.
- Eghdami A. Sadeghi F. Eradatmand Asli D. Houshmandfar A. 2011. Antioxidant activity of methanolic and aqueous extract of *Stachys Inflata*. *Advances in Environmental Biology*. 5. 1256-1259.
- Erbil N., Yusuf A. and Digrak M. 2014. Antimicrobial and antioxidant properties of *Lamium galactophyllum* Boiss and Reuter. *L-macrodon* Boiss and Huet and *L. amplexicaule* from Turkish Flora. *Asian J. Chem.* 26. 549-554.
- Laggoune S., Boutaghane N., Kabouche A., Kabouche Z., Ait-Kaki Z. and Ait-Kaki B. 2008. Components and antimicrobial activity of *Lamium amplexicaule* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*. 44. 363-364.
- Nugroho A., Jun-Kil C., Jong-Hee P., Lee K. T., Cha B. C. and Park H. J. 2009. Two new flavonol glycosides from *Lamium amplexicaule* L. and their in vitro free radical scavenging and tyrosinase inhibitory activities. *Planta medica*. 75 (04): 364-366.
- Paduch R., Matysik G., Wojciak-Kosior M., Kandefer-Szerszen M., Skalska-Kamińska A. and Nowak-Kryśka M. *et al.* 2008. *Lamium album* extracts express free radical scavenging and cytotoxic activities. *Polish J. of Environ. Stud.* 17 (4): 569-580.
- Parsa A. 1949. *Flore de l Iran*. vol. 4, ed. Tehran. 329-881.
- Pereira O. R., Domingues. R. M., Silva A. M. S. and Cardoso S. M. 2012. Phenolic constituents of *Lamium album*: Focus on isoscutellarein derivatives. *Food Research International*. 48 (1). 330-335.
- Ranfa A. and Bodesmo M. 2017. An ethnobotanical investigation of traditional knowledge and uses of edible wild plants in the Umbria Region, Central Italy. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 90. 246 - 258.
- Rechinger K. H. Hedge I. C. Ietswaart J. H. Jalas J. Mennema J. and Seybold, S. (eds). 1982. Labiatae. In: Rechinger, K.H. (ed.). *Flora Iranica*. 150. Akademische Druck- u. Verlagsanstalt. Graz. 19-537.
- Schulz H., Ozkan G., Baranska M., Kruger H. and Ozcan M. 2005. Characterisation of essential oil plants from Turkey by IR and Raman spectroscopy. *Vib Spectrosc.* 39: 249–256.
- Seyoum A., Asres K. and El-Fiky F. K. 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. 67: 2058–2070.



ارزیابی کربن کوانتوم دات در بهبود پاسخ‌های بیوشیمیایی و متابولیت‌های ثانویه آویشن دنایی در شرایط تنش شوری

محمد حقانی نیا^{۱*} و علی نجفی فر^۱

^۱مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی ایلام، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، ایلام، ایران.

(haghani72@gmail.com)

چکیده

آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Celak) یکی از گونه‌های ارزشمند دارویی است که تولید و کیفیت آن تحت تأثیر تنش‌های محیطی، به‌ویژه شوری، قرار می‌گیرد. در این راستا، استفاده از فناوری‌های نوین نظیر کربن کوانتوم دات (CQD)، که به‌عنوان نانوذرات نیمه‌رسانا شناخته می‌شوند، می‌تواند راهکاری مؤثر در بهبود تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی باشد. با این حال، اطلاعات محدودی درباره تأثیر CQD بر آویشن دنایی تحت تنش شوری در دسترس است. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی اثر محلول‌پاشی سطوح مختلف کربن کوانتوم دات بر صفات بیوشیمیایی و تولید متابولیت‌های ثانویه آویشن دنایی تحت تنش شوری، به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح شوری (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و پنج سطح محلول‌پاشی CQD (۰، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ پی‌پی‌ام) بودند. نتایج نشان داد که افزایش شدت تنش شوری موجب کاهش معنادار محتوای فنل و فلاونوئید و افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید شد که نشان‌دهنده افزایش تنش اکسیداتیو در گیاه است. در مقابل، بیشترین بهبود در صفات بیوشیمیایی و متابولیت‌های ثانویه در تیمار ۲۰ پی‌پی‌ام CQD مشاهده شد که به‌طور معناداری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، محتوای پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، فنل و فلاونوئید شد. همچنین، این تیمار میزان مالون‌دی‌آلدهید را کاهش داد که بیانگر کاهش تنش اکسیداتیو و حفاظت از ساختار غشای سلولی بود. به‌طور کلی، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که محلول‌پاشی ۲۰ پی‌پی‌ام کربن کوانتوم دات می‌تواند به‌عنوان یک راهکار زیست‌سازگار و کارآمد برای بهبود تحمل آویشن دنایی به تنش شوری و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: امنیت غذایی، پرولین، تنش شوری، فلاونوئید، نانوذرات



۱. مقدمه

گیاهان دارویی به دلیل ترکیبات فعال بیولوژیکی خود، به ویژه در درمان بیماری‌ها و بهبود سلامت انسان، مورد توجه فراوانی قرار گرفته‌اند (Haghaninia et al., 2024). آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Celak)، یکی از گیاهان دارویی ارزشمند است که به دلیل وجود متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئیدها، فنل‌ها و ترکیبات ترپنوئیدی، به طور گسترده‌ای در طب سنتی و صنایع دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bahreininejad, 2023). با این حال، شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که می‌تواند تأثیرات منفی شدیدی بر رشد، متابولیسم و تولید ترکیبات بیوشیمیایی گیاهان دارویی داشته باشد (Haghaninia et al., 2025). این تنش با کاهش جذب آب، افزایش فشار اسمزی، و تولید رادیکال‌های آزاد موجب آسیب به سلول‌های گیاهی و کاهش عملکرد گیاه می‌شود (Mustafa et al., 2022). همچنین، محققان گزارش کردند که تنش شوری باعث کاهش رشد گیاه و تولید متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئیدها و فنل‌ها شد (Gohari et al., 2021). در این شرایط، استفاده از نانوذرات در سال‌های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده است. کربن کوانتوم دات‌ها (CQDs) که به عنوان نانو مواد کربنی نیز شناخته می‌شوند، به دلیل ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد خود، به ویژه خاصیت آنتی‌اکسیدانی، توانایی برانگیختن پاسخ‌های بیوشیمیایی و بهبود عملکرد گیاهان در شرایط تنش، به عنوان یک راهکار نوین معرفی شده‌اند (Wang et al., 2018). طرف دیگر، در این شرایط، کربن کوانتوم دات‌ها می‌توانند به طور مؤثری ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان را تحت شرایط تنش‌های محیطی تقویت کنند (Panahirad et al., 2023). در این راستا، پژوهشگران اظهار داشتند استفاده از کربن کوانتوم دات‌ها می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در شرایط تنش افزایش دهد و از آسیب اکسیداتیو گیاهان جلوگیری کند (Farhangi-Abri et al., 2024). با این حال، اثرات دقیق این نانوذرات بر متابولیت‌های ثانویه و بیوشیمیایی گیاهان دارویی، مانند آویشن، هنوز به طور کامل مشخص نشده است. بنابراین، هدف این مطالعه بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف کربن کوانتوم دات بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه آویشن تحت تنش شوری است. این تحقیق می‌تواند به درک بهتر مکانیسم‌های واکنش گیاه آویشن به کربن کوانتوم دات‌ها کمک کرده و پایه‌گذار کاربرد نانوذرات کربن کوانتوم دات در بهبود مقاومت گیاهان دارویی به تنش‌های محیطی و افزایش کیفیت و کمیت محصولات گیاهی در شرایط نامساعد باشد.

۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در گلخانه گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه در سال ۱۴۰۳ اجرا گردید. فاکتور اول شامل تنش شوری در سه سطح: عدم تنش شوری (شاهد)، تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار (تنش متوسط) و تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار (تنش شدید) و فاکتور دوم غلظت‌های مختلف کربن کوانتوم دات شامل ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۰ پی‌پی‌ام بودند. به منظور اجرای آزمایش، بذرها را آویشن دناپی در سینی‌های کاشت کشت شدند. پس از گذشت چهار هفته از زمان کاشت و در مرحله چهار برگی، نشاء‌ها به لیوان‌های یکبار مصرف انتقال و بعد از رشد کافی، به گلدان‌های پلاستیکی ۷ لیتری انتقال داده شدند. تنش شوری با غلظت‌های صفر، ۵۰



و ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (NaCl) از مرحله چهار برگی تا گلدهی کامل گیاهان صورت گرفت. در طول مدت زمان تنش هر شش روز یک بار آبیاری کامل محیط ریشه گیاهان با آب معمولی بدون تنش شوری انجام گرفت تا تغییرات EC و pH در اثر آبیاری به حداقل برسد. آبیاری گلدانها به گونه ای تنظیم شد که رطوبت خاک در حدود ۹۰ درصد ظرفیت مزرعه حفظ شود. در تیمار شاهد، آبیاری فقط با آب مقطر انجام شد. علاوه بر این، به منظور اعمال تیمارهای کربن کوانتوم دات، سه روز قبل از شروع تنش شوری جهت فعال کردن مکانیسم های دفاعی و آنتی اکسیدانی یک مرحله محلول پاشی انجام شد. همچنین، پس از شروع تنش، ۳ مرحله محلول پاشی به فواصل ۱۰ روز با غلظت های تعیین شده صورت پذیرفت. در نهایت، به منظور اندازه گیری صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نمونه برداری از گیاهان در مرحله گلدهی کامل و پس از پایان اعمال تیمارها انجام شد. نمونه های برداشت شده به مدت دو دقیقه در داخل تانک ازت قرار داده شدند. سپس نمونه های فریز شده تا زمان اندازه گیری شاخص ها در فریزر نگهداری شدند. در نهایت، محتوای فنل کل به روش Folin-Ciocalteu اندازه گیری شد (Singleton and Rossi, 1965). محتوای فلاونوئید نیز به روش آلومینیوم کلرید تعیین شد (Chang et al., 2002). علاوه بر این، محتوای پرولین به روش (Bates و همکاران، ۱۹۷۳) و مقدار کربوهیدرات های محلول با استفاده از روش (Dubois و همکاران، ۱۹۵۶) اندازه گیری شدند. همچنین، سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با روش توصیه شده Aebi (۱۹۸۴) و فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس روش (In-Byung و همکاران، ۲۰۰۷) مشخص شدند. مقدار مالون دی آلدید نیز با استفاده از ضریب خاموشی محاسبه شد (Heath & Packer, 1968). در نهایت، بعد از اطمینان از نرمال بودن داده ها، با استفاده از نرم افزار SAS V9 و آزمون LSD تجزیه و تحلیل آماری انجام شد و تجزیه واریانس داده ها با ضریب اطمینان ۹۵ درصد صورت گرفت.

۳. نتایج

۳-۱. محتوای پرولین و کربوهیدرات های محلول

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد محتوای پرولین و کربوهیدرات های محلول تحت تأثیر تنش شوری، نانوذرات و اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات واقع شد. بالاترین محتوای پرولین و کربوهیدرات های محلول در تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار و با کاربرد ۲۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات مشاهده شد، و کمترین میزان به تیمار شاهد تعلق داشت (شکل ۱). همچنین، محتوای پرولین و کربوهیدرات های محلول با کاربرد ۲۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات تحت تنش شدید در مقایسه با شاهد به ترتیب ۹۰/۴ و ۱۶۳/۷ درصد بهبود یافتند (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثرات نانوذرات کربن کوانتوم دات بر متابولیت های ثانویه و پاسخ های بیوشیمیایی آویشن دناپی تحت تنش شوری

تیمارها	فنل	فلاونوئید	پرولین	کربوهیدرات	پراکسیداز	کاتالاز	مالون	سطوح تنش
کربن کوانتوم دات (پی پی ام)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن خشک)	(واحد آنزیمی در میلی گرم پروتئین)	(واحد آنزیمی در میلی گرم پروتئین)	(میکرو مول بر گرم وزن تر)	
عدم مصرف (شاهد)	۴۷/۳۵k	۳۶/۷۴j	۶/۵۲j	۲/۱۰l	۰/۷۱j	۰/۶۰۴k	۳/۲۲k	عدم تنش



۴/۱۸hi	۰/۷۶۶hi	۱/۰۱i	۲/۵۹jk	۷/۴۹i	۴۰/۰۳i	۶۹/۱۱h	۵ بی پی ام	(شاهد)
۳/۹۹ij	۰/۷۱۶ij	۱/۱۱hi	۲/۷۸hi	۷/۵۷hi	۴۲/۵۴h	۵۳/۰۶j	۱۰ بی پی ام	
۳/۸۲j	۰/۶۴۸jk	۰/۹۶ij	۲/۴۸k	۷/۶۹hi	۴۸/۰۱g	۶۶/۸۹hi	۲۰ بی پی ام	
۴/۲۵hi	۰/۹۱۱ef	۱/۳۷fgh	۲/۷۰ij	۶/۷۹j	۵۳/۱۶ef	۷۰/۰۵h	۴۰ بی پی ام	
۵/۵۶ef	۰/۷۸۵ghi	۱/۷۹d	۲/۹۲gh	۷/۸۹ghi	۵۵/۵۵de	۷۶/۰۳fg	عدم مصرف (شاهد)	
۵/۴۳f	۱/۱۹ab	۲/۴۶b	۳/۷۹e	۸/۰۴fgh	۶۴/۹۵b	۸۶/۲۷bc	۵ بی پی ام	تنش شوری
۴/۹۷g	۱/۱۷bc	۲/۲۹bc	۳/۲۱f	۹/۵۱d	۶۲/۳۶c	۸۹/۹۶b	۱۰ بی پی ام	متوسط
۴/۴۶h	۱/۲۵a	۲/۹۴a	۳/۸۶e	۸/۵۴ef	۶۸/۵۷a	۹۷/۲۲a	۲۰ بی پی ام	(۵۰ میلی مولار)
۴/۳۲h	۱/۱۱cd	۲/۱۰c	۳/۰۴g	۸/۶۹e	۶۰/۸۳c	۸۳/۴۸cd	۴۰ بی پی ام	
۷/۹۲a	۰/۸۰۲gh	۱/۲۹gh	۴/۱۲d	۸/۳۹efg	۵۱/۰۲f	۶۳/۱۷i	عدم مصرف (شاهد)	
۶/۰۱d	۰/۸۰۶gh	۱/۶۷de	۵/۱۹b	۱۱/۵۶b	۵۶/۸۰d	۷۷/۳۹ef	۵ بی پی ام	تنش شوری
۷/۱۶c	۱/۰۵d	۱/۵۶def	۴/۷۵c	۱۱/۹۷ab	۵۳/۸۲e	۷۸/۸۵def	۱۰ بی پی ام	شدید
۵/۸۱de	۰/۹۷ve	۱/۷۴d	۵/۵۴a	۱۲/۴۱a	۶۱/۳۷c	۸۱/۶۲cde	۲۰ بی پی ام	(۱۰۰ میلی مولار)
۷/۵۲b	۰/۸۵vfg	۱/۴۱efg	۴/۶۳c	۱۰/۶۲c	۵۷/۶۵d	۷۱/۵۲gh	۴۰ بی پی ام	
۰/۳۰۳	۰/۷۳۷	۰/۲۷۱	۰/۱۶۴	۰/۵۰۹	۲/۴۷	۵/۲۵	LSD	
میانگین مربعات							منابع تغییرات	
**	**	**	**	**	**	**	**	تنش شوری (S)
**	**	**	**	**	**	**	**	CQD
**	**	**	**	**	**	**	**	S × CQD

حروف مختلف نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD است.

۳-۲. محتوای فنل و فلانویید

تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد اثر تنش شوری، نانوذرات و اثر متقابل تنش شوری × نانوذرات بر محتوای فنل و فلانویید آویشن معنی دار بود. حداکثر محتوای فنل و فلانویید در شرایط تنش متوسط و با کاربرد ۲۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات مشاهده شد، در حالی که کمترین آن‌ها در تیمار شاهد ثبت شد (شکل ۱). علاوه بر این، محتوای فنل و فلانویید در شرایط تنش متوسط با کاربرد ۲۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب ۱۰۵/۳ و ۸۶/۷ درصد بیشتر بود.

۳-۳. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی

تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد اثر تنش شوری، نانوذرات و اثر متقابل تنش شوری × نانوذرات بر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز معنی دار بود. حداکثر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی به کاربرد ۲۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات در شرایط تنش متوسط نعلق داشت و کمترین آن نیز به تیمار شاهد مربوط بود (شکل ۱). همچنین، در تنش ۵۰ میلی مولار افزایش ۳۱۴/۱ و ۱۰۶/۹ درصدی در فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در مقایسه با شاهد ثبت شد.

۳-۴. محتوای مالون‌دی‌آلدهید

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) حاکی از آن است که محتوای مالون‌دی‌آلدهید تحت تأثیر معنی دار تنش شوری، نانوذرات و ترکیب تیماری تنش شوری با نانوذرات قرار گرفت. نتایج نشان داد که بالاترین محتوای مالون‌دی‌آلدهید به شرایط



تنش شدید بدون نانوذرات و کمترین میزان هم در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۱). همچنین، محتوای مالون دی آلدئید در شرایط تنش شدید بدون مصرف کربن کوانتوم دات در مقایسه با شاهد ۱۴۶ درصد افزایش یافت. با این حال، کاربرد ۲۰ پی پی ام کربن کوانتوم دات ۵۱/۷ درصد محتوای مالون دی آلدئید را در مقایسه با تنش شدید بدون نانوذرات کاهش داد (جدول ۱).

۴. بحث و نتیجه گیری

تحت شرایط تنش شوری، سطح پرولین و کربوهیدرات های محلول به طور قابل توجهی افزایش می یابد که این افزایش به دلیل نقش پرولین در محافظت از گیاهان در برابر آسیب های اکسیداتیو و بهبود تاب آوری گیاهان است (Ahmadi et al., 2022). در تایید نتایج ما، پژوهشگران مشاهده کردند که تنش شوری باعث افزایش سطح پرولین و کربوهیدرات های محلول شد که این افزایش را به عنوان یک مکانیسم دفاعی که در برابر استرس شوری عمل می کند توضیح دادند (Haghaninia et al., 2025). علاوه بر این، نانوذرات کربن کوانتوم دات می توانند بیان ژن های مرتبط با سنتز پرولین را تنظیم کنند که این تنظیم ژنتیکی باعث افزایش تولید پرولین و بهبود مقاومت گیاهان به تنش شوری می شود. (Gohari et al., 2021) در تطابق با یافته های ما، در مطالعه ای نشان داده شد که کاربرد نانوذرات باعث افزایش قابل توجهی در سطح پرولین و کربوهیدرات های محلول در گیاهان تحت تنش شد (Haghaninia et al., 2024). علاوه بر این، فنل ها به عنوان ترکیبات آنتی اکسیدانی با قدرت بالا، در گیاهان تحت تنش شوری به طور قابل توجهی افزایش می یابند. این افزایش به دلیل نقش فنل ها در مقابله با آسیب های اکسیداتیو و کاهش استرس سلولی است. همسو با یافته های ما، محققان گزارش کردند تنش شوری منجر به افزایش میزان فنل ها و فلاونوئیدها در گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* L) شد و این را به افزایش پاسخ دفاعی گیاهان به استرس شوری نسبت دادند (Ahmadi et al., 2022). با این وجود، استفاده از کربن کوانتوم دات بطور قابل توجهی باعث افزایش محتوای فنل ها و فلاونوئیدها در آویشن شد. کربن کوانتوم دات نه تنها به دلیل بهبود کارایی متابولیکی و کاهش آسیب های اکسیداتیو در بافت های ریشه و به دنبال آن افزایش ذخیره مواد مغذی بلکه به دلیل بهبود وضعیت آبی و جذب مواد مغذی در نهایت می تواند متابولیت های ثانویه را بهبود بخشد و منجر به کاهش اثرات زیان بار تنش می گردد (Farhangi-Abriz et al., 2024). بطور مشابه محققان نتیجه گرفتند کاربرد کربن کوانتوم دات باعث افزایش قابل توجهی در سطح فنل و فلاونوئید در گیاهان تحت تنش شد (Wang et al., 2018). علاوه بر این، افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی به دلیل تلاش گیاهان برای کاهش آسیب های ناشی از افزایش سطح پراکسید هیدروژن و رادیکال های آزاد است (Mustafa et al., 2021). با این حال، این روند با توجه به شدت و مدت زمان تنش، می تواند متفاوت باشد. در ابتدا، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی ممکن است به طور چشمگیری افزایش یابد، اما با ادامه و تشدید تنش، این فعالیت ممکن است به دلیل آسیب به سیستم آنزیمی و کاهش توانایی تولید آنزیم های جدید کاهش یابد (Haghaninia et al., 2024). با این حال، نتایج نشان داد کربن کوانتوم دات می تواند با ورود به گیاهان و انباشت در بافت های مختلف، باعث بهبود ساختار و عملکرد سلول ها شده و در نتیجه می تواند به تقویت فعالیت فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی منجر شود (Gohari et al., 2021). در این راستا محققان بیان کردند کاربرد نانوذرات کربن کوانتوم دات باعث افزایش قابل توجهی در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی تحت تنش شوری شد



(Panahirad et al., 2023). علاوه بر این، مالون دی آلدیید به عنوان یک محصول جانبی از پراکسیداسیون لیپیدها تحت شرایط تنش شوری معمولاً افزایش می یابد (Ahmadi et al., 2022). این افزایش به دلیل تولید بالای ROS و آسیب به غشاهای سلولی ناشی از تنش است (Haghaninia et al., 2024). در این شرایط، کربن کوانتوم دات می تواند با بهبود فعالیت های آنتی اکسیدانی و کاهش تولید ROS، در کاهش سطح مالون دی آلدیید موثر واقع شوند (Farhangi-Abri et al., 2024). پژوهشگران گزارش کردند کربن کوانتوم دات با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کرده و موجب کاهش مالون دی آلدیید می گردد (Panahirad et al., 2023). به طور کلی، نتایج این پژوهش تأثیر کربن کوانتوم دات (به ویژه ۲۰ پی پی ام) را به عنوان یک استراتژی مؤثر در مدیریت تنش های محیطی بر بهبود متابولیت های ثانویه و ویژگی های فیتوشیمیایی آویشن تأیید می کند که می تواند مبنای تحقیقات آینده در زمینه به کارگیری کربن کوانتوم دات در بهبود عملکرد گیاهان دارویی تحت شرایط نامساعد محیطی باشد.

منابع

- Ahmadi, F., Samadi, A., Sepehr, E., Rahimi, A., & Shabala, S. (2022). Morphological, phytochemical, and essential oil changes induced by different nitrogen supply forms and salinity stress in *Echinacea purpurea* L. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 43, 102396.
- Bahreinejad, B. (2023). A predictive method for selecting the most appropriate level of water potential for *Thymus daenensis* ssp. *daenensis* Cleak seed priming with respect to the severity of salinity or drought stress. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 34, 100453.
- Farhangi-Abri, S., Ghassemi-Golezani, K., Torabian, S., Rahimzadeh, S., Osati, F. and Safarpour, H., 2024. Response of soybean plants to the foliar application of carbon quantum dots under drought stress: A Field Study. *Journal of Plant Growth Regulation*, pp.1-11.
- Gohari, G., Panahirad, S., Sepehri, N., Akbari, A., Zahedi, S.M., Jafari, H., Dadpour, M.R. and Fotopoulos, V., 2021. Enhanced tolerance to salinity stress in grapevine plants through application of carbon quantum dots functionalized by proline. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, pp.42877-42890.
- Haghaninia, M., Memarzadeh, S., Najafifar, A., Soleimani, F. and Mirzaei, A., 2025. Impact of Silicon Nanoparticle Priming on Metabolic Responses and Seed Quality of Chia (*Salvia hispanica* L.) under Salt Stress. *Food Bioscience*, p.106119.
- Haghaninia, M., Rasouli, F., Javanmard, A., Mahdavinia, G., Azizi, S., Nicoletti, R., Murariu, O.C., Tallarita, A.V. and Caruso, G., 2024. Improvement of physiological features and essential oil content of *Thymus vulgaris* after soil amendment with chitosan nanoparticles under chromium toxicity. *Horticulturae*, 10(6): p.659.
- Mustafa, N., Raja, N. I., Ilyas, N., Ikram, M., Mashwani, Z. U. R., & Ehsan, M. (2021). Foliar applications of plant-based titanium dioxide nanoparticles to improve agronomic and physiological attributes of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants under salinity stress. *Green Processing and Synthesis*, 10(1): 246-257.
- Panahirad, S., Dadpour, M., Gohari, G., Akbari, A., Mahdavinia, G., Jafari, H., Kulak, M., Alcázar, R. and Fotopoulos, V., 2023. Putrescine-functionalized carbon quantum dot (put-CQD) nanoparticle: a promising stress-protecting agent against cadmium stress in grapevine (*Vitis vinifera* cv. *Sultana*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 197, p.107653.
- Wang, H., Zhang, M., Song, Y., Li, H., Huang, H., Shao, M., Liu, Y. and Kang, Z., 2018. Carbon dots promote the growth and photosynthesis of mung bean sprouts. *Carbon*, 136, pp.94-102.



افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه و سازگاری بیوشیمیایی اسطوخودوس تحت تنش خشکی با استفاده از نانوذرات منگنز

محمد حقانی نیا^{۱*} و علی نجفی فر^۱

^{۱*}مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی ایلام، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، ایلام، ایران.

(haghani72@gmail.com)

چکیده

اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* L.) یکی از گیاهان دارویی ارزشمند خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است که به دلیل ترکیبات فعال زیستی، کاربرد گسترده‌ای در صنایع دارویی و آرایشی دارد. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محدودکننده رشد گیاهان است که از طریق اختلال در تعادل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود. نانوفناوری به عنوان یک راهکار نوین در افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی مطرح شده است، اما اطلاعات محدودی درباره اثر نانوذرات منگنز بر اسطوخودوس تحت تنش خشکی وجود دارد. در این راستا، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه سطح تنش خشکی (۹۰، ۷۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و پنج غلظت نانوذرات منگنز (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) انجام شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی شدید موجب افزایش پراکسید هیدروژن و کاهش برخی شاخص‌های فیزیولوژیک شد. در مقابل، کاربرد نانوذرات منگنز به ویژه در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر، تأثیر مثبتی بر بهبود پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه داشت. این تیمار منجر به افزایش معنادار فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز)، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، محتوای آنتوسیانین و میزان اسانس شد. همچنین، این غلظت از نانوذرات موجب کاهش پراکسید هیدروژن و بهبود تعادل آنتی اکسیدانی گیاه گردید. به طور کلی، یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که نانوذرات منگنز، به ویژه در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر، می‌تواند با بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه، نقش مؤثری در کاهش اثرات منفی تنش خشکی و افزایش بهره‌وری گیاه اسطوخودوس ایفا کنند.

واژگان کلیدی: اسانس، امنیت غذایی، آنتوسیانین، تنش خشکی، نانوذرات



۱. مقدمه

گیاهان دارویی به دلیل تولید ترکیبات فعال بیولوژیکی که خواص درمانی متعددی دارند، در صنایع مختلف دارویی، غذایی و آرایشی مورد استفاده قرار می گیرند. اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* L.) یکی از گیاهان دارویی پرکاربرد است که به دلیل تولید اسانس های معطر و خواص درمانی متعددی که دارد، در طب سنتی و مدرن از اهمیت ویژه ای برخوردار است (Talebi et al., 2022). با این حال، تولید گیاهان دارویی تحت تأثیر تنش های محیطی نظیر خشکی قرار دارد که یکی از مهم ترین و رایج ترین چالش ها برای کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می شود (Laftouhi et al., 2024). تنش خشکی باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در گیاهان می شود که موجب تجمع گونه های فعال اکسیژن (ROS) و آسیب به ساختارهای سلولی، پروتئین ها و غشاهای سلولی شده و در نهایت می تواند کیفیت و کمیت گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد (Ilyas et al., 2023). در این راستا، محققان گزارش کردند تنش خشکی شدید باعث کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، کاهش تولید متابولیت های ثانویه و کاهش کمیت و کیفیت اسانس در اسطوخودوس می شود (Haghaninia et al., 2024). در این شرایط، استفاده از نانوذرات به عنوان محرک های مؤثر در تعدیل پاسخ های گیاهی به تنش های محیطی در سال های اخیر مورد توجه قرار گرفته است (Salehi et al., 2023). نانوذرات منگنز، به عنوان یک عنصر میکرو مغذی ضروری برای گیاهان، می توانند با تأثیر بر فعالیت های آنزیمی و سیستم های آنتی اکسیدانی، به طور مؤثری به کاهش آسیب های ناشی از استرس اکسیداتیو کمک کنند (Ilyas et al., 2023). پژوهشگران نشان دادند استفاده از نانوذرات منگنز می تواند به طور مؤثری بر پاسخ های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان تحت تنش خشکی تأثیر بگذارد و عملکرد آن ها را بهبود بخشد (Yue et al., 2023). با این وجود، تاکنون اثرات نانوذرات منگنز بر اسطوخودوس تحت تنش خشکی گزارش نشده است. از این رو، هدف این پژوهش بررسی نقش نانوذرات منگنز و تعیین غلظت بهینه بر پاسخ های بیوشیمیایی و بهبود تولید متابولیت های ثانویه اسطوخودوس تحت تنش خشکی است تا بتوان به یافته هایی دست یافت که می تواند به توسعه استراتژی های جدید، پایدار و سازگار با محیط زیست برای بهبود کمیت و کیفیت گیاهان دارویی در شرایط تنش خشکی کمک کند.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. زمان و مکان اجرای پژوهش

پژوهش حاضر در سال ۱۴۰۲ در گلخانه تحقیقاتی گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه، واقع در استان آذربایجان شرقی اجرا شد. شرایط محیطی شامل دمای روز 25 ± 2 درجه سانتی گراد و دمای شب 18 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۶۰ تا ۷۰ درصد و نور طبیعی با تناوب ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود.

۲-۲. طراحی آزمایش و تیمارها

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل آبیاری در ۹۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد)، آبیاری در ۷۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش متوسط) و آبیاری در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید) و فاکتور دوم شامل سطوح مختلف نانواکسید منگنز (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) بود.



۲-۳. آماده سازی بستر و اعمال تیمارها

جهت آماده سازی بستر کشت گیاهان اسطوخودوس، از گلدان های پنج لیتری پلاستیکی به عنوان ظروف کاشت استفاده شد. آبیاری گلدان ها تا دو هفته پس از انتقال نشاها براساس نیاز گیاه انجام شد. بعد از اینکه گیاهان کاملاً در گلدان استقرار پیدا کردند، تنش خشکی به روش وزنی انجام شد (Haghaninia et al., 2024). علاوه بر این، به منظور اعمال نانوذرات منگنز، سه روز قبل از شروع تنش جهت فعال کردن مکانیسم های دفاعی و آنتی اکسیدانی یک مرحله محلول پاشی نانوذرات انجام شد. همچنین، پس از شروع تنش، ۳ مرحله محلول پاشی به فواصل ۱۰ روز صورت پذیرفت.

۲-۴. اندازه گیری صفات

به منظور اندازه گیری فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین، اسانس، میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و پراکسید هیدروژن نمونه برداری از گیاهان پس از اتمام تنش و محلول پاشی در مرحله گلدهی انجام شد. جهت استخراج اسانس اسطوخودوس از دستگاه کلونجر (مدل فارماکوپه بریتانیا) استفاده شد (Haghaninia et al., 2024). محتوای آنتوسیانین کل با استفاده از روش (Giusti and Wrolstad, 2001) بدست آمد. علاوه بر این، فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بر اساس روش توصیه شده (Beauchamp and Fridovich, 1971) و اندازه گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نیز بر اساس روش (Upadhyaya et al., 1985) انجام شد. همچنین، عصاره گیری و اندازه گیری محتوی فنول و فلاونوئید کل به روش (Chun et al., 2003) انجام شد. علاوه بر این، مقدار هیدروژن پراکسید از طریق روش (Alexieva et al., 2001) اندازه گیری شد.

۲-۵. تجزیه آماری

داده های حاصل از سنجش پارامترهای مختلف با استفاده از نرم افزارهای SAS V9 و آزمون LSD تجزیه و تحلیل آماری شدند. تجزیه واریانس داده ها با ضریب اطمینان ۹۵٪ صورت گرفت.

۳. نتایج

۳-۱. فنل و فلاونوئید

محتوای فنل و فلاونوئید اسطوخودوس به طور قابل توجهی تحت تأثیر تنش خشکی، کاربرد نانوذرات منگنز و اثر متقابل هر دو عامل قرار گرفتند (جدول ۱). بیشترین محتوای فنل و فلاونوئید اسطوخودوس در شرایط تنش خشکی متوسط و با کاربرد ۱۰۰ میلی گرم نانوذرات منگنز بدست آمد، در حالی که کمترین محتوای صفات مذکور در شرایط آبیاری نرمال بدون کاربرد نانوذرات حاصل شد (جدول ۲). همچنین، کاربرد ۱۰۰ میلی گرم نانوذرات منگنز در شرایط تنش متوسط، محتوای فنل و فلاونوئید را به ترتیب ۱۰۴/۶ و ۹۳/۴ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داد (جدول ۲).



جدول ۱- تجزیه واریانس متابولیت‌های ثانویه و پاسخ‌های بیوشیمیایی اسطوخودوس تحت سطوح تنش خشکی با کاربرد

نانوذرات منگنز

میانگین مربعات (MS)							
منابع تغییرات	درجه آزادی	فلانوتید	فنل	اسانس	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	پراکسید هیدروژن
تنش خشکی	۲	۷۲۵/۸۴**	۳۷۵۸/۴۴**	۳/۴۴**	۲۵/۹۷**	۲۷/۳۱**	۶/۴۱**
نانوذرات منگنز	۴	۲۸۴/۳۹**	۴۶۷/۸۷**	۱/۲۸**	۰/۶۱**	۶/۹۷**	۱/۲۹**
تنش × نانوذرات	۸	۱۱/۸۷**	۹۴/۲۳**	۰/۱۱۹**	۰/۱۵**	۱/۰۲**	۰/۰۸**
خطا		۱/۷۹	۲/۱۸	۰/۰۰۳	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۱
ضریب تغییرات (%)		۳/۷۲	۲/۳۹	۴/۳۶	۵/۲۱	۳/۸۶	۶/۴۴

^{ns} عدم اختلاف معنی‌دار، ** بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و * بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر نانوذرات منگنز بر متابولیت‌های ثانویه و پاسخ‌های بیوشیمیایی اسطوخودوس تحت تنش خشکی

تیماها	غلظت‌های نانوذرات	فنل (میلی گرم بر گرم وزن (تر)	فلانوتید (میلی گرم بر گرم وزن (تر)	محتوا ی اسانس (درصد)	آنتوسیانین (میلی گرم بر گرم وزن (تر)	آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی در میلی گرم پروتئین)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد آنزیمی در میلی گرم پروتئین)	پراکسید هیدروژن ن (میکرو مول بر گرم وزن تر)
شاهد (عدم مصرف)	۲۵ میلی گرم منگنز	۴۱/۵۴j	۲۴/۸۱k	۰/۶۳۲k	۰/۲۱۴k	۱/۵۳۱k	۳/۲۳۴k	۰/۷۹۱l
عدم تنش (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)	۵۰ میلی گرم منگنز	۴۴/۶۴i	۲۸/۹۹i	۰/۸۶۵ij	۰/۳۰۴h	۲/۰۶۶hi	۳/۵۷۴j	۱/۳۸۱ij
	۱۰۰ میلی گرم منگنز	۴۶/۸۷i	۲۷/۰۸j	۰/۸۲۱j	۰/۲۶۹ij	۲/۲۳۱gh	۴/۰۹۶i	۱/۲۶۹j
	۲۰۰ میلی گرم منگنز	۵۷/۷۲h	۳۴/۲۳g	۰/۹۰۷i	۰/۲۴۵j	۱/۹۸۱ij	۴/۴۳۹h	۱/۰۲۸k
	شاهد (عدم مصرف)	۶۱/۷۳g	۲۸/۲۶ij	۱/۰۱۲h	۰/۲۸۸hi	۱/۷۶۶j	۴/۶۷۶gh	۱/۴۸۴hi
تنش خشکی متوسط (۷۰ درصد ظرفیت زراعی)	۲۵ میلی گرم منگنز	۶۷/۶۸e	۳۴/۸۵fg	۱/۳۳۱f	۰/۳۱۲gh	۲/۸۴۵f	۵/۰۲۹f	۲/۲۱۹c
	۵۰ میلی گرم منگنز	۸۰/۳۲b	۴۳/۴۴bc	۲/۰۶۷a	۰/۳۵۴ef	۴/۲۰۱bc	۷/۱۹۲b	۱/۸۶۴ef
	۱۰۰ میلی گرم منگنز	۷۸/۷۲bc	۴۴/۲۷b	۱/۱۹۵g	۰/۴۲۰d	۴/۳۳۹ab	۶/۷۳۴c	۱/۷۹۸fg
	۲۰۰ میلی گرم منگنز	۸۴/۹۸a	۴۸/۲۱a	۲/۱۳۲a	۰/۳۳۵fg	۴/۵۱۴a	۷/۵۵۱a	۱/۷۱۱fg
	شاهد (عدم مصرف)	۷۷/۳۷c	۳۹/۳۱d	۱/۷۵۶c	۰/۳۴۴f	۳/۸۴۶d	۵/۹۰۹d	۱/۹۹۳de
تنش خشکی شدید (۵۰ درصد ظرفیت زراعی)	۲۵ میلی گرم منگنز	۶۳/۱۶fg	۳۱/۰۳h	۱/۱۸۷g	۰/۳۷۸e	۲/۲۴۲g	۴/۷۹۱fg	۲/۷۹۱a
	۵۰ میلی گرم منگنز	۶۹/۸۳de	۴۱/۸۹c	۲/۰۴۴b	۰/۴۶۲bc	۲/۹۴۶ef	۵/۵۵۸e	۲/۶۲۴ab
	۱۰۰ میلی گرم منگنز	۷۶/۵۴c	۳۶/۲۶ef	۱/۶۰۱d	۰/۵۱۹a	۴/۰۳۹cd	۶/۴۴۹c	۲/۴۹۳b
	۲۰۰ میلی گرم منگنز	۶۴/۲۱f	۳۷/۸۱de	۱/۳۷۲f	۰/۴۴۲cd	۳/۱۳۳e	۵/۳۸۱e	۲/۱۲۸cd
LSD		۲/۲۴	۱/۹۰	۰/۰۸۴	۰/۰۲۹	۰/۲۲۳	۰/۲۹۲	۰/۱۶۶

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری بین داده‌ها در آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد



۳-۲. محتوای آنتوسیانین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تنش خشکی، کاربرد نانوذرات منگنز و اثر متقابل تنش خشکی و نانوذرات منگنز بر محتوای آنتوسیانین اسطوخودس معنی دار بود (جدول ۱). بیشترین میزان آنتوسیانین با کاربرد ۱۰۰ میلی گرم نانوذرات منگنز در شرایط تنش شدید ثبت شد. کمترین محتوای آنتوسیانین نیز به تیمار شاهد مربوط بود (جدول ۲). در شرایط تنش خشکی شدید محتوای آنتوسیانین با استفاده از ۱۰۰ میلی گرم نانوذرات منگنز در مقایسه با شاهد ۱۴۲/۵ درصد افزایش یافت (جدول ۲).

۳-۳. محتوای اسانس

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که محتوای اسانس اسطوخودس تحت تأثیر معنی دار تنش خشکی، کاربرد نانوذرات منگنز و اثر متقابل این دو فاکتور قرار گرفت (جدول ۱). حداکثر محتوای اسانس با کاربرد ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات منگنز تحت شرایط تنش متوسط بدست آمد و کمترین میزان اسانس هم در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۲). علاوه بر این، استفاده از ۱۰۰ میلی گرم نانوذرات منگنز در شرایط تنش متوسط در مقایسه با شاهد ۲۳۷/۳ درصد و نسبت به تنش شدید بدون کاربرد نانوذرات منگنز ۸۰/۶ درصد افزایش یافت (جدول ۲).

۳-۴. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز)

تجزیه واریانس نشان داد که تنش خشکی، کاربرد نانوذرات منگنز و اثر متقابل آن‌ها بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز معنی دار بود (جدول ۱). بیشترین فعالیت آنزیم‌های نام برده شده در شرایط تنش متوسط و با استفاده از ۱۰۰ میلی گرم نانوذرات منگنز حاصل شد و کمترین آن‌ها هم به تیمار شاهد تعلق داشت (جدول ۲). همچنین، کاربرد ۱۰۰ میلی گرم نانوذرات منگنز در شرایط تنش متوسط فعالیت این آنزیم‌ها را در مقایسه با شاهد به ترتیب ۱۹۴/۸ و ۱۳۳/۴ درصد و در مقایسه با تنش شدید بدون مصرف نانوذرات ۱۰۱/۳ و ۵۷/۷ درصد افزایش داد (جدول ۲).

۳-۵. پراکسید هیدروژن

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنش خشکی، کاربرد نانوذرات منگنز و اثرات متقابل هردو عامل بر محتوای پراکسید هیدروژن معنی دار شد (جدول ۱). حداکثر محتوای پراکسید هیدروژن در شرایط تنش شدید بدون کاربرد نانوذرات منگنز مشاهده شد، در حالی که کمترین آن در تیمار شاهد ثبت شد. علاوه بر این، کاربرد ۱۰۰ میلی گرم نانوذرات منگنز در شرایط عدم تنش، محتوای پراکسید هیدروژن را در مقایسه با تنش شدید بدون نانوذرات ۶۳/۱ درصد کاهش داد (جدول ۲).

۴. بحث و نتیجه گیری

افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی تحت تنش یکی از پاسخ‌های دفاع آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی می‌باشد (Laftouhi et al., 2024). پژوهشگران اظهار داشتند فنل‌ها و فلاونوئیدها به عنوان مولکول‌های دفاعی موجب کاهش تولید ROS شده و



در نهایت محافظت از ساختارهای سلولی در برابر تنش خشکی را به همراه دارند (Haghaninia et al., 2024). علاوه بر این، نانوذرات منگنز می توانند به عنوان یک مکانیزم دفاعی می تواند پایداری غشای سلولی را افزایش و به محافظت از گیاه در برابر آسیب های ناشی از استرس نقش آفرینی می کنند (Yue et al., 2023). همسو با یافته های ما، پژوهشگران اظهار داشتند نانوذرات با بهبود محتوای فنل و فلاونوئید، جذب مواد مغذی، افزایش فعالیت های آنتی اکسیدانی و کاهش آسیب های اکسیداتیو در نتیجه مقاومت گیاه در برابر شرایط تنش خشکی را افزایش می دهند (Ilyas et al., 2023). از سوی دیگر، با توجه به نقش حفاظت نوری آنتوسیانین به وسیله حذف مستقیم ROS ها در طول تنش اکسیداتیو، شرایط تنش منجر به القای تجمع آنتوسیانین ها شده که می تواند به عنوان آنتی اکسیدان، خاموش کننده و یا جاروب کننده گونه های فعال اکسیژن در گیاهان نقش به سزایی داشته باشد (Farnoosh et al., 2024). همچنین، افزایش محتوای آنتوسیانین با کاربرد نانوذرات را می توان با افزایش محتوای اسمولیت های سازگار مانند پرولین و قندهای محلول و همچنین حفظ تعادل آبی سلول به منظور افزایش مقدار آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی در شرایط تنش توضیح داد (Amer et al., 2024). علاوه بر این، در شرایط خشکی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی افزایش می یابند. این آنزیم ها نه تنها به طور مؤثر رادیکال های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می کند، بلکه به تجزیه پراکسید هیدروژن کمک می کنند و از تولید رادیکال های آزاد بیشتر جلوگیری می کنند (Ilyas et al., 2023). در این شرایط، نانوذرات منگنز با رادیکال های آزاد واکنش داده و به افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و کاهش پراکسید هیدروژن منجر می شود (Yue et al., 2023). همسو با یافته های ما، پژوهشگران نتیجه گرفتند نانوذرات منگنز با خاصیت جاذب رادیکال های آزاد و بهبود فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی موجب کاهش سطح استرس اکسیداتیو می شوند (Salehi et al., 2023). علاوه بر این، تولید متابولیت های ثانویه برای سازگاری گیاهان نسبت به عوامل نامساعد و تنش های محیطی اتفاق می افتد و به عنوان یک راهکار دفاعی مؤثر در برابر تنش های مختلف در نظر گرفته می شود (Talebi et al., 2022). از این رو، در شرایط تنش خشکی، تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان دارویی افزایش می یابد (Laftouhi et al., 2024). با این حال، در تنش های شدیدتر، مواد فتوسنتزی تولید شده برای بقای حیات تخصیص یافته و در نهایت اسانس تولیدی کاهش می یابد (Haghaninia et al., 2024). در مقابل، کاربرد نانوذرات با افزایش فعالیت آنزیمی موجب کاهش اثرات زیان بار تنش شده و در نتیجه با بهبود فعالیت فتوسنتزی می تواند منجر به توسعه غده های ترشح کننده اسانس و افزایش درصد اسانس گردد (Talebi et al., 2022). در مجموع، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات منگنز می تواند با بهبود تولید متابولیت های ثانویه و تعدیل پاسخ های بیوشیمیایی، راهکاری مناسب برای افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی و اقتصادی اسطوخودوس در شرایط نرمال و تنش خشکی باشد.

منابع

- Amer, H. M., Hendawy, S. F., Liu, J., & Soliman, W. S. (2024). Impact of zinc and manganese on oregano (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum*) growth and essential oil composition. *Egyptian Journal of Chemistry*, 67(9): 139-149.
- Farnoosh, S., Masoudian, N., Safipour Afshar, A., Nematpour, F. S., & Roudi, B. (2024). Foliar-applied iron and zinc nanoparticles improved plant growth, phenolic compounds, essential oil yield, and rosmarinic



- acid production of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 31(25): 36882-36893.
- Haghaninia, M., Javanmard, A., Radicetti, E., Rasouli, F., Ruiz-Lozano, J. M., & Sabbatini, P. (2024). Adoption of arbuscular mycorrhizal fungi and biochar for alleviating the agro-physiological response of lavender (*Lavandula angustifolia* L.) subjected to drought stress. *Plant Stress*, 12, 100461.
- Ilyas, M. Z., Park, H., Baek, Y. S., Sa, K. J., Kim, M. J., & Lee, J. K. (2023). Efficacy of carbon nanodots and manganese ferrite (MnFe₂O₄) nanoparticles in stimulating growth and antioxidant activity in drought-stressed maize inbred lines. *Plants*, 12(16): 2922.
- Laftouhi, A., Mahraz, M. A., Hmamou, A., Assouguem, A., Ullah, R., Bari, A., & Taleb, M. (2024). Analysis of primary and secondary metabolites, physical properties, antioxidant and antidiabetic activities, and chemical composition of rosmarinus officinalis essential oils under differential water stress conditions. *ACS omega*, 9(14): 16656-16664.
- Salehi, H., Cheheregani Rad, A., Raza, A., Djalovic, I., & Prasad, P. V. (2023). The comparative effects of manganese nanoparticles and their counterparts (bulk and ionic) in *Artemisia annua* plants via seed priming and foliar application. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1098772.
- Talebi, S. M., Askary, M., Amiri, R., Sangi, M. R., & Matsyura, A. (2022). Effects of nanoparticles treatments and salinity stress on the genetic structure and physiological characteristics of *Lavandula angustifolia* Mill. *Brazilian Journal of Biology*, 82, e261571.
- Yue, L., Xie, B., Cao, X., Chen, F., Wang, C., Xiao, Z., & Wang, Z. (2023). The mechanism of manganese ferrite nanomaterials promoting drought resistance in rice. *Nanomaterials*, 13(9): 1484.



اثر نهاده‌های تغذیه‌ای مختلف بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی زیره سبز در شرایط کم آبیاری

محمد سپهری بیمرغی^۱، فرزاد نجفی^۱ و محمد بهزاد امیری^{۲,۳}

^۱ پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران.

^۲ گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی گناباد، گناباد. (amiri@gonabad.ac.ir)

^۳ گروه آگرو تکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی، مشهد.

چکیده

به منظور بررسی اثر نهاده‌های بوم‌سازگار بر برخی خصوصیات کمی و کیفی زیره سبز، آزمایشی در سال‌های زراعی ۱۴۰۱-۱۳۹۹ به صورت کرت‌های خرد شده در زمان، در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در مجتمع آموزش عالی گناباد با سه تکرار انجام شد. سه سطح آبیاری شامل آبیاری کامل (۵۰ درصد تبخیر از تشت تبخیر)، کم آبیاری (۷۰ درصد تبخیر از تشت تبخیر) و شرایط دیم در کرت‌های اصلی و محلول‌پاشی اسید هیومیک و اسید آمینه گلوتن گندم و کاربرد باکتری باسیلوس و شاهد (عدم استفاده از کود) در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. نتایج آزمایش نشان داد که کاربرد محلول‌پاشی اسید هیومیک، اسید آمینه گلوتن و کاربرد باکتری باسیلوس، منجر به افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته، تعداد ساقه فرعی و وزن برگ و ساقه در بوته در مقایسه با تیمار شاهد شدند. بیشترین (۰/۰۶ گرم) و کمترین (۰/۰۴ گرم) وزن ریشه در بوته به ترتیب در تیمارهای اسید آمینه و شاهد مشاهده شد و محلول‌پاشی اسید آمینه افزایش ۳۳ درصدی وزن ریشه در بوته را نسبت به تیمار شاهد در پی داشت. استفاده از باسیلوس و اسید هیومیک در شرایط کم آبیاری از اثرات منفی تنش خشکی کاست و به ترتیب افزایش ۳۵ و ۳۱ درصدی تعداد چتر در بوته را در مقایسه با تیمار شاهد سبب شد. محلول‌پاشی اسید آمینه کاهش Cuminic aldehyde را نسبت به تیمار شاهد سبب شد، ولی از این نظر بین تیمارهای باسیلوس و اسید هیومیک با شاهد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. به طور کلی با توجه به یافته‌های این پژوهش، کاربرد نهاده‌های بوم‌سازگار در شرایط تنش خشکی در کاهش خسارات ناشی از تنش خشکی مؤثر بود.

واژگان کلیدی: توسعه پایدار، تنش خشکی، شرایط دیم، کیفیت اسانس، کود زیستی



۱. مقدمه

زیره سبز با نام علمی *Cuminum cyminum* L.، گیاهی علفی، یک ساله و معطر از خانواده چتریان است (رهگشاهی و همکاران، ۱۴۰۱). اسانس موجود در بذور این گیاه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد نفخ، ضد باکتری و ضد عفونی کننده می باشد (مرتضویان و همکاران، ۱۴۰۰). در طب سنتی زیره سبز به عنوان یک داروی ضد چاقی، ضد تشنج، ضد صرع، مدر و مقوی معده مورد استفاده بوده است. در طب امروزی نیز این گیاه در درمان قاعدگی دردناک، ضد اسپاسم و به عنوان افزایش دهنده شیر مادر کاربرد دارد (محمودی و همکاران، ۱۴۰۰).

آب یکی از عوامل محدود کننده مهم تولید محصولات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک جهان می باشد (Ahmadipour et al., 2019). خشکی به طور کلی منجر به تغییر در صفات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی، اکولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی گیاهان شده و می تواند بر کمیت و کیفیت رشد و عملکرد گیاهان تأثیر منفی داشته باشد (Salehi-Lisar & Bakhshayeshan-Agdam, 2020). تنش خشکی منجر به بروز علائمی نظیر چرخاندن، زرد شدن، سوختگی و پژمردگی دائم برگ می شود (Corso et al., 2020).

در دهه های اخیر استفاده از کودهای آلی دارای اسید هیومیک، به منظور افزایش رشد کمی و کیفی محصولات کشاورزی و بهبود بازده اقتصادی حاصل از آنها، مورد توجه قرار گرفته است. اسید هیومیک از طریق افزایش نفوذپذیری غشای سلولی، بهبود فرآیندهای متابولیسمی و کارایی فتوسنتزی و همچنین فعال کردن آنزیم ها و طولیل شدن سلول ها بهبود کمیت و کیفیت تولیدات کشاورزی را در پی دارد (Aalipour et al., 2019).

اسیدهای آمینه یکی از محرک های زیستی معروف هستند که اثرات مثبت متعددی بر روی گیاهان دارند که از جمله مهم ترین آنها می توان به نقش مثبت این نهاده بر رشد، افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه، کاهش قابل ملاحظه صدمات ناشی از تنش های غیرزیستی و تأثیر مستقیم یا غیرمستقیم بر فعالیت های فیزیولوژیکی، انجام فعالیت های متابولیسمی، ساختاری و مبادلاتی در گیاهان (Aminifard et al., 2020) و همچنین کمک به بهبود و تقویت تنفس سلولی، افزایش غلظت کلروفیل و در نتیجه تأثیر بر فتوسنتز، سنتز پروتئین و رشد گیاه (Sanikhani et al., 2020) اشاره کرد.

باکتری های جنس باسیلوس یکی از پرکاربردترین اجزاء محصولات بیولوژیکی هستند که به عنوان کود زیستی از طریق در دسترس قرار دادن عناصر غذایی برای گیاه عملکرد کمی و کیفی محصولات مختلف را افزایش می دهند (Saxena et al., 2019). باکتری های باسیلوس تحمل گیاه را به تنش های محیطی افزایش داده و از طریق تولید هورمون های محرک رشد منجر به افزایش تولیدات کشاورزی می شود (Jabborova et al., 2021).

از آنجایی که به نظر می رسد کاربرد نهاده هایی نظیر اسیدهای آلی و اسیدهای آمینه و استفاده از کودهای زیستی بتواند تا حدودی اثر منفی تنش کمبود آب را در گیاه زیره سبز کاهش دهد، هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر نهاده های تغذیه ای مختلف بر برخی خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی زیره سبز در شرایط کم آبیاری بود.



۲. مواد و روش ها

۲-۱. منطقه مورد مطالعه

این پژوهش در دو سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ و ۱۴۰۱-۱۴۰۰ در مزرعه آموزشی تحقیقاتی مجتمع آموزش عالی گناباد انجام شد. آزمایش به صورت کرت های خرد شده در زمان در قالب طرح پایه ی بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد.

۲-۲. روش تحقیق

سه سطح آبیاری شامل آبیاری کامل (۵۰ درصد تبخیر از تشت تبخیر)، کم آبیاری (۷۰ درصد تبخیر از تشت تبخیر) و شرایط دیم در کرت های اصلی و محلول پاشی اسید هیومیک و اسید آمینه گلوتن گندم و کاربرد باکتری باسیلوس سوبتیلیس و شاهد (عدم استفاده از کود) در کرت های فرعی قرار گرفتند.

توده بذری انتخاب شده (توده محلی گناباد) ۳۰ دی ماه (ریوندی و همکاران، ۱۳۹۹) هر دو سال زراعی، طبق نقشه کاشت در کرت های آزمایشی (ابعاد کرت های اصلی ۸×۲ متر و کرت های فرعی ۲×۲ متر) در ردیف هایی به فاصله ی ۲۵ سانتی متر و با فاصله روی ردیف ۲ سانتی متر از یکدیگر کشت شد. هم زمان با کاشت و به منظور اعمال باکتری باسیلوس مطابق با توصیه شرکت تولید کننده مقدار یک لیتر در هکتار از این کود با بذر مربوطه آغشته شد، ضمن اینکه در هر دو سال زراعی مورد مطالعه، این کود در مرحله ی شش تا هفت برگی همراه با آب آبیاری به کرت های مربوطه اضافه گردید. اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت به روش نشتی انجام شد و آبیاری های بعدی بسته به تیمارهای آبیاری اعمال گردید. محلول پاشی اسید هیومیک و اسید آمینه گلوتن گندم طی دو مرحله و در مرحله ۴ تا ۶ برگی و مرحله گلدهی انجام شد. برای رسیدن به تراکم مناسب (۲۰۰ بوته در متر مربع) (نخزری مقدم، ۱۳۸۸)، پس از رسیدن گیاه به مرحله ی ۴ برگی عملیات تنک انجام گرفت.

در هر دو سال زراعی، در اواخر فصل رشد، با آغاز مرحله ی رسیدگی دانه ها و خشک شدن اندام هوایی گیاه، از هر کرت پنج بوته به صورت تصادفی از ردیف های میانی جهت اندازه گیری صفات مورد نظر انتخاب شدند. در این مرحله از آزمایش، برخی صفات مورفولوژیکی و اجزای عملکرد نظیر ارتفاع بوته، تعداد ساقه فرعی در بوته، وزن خشک اندام هوایی، وزن و طول ریشه، وزن برگ، تعداد چتر در بوته، تعداد دانه در چتر، تعداد دانه در بوته و وزن هزار دانه مورد اندازه گیری قرار گرفتند. به منظور تعیین عملکرد دانه و بیولوژیک، کل بوته های کرت های آزمایشی با رعایت اثر حاشیه برداشت و وزن دانه و وزن کل آن ها اندازه گیری شدند. شاخص برداشت از نسبت عملکرد دانه به عملکرد بیولوژیک ضرب در صد به دست آمد.

به منظور ارزیابی مواد مؤثره و اجزاء تشکیل دهنده اسانس، بذرها پس از جمع آوری، در سایه و در دمای اتاق خشک گردیدند. نمونه ها پس از خشک شدن در پاکت های کاغذی نگهداری و جهت استخراج اسانس به آزمایشگاه گیاهان دارویی گروه کشاورزی پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهران منتقل شدند. برای استخراج اسانس از روش تقطیر با آب استفاده گردید. برای اندازه گیری بازده اسانس، بذور با استفاده از کلونجر اسانس گیری شده و بازده تولید اسانس بر حسب وزن اسانس به دست آمده نسبت به وزن بذور بیان گردید. برای تشخیص درصد ترکیبات اسانس، از دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل تراپس (شرکت ترموفینیگان) مجهز به ستون سیلیکا ذوب شده از نوع DB-5 به طول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برای شناسایی نوع ترکیبات اسانس نیز از دستگاه گاز



کروماتوگرافی متصل شده با طیف سنج جرمی مدل ترایس (شرکت ترموفینیگان) مجهز به ستون سلیکا ذوب شده از نوع DB-5 به طول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری SAS Ver. 9.4 و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

۳. نتایج

کاربرد باسیلوس و اسید هیومیک در شرایط کم آبیاری به ترتیب منجر به افزایش ۴۴ و ۴۹ درصدی وزن ساقه در بوته نسبت به شاهد شد (جدول ۱). محلول پاشی اسید هیومیک در شرایط کم آبیاری افزایش ۵۷ درصدی وزن ریشه در بوته نسبت به تیمار شاهد را سبب شد، ولی کاربرد این اسید آلی در شرایط دیم تأثیر معنی داری بر وزن ریشه در بوته در مقایسه با شاهد نداشت (جدول ۱). اثرات متقابل آبیاری و منابع تغذیه‌ای اثر معنی داری بر صفات تعداد چتر در بوته، وزن بذریه در بوته، وزن هزار دانه و شاخص برداشت داشت، در صورتی که اثر متقابل این عوامل بر صفات تعداد چتر در بوته، تعداد دانه در بوته، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک معنی دار نبود. محلول پاشی اسید آمینه در شرایط دیم منجر به کاهش خسارات ناشی از تنش خشکی شد و تعداد چتر در بوته را ۴۱ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (جدول ۱). استفاده از نهاده‌های بوم سازگار باسیلوس و اسید هیومیک در شرایط کم آبیاری از شدت تنش خشکی کاست و به ترتیب افزایش ۳۵ و ۳۱ درصدی تعداد چتر در بوته را در مقایسه با تیمار شاهد سبب شد (جدول ۱). کاربرد باسیلوس چه در شرایط کم آبیاری و چه در شرایط دیم به ترتیب افزایش ۱۸ و ۱۶ درصدی تعداد دانه در بوته نسبت به تیمار شاهد را در پی داشت (جدول ۱). محلول پاشی اسید هیومیک در شرایط کم آبیاری و کاربرد اسید آمینه در شرایط دیم به ترتیب منجر به افزایش ۱۹ و ۱۴ درصدی تعداد دانه در بوته در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول ۱). وزن بذریه در بوته در شرایط کم آبیاری تحت تأثیر منابع تغذیه‌ای باسیلوس و اسید هیومیک به ترتیب ۴۹ و ۵۲ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت، ولی تفاوت این تیمارها در شرایط دیم از نظر وزن بذریه در بوته نسبت به تیمار شاهد معنی دار نبود (جدول ۱). استفاده از کود زیستی باسیلوس در شرایط دیم منجر به افزایش معنی دار و ۱۵ درصدی وزن هزار دانه و ۱۳ درصدی شاخص برداشت نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۱).

اثرات ساده و متقابل سطوح آبیاری و منابع تغذیه‌ای بر Cuminic aldehyde, γ -Terpinene, p-cymene, β -pinene و γ -Terpinene-7-al معنی دار بود، ولی درصد اسانس تحت تأثیر معنی دار این تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. کاربرد کلیه نهاده‌های بوم سازگار مورد مطالعه، کاهش معنی دار مقدار β -pinene را نسبت به شاهد سبب شدند، به طوری که هریک از نهاده‌های اسید آمینه، باسیلوس و اسید هیومیک به ترتیب کاهش ۰/۱، ۵ و ۴ درصدی β -pinene را در مقایسه با تیمار شاهد در پی داشتند (جدول ۲). مقدار p-cymene نیز در تیمار شاهد بیشتر از سایر تیمارهای مورد مطالعه بود و در مقایسه بین نهاده‌های تغذیه‌ای بیشترین مقدار p-cymene (۶/۸۳ درصد) در تیمار اسید آمینه مشاهده شد (جدول ۲). محلول پاشی اسید آمینه منجر به افزایش ۳ درصدی γ -Terpinene نسبت به تیمار شاهد شد. بیشترین مقدار در ترکیب γ -Terpinene-7-al (۳۵/۲۱ درصد) در شرایط محلول پاشی اسید هیومیک به دست آمد (جدول ۲). محلول پاشی اسید آمینه کاهش Cuminic aldehyde را نسبت به



تیمار شاهد سبب شد، ولی از این نظر بین تیمارهای *باسیلوس* و اسید هیومیک با شاهد تفاوت معنی داری وجود نداشت (جدول ۲). کاربرد اسید آمینه در شرایط آبیاری کامل مقدار *p-cymene* را ۲۸ درصد نسبت به کاربرد این کود در شرایط دیم افزایش داد (جدول ۳).

در شرایط کم آبیاری مقدار ترکیب γ -Terpinene-7-al در شرایط محلول پاشی اسید هیومیک بیشتر از محلول پاشی اسید آمینه بود، گرچه از این نظر تفاوت معنی داری بین تیمار اسید هیومیک و شاهد وجود نداشت (جدول ۳). همان طور که در جدول ۲ مشاهده می شود، در کلیه اجزای اسانس مورد مطالعه به جز γ -Terpinene بیشترین مقدار مواد مؤثره در شرایط آبیاری کامل به دست آمد و نتایج مقایسه شرایط کم آبیاری و دیم نشان داد که مقدار ترکیبات کیفی گیاه در شرایط دیم نسبت به کم آبیاری کمتر بود. شرایط دیم منجر به تولید بیشترین مقدار γ -Terpinene (۲۶/۳۰ درصد) شد و مقدار این ماده در شرایط کم آبیاری ۳ درصد بیشتر از شرایط آبیاری کامل بود (جدول ۲).

۴. بحث و نتیجه گیری

به نظر می رسد احتمالاً تنش خشکی از طریق ایجاد محدودیت در فرآیندهای سوخت و سازی و کاهش هدایت روزنه ای و محتوای کلروفیل برگ و به تبع آن میزان فتوسنتز و همچنین ترغیب گیاه به اختصاص مواد غذایی به اندام های در معرض تنش های محیطی منجر به کاهش عملکرد و اجزای عملکرد گیاه شده است (Behdad et al., 2021; Raza et al., 2021). قریب و همکاران (Gharib et al., 2008) نشان دادند که اثر ترکیبی باکتری های جنس *باسیلوس* و باکتری های تثبیت کننده نیتروژن باعث افزایش γ -Terpinene، α -Terpinene، phellandrene و myrcene و کاهش مقدار *cis-sabinene hydrate* نسبت به شاهد در گیاه مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) گردید. در برخی مطالعات گزارش شده است که تنش خشکی به دلیل ایجاد اختلال در فرآیندهای متابولیکی و سوخت و ساز گیاه دارای اثر منفی بر ویژگی های کیفی گیاهان است (Salehi-Lisar & Bakhshayeshan-Agdam, 2020). (ملافیلابی و اسفندیاری، ۱۳۹۷) پس از بررسی مقادیر مختلف آبیاری در زیره سبز گزارش کردند که بیشترین عملکرد دانه و بیولوژیک در شرایط آبیاری کامل به دست آمد. در پژوهشی دیگر، تیمار آبیاری ۱۵۰ میلی لیتر منجر به تولید بیشترین میزان فلاونوئید و فنول برگ و تیمار آبیاری ۲۰۰ میلی لیتر تولید بیشترین میزان فنول دانه زیره سبز را سبب شد (Alinian et al., 2016).

به طور کلی با توجه به یافته های این پژوهش، چنانچه امکان آبیاری کامل در مزرعه زیره سبز وجود داشته باشد، می توان به بالاترین عملکرد کمی و کیفی گیاه دست یافت و اگر به هر دلیلی شرایط برای آبیاری کامل مزرعه فراهم نبود، حداقل انجام کم آبیاری در مقایسه با شرایط دیم توصیه می شود و همچنین نتایج نشان داد که کاربرد نهاده های بوم سازگار در شرایط تنش خشکی در کاهش خسارات ناشی از تنش خشکی مؤثر بود.



جدول ۱. مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف آبیاری و کاربرد نهاده‌های بوم سازگار بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و عملکرد زیره سبز

ارتفاع بوته (cm)	تعداد ساقه فرعی در بوته	وزن برگ در بوته (g)	وزن ساقه در بوته (g)	وزن ریشه در بوته (g)	طول ریشه (cm)	تعداد چتر در بوته
آبیاری کامل						
21.79a	4.10ab	0.26abc	0.65ab	0.10a	8.22a	32.75a
21.57a	4.25a	0.28ab	0.74a	0.05bcde	8.00a	32.25a
21.02ab	4.05ab	0.31a	0.61bc	0.08ab	7.16ab	30.30a
19.22ab	3.25cd	0.16def	0.51cd	0.05bcde	7.10ab	18.15bc
کم آبیاری						
19.90ab	3.71abcd	0.16def	0.32ef	0.05bcde	6.77ab	16.91cd
18.75ab	3.61abcd	0.20bcd	0.39de	0.06bcd	6.24ab	21.40b
18.95ab	3.91abc	0.17cde	0.43de	0.07bc	7.20ab	20.05bb
16.85ab	3.20d	0.17cde	0.22fg	0.03cde	5.67ab	13.90de
دیم						
17.00ab	3.53bcd	0.13def	0.21fg	0.04cde	5.35ab	13.01de
16.31ab	3.08d	0.10def	0.15g	0.03de	4.65b	10.75ef
16.37ab	3.21d	0.10ef	0.17g	0.03e	5.48ab	8.73f
15.17b	2.48e	0.07f	0.12g	0.03e	4.49b	7.65f
تعداد چترک در بوته	تعداد دانه در بوته	وزن بذر در بوته (g)	وزن هزار دانه (g)	عملکرد دانه (kg.ha ⁻¹)	عملکرد بیولوژیک (kg.ha ⁻¹)	شاخص برداشت (درصد)
آبیاری کامل						
3.96a	4.85a	1.84ab	3.97abc	766.05a	1566.47a	49.57a
3.86a	4.75a	1.98a	3.69bcd	654.22a	1358.66a	48.54a
3.76a	4.41ab	1.53bc	4.33a	720.01a	1458.73a	49.79a
3.66a	4.36ab	1.24cd	3.85abcd	627.43a	1303.53a	49.45a
کم آبیاری						
3.81a	4.15bcd	0.70e	3.98abc	286.77b	643.48b	44.88abc
3.70a	4.43ab	1.05d	3.98abc	309.08b	654.50b	47.25ab
4.01a	4.50ab	1.12d	3.99abc	328.97b	704.50b	47.17ab
3.55a	3.63de	0.54ef	3.96abc	255.19b	570.86b	44.15abc
دیم						



40.24c	571.10b	226.64b	3.47d	0.54ef	4.05bcd	3.36a	اسید آمینه
49.05a	521.69b	254.95b	4.14ab	0.45ef	4.16bc	3.85a	باسیلوس
40.78c	474.13b	198.63b	3.43d	0.45ef	3.73cde	3.33a	هیومیک
42.64bc	436.90b	188.54b	3.50cd	0.28f	3.50e	3.26a	شاهد

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، بر اساس آزمون دانکن، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند

جدول ۲. مقایسه میانگین برخی ویژگی‌های کیفی زیره سبز تحت تأثیر سطوح مختلف آبیاری و منابع تغذیه‌ای

منابع مختلف تغذیه‌ای				سطوح مختلف آبیاری			
شاهد	هیومیک	باسیلوس	اسید آمینه	دیم	کم آبیاری	آبیاری کامل	
14.11a	13.58c	13.41d	14.09b	13.26c	13.74b	14.39a	β -pinene (%)
6.96a	6.29d	6.33c	6.83b	5.72c	6.72b	7.36a	p-cymene (%)
25.86b	25.08d	25.53c	26.66a	26.30a	25.66b	25.38c	γ -Terpinene (%)
13.62a	13.55a	13.24a	12.56b	12.85c	13.37a	13.52a	Cuminic aldehyde (%)
33.84c	35.21a	35.14b	33.29d	32.87c	34.94b	35.30a	γ -Terpinene-7-al (%)
2.28a	2.24a	2.12a	2.28a	2.20a	2.23a	2.27a	اسانس (%)

در هر ردیف، در هر یک از فاکتورهای سطوح آبیاری و منابع مختلف تغذیه‌ای، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، بر اساس آزمون دانکن، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند

جدول ۳. مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف آبیاری و کاربرد نهاده‌های بوم سازگار بر برخی ویژگی‌های کیفی زیره

سبز

درصد اسانس	γ -Terpinene-7-al (%)	Cuminic aldehyde (%)	γ -Terpinene (%)	p-cymene (%)	β -pinene (%)	
آبیاری کامل						
2.40a	32.46cd	13.32a	25.00b	7.96a	14.64a	اسید آمینه
2.18a	34.49abcd	13.66a	25.32ab	6.98ab	13.77a	باسیلوس
2.21a	33.21bcd	14.03a	24.77b	6.34ab	14.04a	هیومیک
2.29a	31.30d	13.08a	26.43ab	8.17a	15.11a	شاهد
کم آبیاری						



2.20a	33.12bcd	12.21a	28.12a	6.79ab	13.51a	اسید آمینه
2.07a	35.58abc	13.66a	25.14ab	6.66ab	12.60a	باسیلوس
2.22a	37.36a	14.25a	23.93b	6.58ab	12.65a	هیومیک
2.30a	33.71abcd	13.36a	25.48ab	6.86ab	14.30a	شاهد

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، بر اساس آزمون دانکن، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند

منابع

- اصغری، ح.، کاظمی، ق. ۱۴۰۲. زیست شناسی گیاهان دارویی در ایران. مجله پژوهش‌های قوم زیست شناسی و حفاظت. ۱۲(۳): ۱۰-۲۵.
- رهگشاهی، م. پناهی کرد لاغری، خ. رحیمی، م. ۱۴۰۱. ارزیابی تأثیر هیومیک اسید و جلبک دریایی بر عملکرد دانه و ویژگی‌های زراعی زیره سبز در شرایط تنش خشکی. نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۸(۲): ۲۸۶-۳۰۰.
- محمودی، ش. لری پور، م. اسماعیل‌زاده، ش. سرحدی‌نژاد، ز. تاج‌الدینی، ه. ۱۴۰۰. تأثیر زیره سبز بر شاخص‌های سندرم متابولیک زنان سنین باروری. مجله زنان مامایی و نازایی ایران. ۲۴(۳): ۶۲-۷۰.
- مرتضویان، س. م. م. بکان، س. سادات نوری، س. ا. نوروزی، م. ۱۴۰۰. مطالعه رفتار میوزی و باروری دانه گرده در زیره سبز (*Cuminum* *cyminum* L.) تحت شرایط تنش خشکی و نانوذره دی‌اکسید تیتانیوم. ژنتیک نوین. ۱۶(۱): ۴۳-۵۴.
- ملافیلانی، ع. اسفندیاری، ت. ۱۳۹۷. اثر رژیم‌های مختلف آبیاری و تاریخ کاشت بر درصد اسانس، عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.). نشریه بوم‌شناسی کشاورزی. ۱۰(۳): ۹۳۵-۹۴۸.
- Aalipour H, Nikbakht A, Ghasemi M., and Amiri R (2019) Morpho-physiological and biochemical responses of two turfgrass species to arbuscular mycorrhizal fungi and humic acid under water stress condition. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 20: 566-576.
- Ahmadi-pour, S., Arji, I., Ebadi, A., and Abdosi, V. (2019). Morphological, physiological and biochemical changes of young plants of some olive cultivars (*Olea europaea* L.) under drought stress conditions. *Iranian Journal of Horticultural Science*. 50(2): 275-286. (In Farsi)
- Alinian, S., Razmjoo, J., and Zeinali, H., 2016. Flavonoids, anthocynins, phenolics and essential oil produced in cumin accessions under different irrigation regimes. *Industrial Crops and Products*. 81: 49-55.
- Aminifard, M., Gholami, M., Bayat, H., and Moradinezhad, F. 2020. Effect of fulvic acid and amino acid application on physiological characteristics, growth and yield of coriander (*Coriandrum sativum* L.) as a medicinal plant. *Journal of Agroecology*. 12(3): 373-388.
- Behdad, A., Mohsenzadeh, S., and Azizi, M. 2021. Growth, leaf gas exchange and physiological parameters of two *Glycyrrhiza glabra* L. populations subjected to salt stress condition. *Rhizosphere*. 17:e100319.
- Corso, D.; Delzon, S.; Lamarque, L.J.; Cochard, H.; Torres-Ruiz, J.M.; King, A.; Brodribb, T. Neither xylem collapse, cavitation, or changing leaf conductance drive stomatal closure in wheat. *Plant Cell Env*. 2020, 43: 854-865.
- Gharib, F.A., Moussa, L.A., and Massoud, O.N. 2008. Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Majorana hortensis*) plant. *International Journal of Agriculture and Biology*. 10(4): pp.381-387.
- Jabborova, D., Enakiev, Y., Sulaymanov, K., Kadirova, D., Ali, A., Annapurna, A. 2021. Plant growth promoting bacteria *Bacillus subtilis* promote growth and physiological parameters of *Zingiber officinale* Roscoe. *Plant Science Today*. 8(1): 66-71.
- Raza, M.A., Gul, H., Wang, J., Yasin, H.S., Qin, R., Khalid, M.H.B., Naeem, M., Feng, L.Y., Iqbal, N., Gitari, H., Ahmad, S., Battaglia, M., Ansar, M., Yang, F., and Yang, W. 2021. Land productivity and water use efficiency of maize-soybean strip intercropping systems in semi-arid areas: a case study in Punjab Province. *Pakistan Journal of Cleaner Production*. 308: e127282.



- Salehi-Lisar, S. Y., and Bakhshayeshan-Agdam, H. 2020. Agronomic crop responses and tolerance to drought stress. *Agronomic Crops*. 3: 63-91.
- Sanikhani, M., Akbari, A., and Kheiry, A. 2020. Effect of phenylalanine and tryptophan on morphological and physiological characteristics in colocynth (*Citrullus colocynthis* L.). *Journal of Plant Process and Function*. 9(35): 317-328.
- Saxena, A. k., Kumar, M., Chakdar, H., Anuroopa, N., Bagyaraj, D. J. 2019. *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. *Journal of Applied Microbiology*. 128: 1583-1594.



تأثیر نانو کلات کامل بر برخی از خصوصیات بیوشیمیایی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.)

زهرا ایزدی^{*۱}

^{*۱} گروه علوم و مهندسی باغبانی، مجتمع آموزش عالی نهاوند، دانشگاه بوعلی سینا، همدان. (z.izadi@basu.ac.ir)

چکیده

به منظور بررسی اثرات نانو کود کامل روی برخی از خصوصیات بیوشیمیایی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.)، آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور و چهار تکرار در سال ۱۴۰۲ انجام گردید. فاکتور اول شامل غلظت‌های مختلف نانو کود در پنج سطح (صفر، یک، دو، سه و چهار گرم در لیتر) و فاکتور دوم شامل دفعات محلول‌پاشی در دو سطح (۵ و ۱۰ روز یک‌بار) بود. نتایج نشان داد که غلظت‌های دو و سه گرم در لیتر نانو کود منجر به افزایش مقدار اسانس و فنول کل گردید. مقدار فلاون و فلاونول را می‌توان با استفاده از غلظت دو گرم در لیتر نانو کود و با دفعات محلول‌پاشی ۱۰ روز یک‌بار افزایش داد. همچنین بیشترین مقدار فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های دو و سه گرم در لیتر نانو کود به ترتیب با کاربرد ۵ و ۱۰ روز یک‌بار، حاصل شد. به طور کلی نتایج نشان‌دهنده تأثیر مثبت نانو کود کلات کامل بر ویژگی‌های بیوشیمیایی همیشه بهار بود.

واژگان کلیدی: درصد اسانس، فلاون و فلاونول، فنول، همیشه بهار



۱. مقدمه

گیاه دارویی همیشه بهار از خانواده کاسنی^۱ و یکی از معروف ترین و پرکاربردترین گیاهان دارویی است. این گیاه به طور وسیعی به منظور استفاده از عصاره آن در طب سنتی و گیاه درمانی پرورش می یابد. عمده ترین مواد موثره همیشه بهار شامل ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، کومارین، کوئینون، اسانس، کارتنوئید و اسیدهای آمینه می باشد (Butnariu and Zepa Coradini, 2012). عصاره همیشه بهار دارای اثرات دارویی از قبیل التیام زخم، ضدالتهاب، ضدباکتری، تحریک ایمنی، ضدتومور، ضدایدز و غیره است (Azzaz et al., 2007). اثرات ضدویروسی، ضد توموری، آنتی موتاژنی و آنتی اکسیدانی گل های همیشه بهار نیز مشخص شده است. اما در حال حاضر، یکی از مهم ترین استفاده های آن، درمان بیماری های پوستی و التهابی، درمان سوختگی ها و خراشیدگی های خفیف، محافظت کبدی، ضداسپاسم، محافظت از نور و آفتاب سوختگی ها می باشد (Butnariu and Zepa Coradini, 2012; Okoh et al., 2008).

اخیراً به عرضه کودهای شیمیایی به شکل نانو ذرات توجه بسیاری شده است. فرآورده های نانو شامل مخلوطی از ذره های با ابعاد بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند که می توانند ویژگی های فیزیکی و شیمیایی مواد اولیه خود را تغییر دهند (Monica and Cremonini, 2009). استفاده از ترکیبات نانو با خصوصیات مطلوب مانند رهایش کنترل شده، غلظت موثر، قابلیت حل پذیری مناسب، ثبات و تاثیر گذاری بالا سبب بهبود تغذیه گیاهی می گردد (Naderi et al., 2013). با به کارگیری ترکیبات نانو به عنوان جایگزین کودهای مرسوم، عناصر غذایی به تدریج و به صورت کنترل شده در خاک آزاد می شوند که سبب کاهش سمیت خاک، به حداقل رسیدن اثرات منفی ناشی از مصرف بیش از حد کود و کاهش تعداد دفعات کود می گردد (Liu and Lal, 2015). مطالعات انجام شده در مورد تاثیر کاربرد ترکیبات نانو بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی همیشه بهار بسیار اندک می باشد اما گزارش های متعددی در ارتباط با کاربرد کودهای نانو در گیاهان دارویی دیگری منتشر شده است. در بررسی اثر محلول پاشی منابع مختلف روی بر ویژگی های فیتوشیمیایی گیاه ریحان^۲ به این نتیجه رسیدند که تاثیر کاربرد نانو کلات روی (به ویژه در مقدار ۳ گرم در لیتر) در افزایش مواد موثره گیاه ریحان، موثرتر از کودهای سولفات روی بود (Fallahi et al., 2016). طبق گزارشی مشخص گردید که کاربرد نانو کود کلات آهن موجب افزایش فنول در گیاه ریحان شد (El-Kereti et al., 2013). در مطالعه دیگر مشخص گردید که کاربرد نانو کود مس در غلظت یک گرم برلیتر موجب افزایش مقدار اسانس در گیاه نعناع فلفلی^۳ گشت (Servin et al., 2015). همچنین مشخص گردید که کاربرد نانو کود به صورت مکمل برای گیاهان موجب افزایش مقدار اسانس، جذب و ارسال بیشتر نیتروژن و فسفر در گیاه و تولید بیشتر ترکیبات فنولی می گردد (Servin et al., 2015). کاربرد کودهای نانو در کنار کاهش هزینه ها، پتانسیل تامین یک یا تعداد بیشتری از عناصر غذایی با راندمان جذب بالا توسط گیاه را دارند و این امر منجر به افزایش رشد و بهبود ویژگی های آنتی اکسیدانی شده است (Haverkamp and Marshall, 2009). از طرفی با توجه به اهمیت گیاه همیشه بهار به لحاظ دارا بودن ویژگی های دارویی

1. Asteraceae
2. *Ocimum basilicum* L.
3. *Mentha piperita* L.



ارزشمند، پژوهش حاضر با هدف بررسی کاربرد نانو کود کلات کامل بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاه همیشه بهار انجام گردید.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. محل و روش آزمایش

این مطالعه تجربی در سال ۱۴۰۲ در گلخانه آموزشی دانشگاه بوعلی سینا انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۲ فاکتور و ۴ تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل غلظت های مختلف نانو کود در پنج سطح (صفر (شاهد)، یک، دو، سه و چهار گرم در لیتر) بود. محلول پاشی تیمار شاهد توسط آب معمولی انجام شد. فاکتور دوم شامل دفعات محلول-پاشی در دو سطح (پنج و ده روز یکبار) بود. بستر مورد نیاز برای این آزمایش شامل ۵۰ درصد کوکوپیت، ۴۵ درصد پیت ماس و ۵ درصد پرلیت بود. از گلدان هایی با قطر تقریبی ۸ سانتی متر و ارتفاع ۸ سانتی متر استفاده شد. تعداد ۱۱ عدد بذر گل همیشه بهار، در هر یک از گلدان های که ۴۶۰ گرم بستر کشت پر شده بود، کشت شدند. سپس به منظور جلوگیری از ایجاد رقابت بین بوته ای، از مرحله چهار برگی اقدام به تنک کردن بوته های اضافی گردید، به طوریکه در هر گلدان ۵ بوته باقی ماند. بذر گیاه همیشه بهار از شرکت پاکان بذر تهیه گردید. محلول پاشی به صورت منظم ۵ یا ۱۰ روز یکبار در زمان بعد از ظهر به اندازه ای که تمام سطح گیاهان کاملاً خیس شوند، انجام گردید. طول دوره رشد این گیاه حدود ۹۰ روز طول کشید، بنابراین تیماردهی برای گروه محلول پاشی پنج روزه ۱۸ مرتبه و برای گروه محلول پاشی ده روزه ۹ مرتبه صورت گرفت. به منظور اسانس گیری مقدار ۱۰۰ گرم از گل های این گیاه ابتدا با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی (با قدرت ۲۸۰۰ وات و سرعت موتور معادل ۲۵۰۰۰ دور در دقیقه) به مدت یک دقیقه آسیاب شده و سپس به مدت ۴ ساعت در دستگاه کلونجر قرار گرفت. میزان عناصر غذایی موجود در نانو کود استفاده شده در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. میزان عناصر غذایی موجود در نانو کود استفاده شده

نوع کود	نیتروژن (درصد)	پتاسیم (درصد)	فسفر (درصد)	آهن (درصد)	روی (درصد)	مس (درصد)	کلسیم (درصد)	منگنز (درصد)	منیزیم (درصد)	مولیبدن (درصد)	بر (درصد)	گوگرد (درصد)
مابع	۳/۳	۳/۸	۰/۹	۱/۳	۲/۹	۰/۷	۰/۵	۰/۹	۰/۷	۰/۱	۰/۳	۳/۱

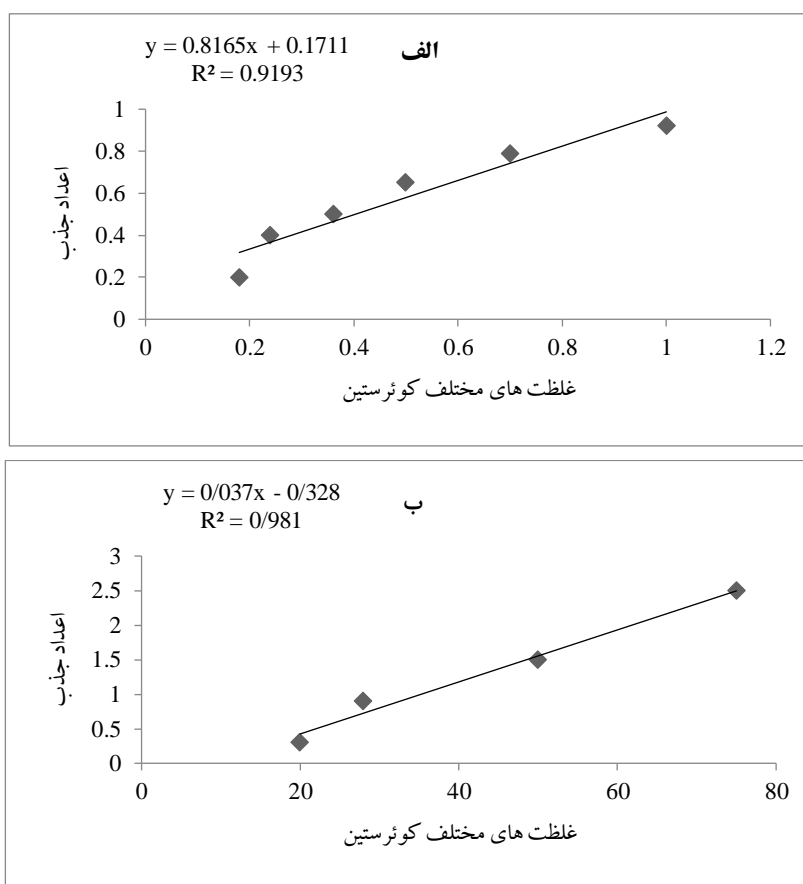
۲-۲. عصاره گیری و اندازه گیری خصوصیات بیوشیمیایی

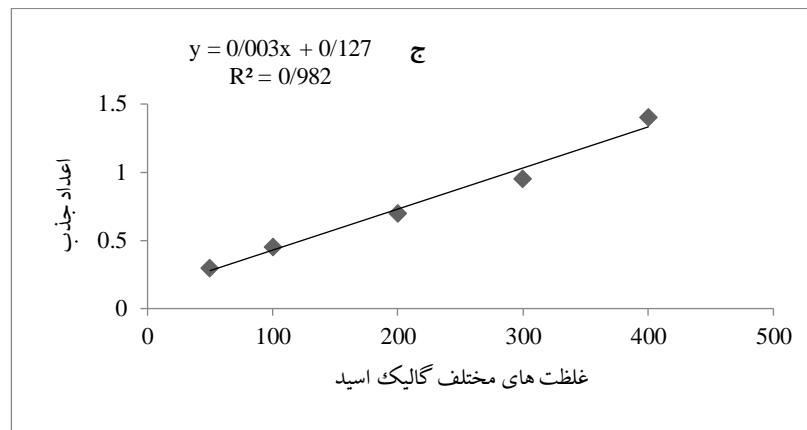
عصاره گیری از نمونه های برگ خشک شده، توسط حلال متانولی به نسبت ۵ به ۱ (حجمی - وزنی، ۲۵ میلی لیتر حلال به ۵ گرم نمونه برگ) با استفاده از حلال متانول ۷۰ درصد به روش خیساندن در حلال انجام شد (Wojdyło et al., 2007). اندازه گیری میزان فلاونوئید کل با استفاده از معرف کلرید آلومینیوم صورت گرفت (Menichini et al., 2009). تبدیل داده های حاصل از جذب به غلظت های مختلف کوئرستین با رسم منحنی استاندارد کوئرستین انجام شد و نتایج

بر اساس میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک گزارش گردید (شکل ۱ الف). میزان فلاون و فلاونول با اندکی تغییر به روش (Popova و همکاران، ۲۰۰۴) اندازه گیری شد و نتایج به صورت میلی گرم اکی والان کوئرستین در گرم وزن خشک بیان شد (شکل ۱ ب). میزان فنول کل نیز با استفاده از معرف سیو کالتیو در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه گیری شد (Wojdyło et al., 2007). غلظت های مختلف گالیک اسید به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت و داده ها به صورت میلی گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک بیان گردید (شکل ۱ ج). اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بر اساس آزمون DPPH با اضافه کردن ۵۰۰ میکرو لیتر از عصاره به پنج میلی لیتر محلول DPPH انجام شد (Oke et al., 2009).

$$\text{درصد مهار کنندگی رادیکال های آزاد DPPH} = (A_c - A_s) / A_c \times 100$$

در این رابطه A_c و A_s به ترتیب جذب شاهد و جذب نمونه می باشد.





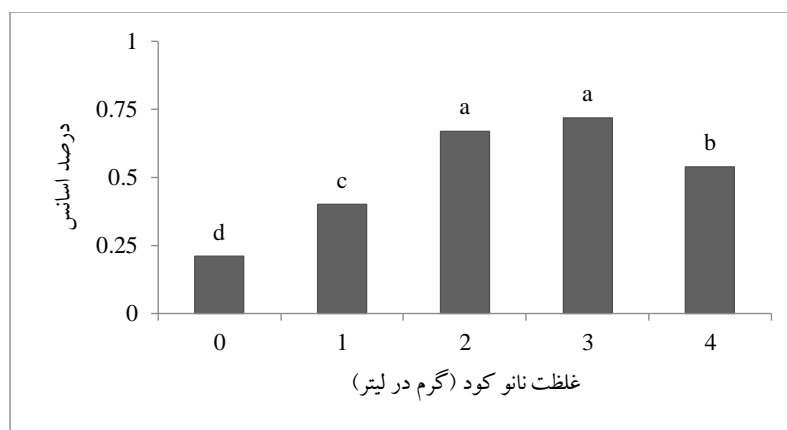
شکل ۱. منحنی استاندارد جهت تعیین میزان (الف) فلاونوئید کل، (ب) فلاون و فلاونول، (ج) فنول کل

۲-۳. تجزیه و تحلیل داده‌ها

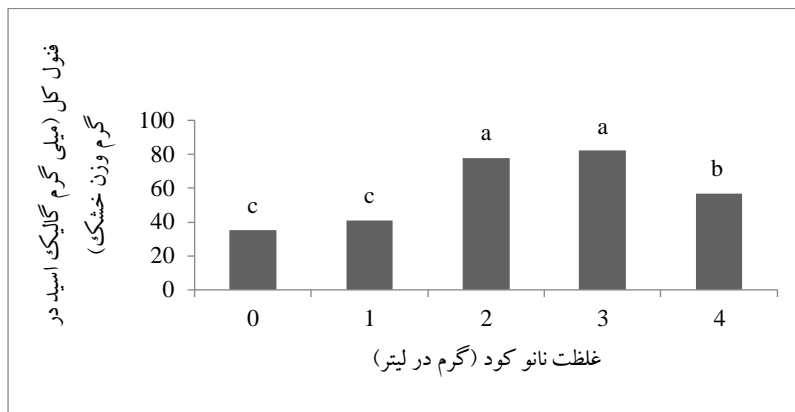
تجزیه واریانس داده‌ها به وسیله نرم افزار SAS (ver 9.4) صورت گرفت. همچنین مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) انجام شد. تبدیل درصد اسانس به توزیع نرمال با استفاده از رابطه $\text{Arc sin } \sqrt{x}$ انجام گرفت (Oke et al., 2009). برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

۳. نتایج

تأثیر غلظت نانو کود بر میزان فنول کل و اسانس در سطح پنج درصد معنی دار بود، اما اثر متقابل غلظت کود نانو و دفعات محلول پاشی بر میزان فلاون و فلاونول، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی همیشه بهار در سطح یک درصد معنی دار گردید. بیشترین میزان اسانس گیاه و فنول کل همیشه بهار در غلظت‌های دو و سه گرم در لیتر نانو کود حاصل شد (شکل‌های ۲ و ۳). کمترین میزان اسانس گیاه متعلق به تیمار شاهد بود (شکل ۲). کمترین مقدار فنول کل نیز در غلظت‌های صفر و یک گرم در لیتر نانو کود مشاهده شد (شکل ۳).

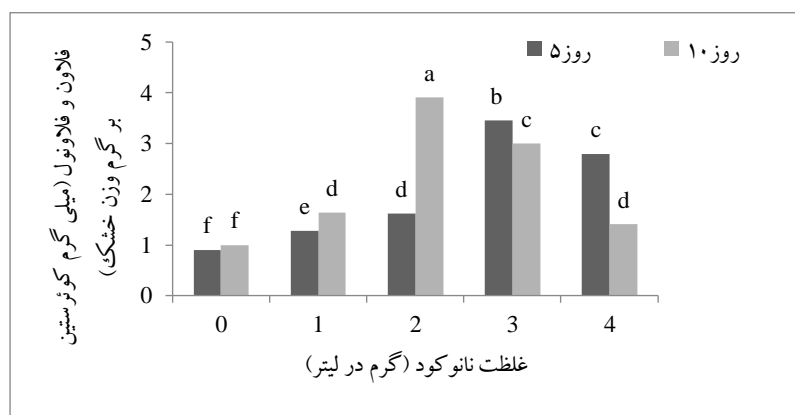


شکل ۲. اثر غلظت محلول پاشی نانو کود بر میزان اسانس گیاه همیشه بهار

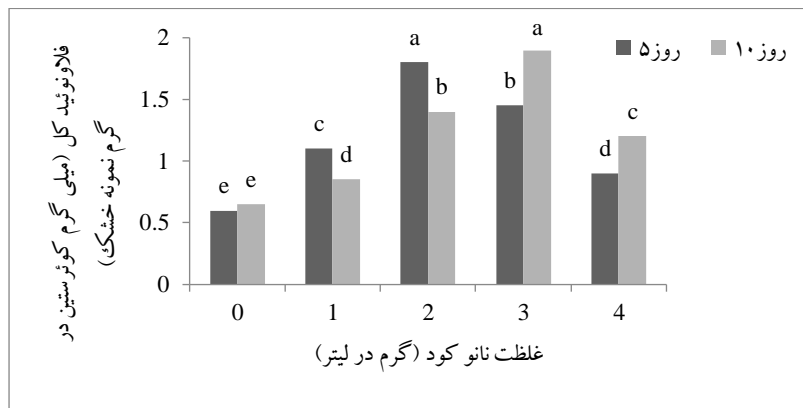


شکل ۳. اثر غلظت محلول پاشی نانو کود بر میزان فنول کل گیاه همیشه بهار

در دفعات محلول پاشی پنج روز یک بار، کاربرد نانو کود در غلظت سه گرم در لیتر باعث افزایش مقدار فلاون و فلاونول (۳/۴ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) گردید. کمترین میزان این ترکیب نیز مربوط به تیمار شاهد بود (شکل ۴). در واقع افزایش غلظت کود تا سطح سه گرم در لیتر موجب افزایش میزان فلاون و فلاونول شد. همچنین در دفعات محلول پاشی ده روز یک بار و کاربرد غلظت دو گرم در لیتر نانو کود بیشترین مقدار فلاون و فلاونول (۳/۹ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) حاصل گردید (شکل ۴). همانطور که در شکل ۵ مشاهده می شود، بیشترین مقدار فلاونوئید (۱/۸ و ۱/۹ میلی گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک) به ترتیب با کاربرد غلظت های دو و سه گرم در لیتر نانو کود به صورت پنج و دهر روز یک بار حاصل شد، کمترین میزان این ترکیب متعلق به تیمار شاهد بود.

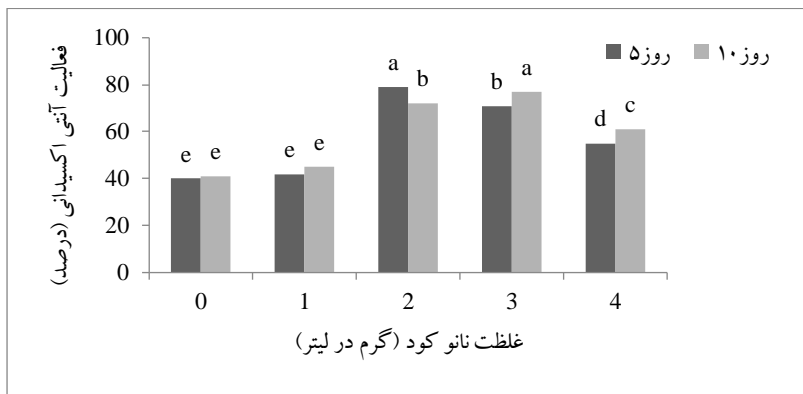


شکل ۴. اثر غلظت و دفعات محلول پاشی نانو کود بر میزان فلاون و فلاونول موجود در عصاره برگ گیاه همیشه بهار



شکل ۵. اثر غلظت و دفعات محلول پاشی نانو کود بر میزان فلاونوئید موجود در عصاره برگ گیاه همیشه بهار

در زمان‌های محلول پاشی پنج و ده روز یک‌بار، بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب در غلظت‌های دو و سه گرم در لیتر نانو کود حاصل گردید (شکل ۶). در این زمان کم‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به شاهد و غلظت یک گرم در لیتر نانو کود بود (شکل ۶).



شکل ۶. اثر غلظت و دفعات محلول پاشی نانو کود بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گیاه همیشه بهار

۴. بحث و نتیجه‌گیری

محققین پس از استفاده از کودهای نانو افزایش ویژگی‌هایی نظیر مقدار فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه بالنگوی شهری^۱ را گزارش کردند (Mohammadghasemi et al., 2019). همچنین مشخص گردید که کاربرد نانو کود روی به شکل سولفات روی نتوانست در افزایش میزان فلاون و فلاونول و فلاونوئیدهای برگ گیاه نعناع فلفلی تاثیر گذار باشد، اما نانو کود آهن به صورت اکسید آهن منجر به افزایش همین ترکیب‌ها در برگ گیاه نعناع فلفلی گردید (Mohammadi et al., 2016). همچنین کاربرد کودهای نانو روی و مس جهت بهبود صفات بیوشیمیایی گیاه ریحان نظیر مقدار فنول کل و

1. *Lallemanta iberica* L.



فلاونوئید کل توصیه شده است (Adisa et al., 2019). کاربرد کود نانو در گیاه برنج^۱ نیز منجر به افزایش پتانسیل آنتی اکسیدانی گردید. به احتمال قوی کاربرد این نوع کود به صورت مکمل و جذب بهتر آن از طریق سلول گیاهی منجر به تامین عناصر کافی جهت افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی شده است (Benzon et al., 2015). گزارشات مختلفی در ارتباط با تاثیر دفعات کوددهی بر فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان مختلف وجود دارد (Benzon et al., 2015). محققان ارتباط مستقیمی بین اثر آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولی عصاره گیاهان را به اثبات رسانده اند (Mohammadi et al., 2016). با افزایش غلظت ترکیبات فنولی، بخاطر افزایش تعداد عامل های هیدروکسیلی، احتمال دادن هیدروژن به رادیکال های آزاد و افزایش قدرت مهارکنندگی عصاره وجود دارد (Patel et al., 2011). توانایی مهارکنندگی ترکیبات فنولی روی رادیکال های آزاد به علت گروه هیدروکسیل آن ها ذکر شده است که با افزایش غلظت ترکیبات فنولی، تعداد گروه های هیدروکسیل در محیط واکنش افزایش یافته و در نتیجه احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال آزاد DPPH و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می یابد (Delfanian et al., 2015; Ostadi et al., 2020). محققان گزارش کردند که کاربرد نانو روی به میزان ۱۲/۸۶ باعث افزایش معنی داری نسبت به عدم مصرف کود نانو روی اسانس گیاهان مرزه^۲ گردید (Vafa et al., 2015). محلول پاشی برگ های نانو کود آهن رشد رویشی در گیاه ریحان را افزایش داد که دلیل آن را افزایش تولید کلروفیل بیشتر و کربوهیدرات های محلول بیان کردند (Peyvandi et al., 2011). گزارش شده است که پس از کاربرد کودهای نانو، دسترسی مواد غذایی به واسطه نفوذ آسان تر ذرات نانو از طریق روزنه های برگ افزایش یافته و از این طریق موجب افزایش رشد، عملکرد و میزان اسانس می گردد (Rezaei and Abbasi, 2014). نتایج این تحقیق با سایر گزارش های دیگر در مورد گیاه ترخون^۳ (Lotfi et al., 2014) و سیاهدانه^۴ (Rezapour et al., 2011) مطابقت دارد. به طور کلی می توان نتیجه گرفت کاربرد کود نانو در افزایش اسانس و خصوصیات بیوشیمیایی گیاه همیشه بهار تاثیر مثبت داشت، به طوری غلظت های دو و سه گرم در لیتر نانو کود منجر به افزایش میزان اسانس و فنول کل گردید. مقدار فلاونو فلاونول را می توان با استفاده از غلظت دو گرم در لیتر نانو کود و با دفعات محلول پاشی ۱۰ روز یک بار افزایش داد. همچنین غلظت های دو و سه گرم در لیتر نانو کود به ترتیب با کاربرد ۵ و ۱۰ روز یک بار بیشترین مقدار فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی را باعث شد.

منابع

- Adisa, I.O., Pullagurala, V.L.R., Peralta-Videa, J.R., Dimkpa, C.O., Elmer, W.H., Gardea-Torresdey, J.L., and White, J.C. (2019). Recent advances in nano-enabled fertilizers and pesticides: a critical review of mechanisms of action. *Environmental Science: Nano*, 6(7): 2002-2030.
- Azzaz, N.A., Hassan, E.A., and Elemarey, F.A. (2007). Physiological, anatomical, and biochemical studies on pot marigold (*Calendula officinalis* L.) plants. *African Crop Science Conference Proceeding*, 8: 1727-1738.

1. *Oryza sativa* L.
2. *Satureja hortensis* L.
3. *Artemisia dracunculus* L.
4. *Nigella sativa* L.



- Benzon, H.R.L., Rubenecia, M.R.U., Ultra, V.U., and Lee, S.C. (2015). Nanofertilizer affects the growth, development, and chemical properties of rice. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 7(1): 105-117.
- Butnariu, M., and Zepa Coradini, C. (2012). Evaluation of biologically active compounds from *Calendula officinalis* flowers using spectrophotometry. *Butnariu and Coradini Chemistry Central Journal*, 6 (35): 1-7.
- Delfanian, M., Esmailzadeh Kenari, R., and Sahari, M.A. (2015). Influence of extraction techniques on antioxidant properties and bioactive compounds of loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl.) skin and pulp extracts. *Journal Food Science and Nutrition*, 3(3): 179-187.
- El-Kereti, M., El-feky, A., Khater, S., A Osman, Y., and El-sherbini, E.S. (2013). ZnOnanofertilizer and He Ne laser irradiation for promoting growth and yield of sweet basil plant. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 5(3): 169-181.
- Fallahi, A., Hassani, A., and Sefidkan F. (2016). The effect of foliar application of different sources of zinc on the yield and phytochemical properties of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Research in Iranian Medicinal and Aromatic Plants*, 32(5): 743-757.
- Haverkamp, R.G., and Marshall, A.T. (2009). The mechanism of metal nanoparticle formation in plants: limits on accumulation. *Journal of Nanoparticle Research*, 11(6): 1453-1463.
- Liu, R., and Lal, R. (2015). Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Science of the total environment*, 514: 131-139.
- Lotfi, M., Abbaszadeh, B., and Mirza. M. (2014). The effect of drought stress on morphology, proline content and soluble carbohydrates of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(1): 19-29.
- Menichini, F., Tundis, R., Bonesi, M., Loizzo, M.R., Conforti, F., Statti, G., De Cindio, B., Houghton, P.J., and Menichini, F. (2009). The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. Cv Habanero. *Food Chemistry*, 114(2): 553-560.
- Mohammadghasemi, V., Moghadam, S., Rahimi, A., and Pourakbar, L. (2019). Effects of nano-fertilizers on the antioxidant properties of *Lallemantiaiberica*, XXIV Conference, Savetovanje biotechnology, Cacak, Serbia.
- Mohammadi, M., Majnoun Hosseini, N., and Dashtaki, M. (2016). Effect of nano-ferric oxide and zink sulfate on chlorophyll, anthocyanin, flavonoid and leaf mineral elements of peppermint (*Mentha piperita* L.) at Karaj climatic conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 32(5): 770-783.
- Monica, R.C., and Cremonini, R. (2009). Nanoparticles and higher plants. *Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, 6: 161-165.
- Naderi, M., Danesh-Shahraki, A., and Naderi, R. (2013). The role of nanotechnology in improving the use efficiency of nutrients and chemical fertilizers. *Mon Nanotechnol*, 11(12): 16-32.
- Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S., and Altundag, S. (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*, 112(4): 874-879.
- Okoh, O.O., Sadimenko, A.P., Asekun, O.T., and Afolayan, A.J. (2008). The effects of drying on the chemical components of essential oils of *Calendula officinalis* L. *African Journal of Biotechnol*, 7(10): 1500 –1502.
- Ostadi, A., Javanmard, A., Machiani, M.A., Morshedloo, M.R., Nouraein, M., Rasouli, F., and Maggi, F. (2020). Effect of different fertilizer sources and harvesting time on the growth characteristics, nutrient uptakes, essential oil productivity and composition of *Mentha x piperita* L. *Industrial Crops and Products*, 148: 1129-1134.
- Patel, S., Patel, T., Parmar, K., Patel, B., and Patel, P. (2011). Evaluation of antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of *Momordica charantia* Linn fruit. *Advance Research in Pharmaceuticals and Biologicals*, 1: 120-129.
- Peyvandi, M., Parande, H., and Mirza, M. (2011). Comparison of nano Fe Chelate with Fe chelate effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Ocimum basilicum*. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 1(4): 89- 98.
- Popova, M., Bankova, V., Butovska, D., Petkov, V., Nikolova-Damyanova, B., Sabatini, A.G., and Bogdanov, S. (2004). Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplartype

- propolis. *Phytochemical Analysis. An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 15(4): 235- 240.
- Rezaei, M., and Abbasi, H. (2014). Foliar application of nanochelate and nanochelate of zinc on plant resistance physiological processes in cotton (*Gossipium hirsutum* L.), *Iranian Journal of Plant Physiology*, 4(4): 1137-1144.
- Rezapor, A.R., Heidari, M., Galavi, M., and Ramrodi, M. (2011). Effect of water stress and different amounts of sulfur fertilizer on grain yield, grain yield components and osmotic adjustment in *Nigella sativa* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27(3):384-396.
- Servin, A., Elmer, W., Mukherjee, A, Torre Roche, R.D., Hamdi, H., White, J.C., Bindraban, P., Dimkpa, C. (2015). A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. *Journal Nanoparticle Research*, 17: 92-96.
- Vafa, Z.N., Sirousmehr, A.R., Ghanbari, A., Khammari, I., and Falahi, N. (2015). Effects of nano zinc and humic acid on quantitative and qualitative characteristics of savory (*Satureja hortensis* L.). *Journal of Bioscience and Biotechnology*, 4(6): 56- 67.
- Wojdyło, A., Oszmianski, J., and Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3): 940-949.

تأثیر تنش شوری بر آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی گیاه گل مغربی صورتی (*Oenothera speciosa* Nutt.)

زهرا ایزدی^{*۱}

^۱ گروه علوم و مهندسی باغبانی، مجتمع آموزش عالی نهاوند، دانشگاه بوعلی سینا، همدان (z.izadi@basu.ac.ir)

چکیده

گل مغربی صورتی یکی از معروف ترین گونه های دارویی با ارزش اقتصادی بالا در جهان است که در ایران نیز به عنوان یک گیاه زینتی دارویی کاشته می شود. علاوه بر آن، روغن بذر آن در صنایع دارویی، صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی استفاده می شود. تنش شوری از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و نمو گیاهان به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک می باشد. به منظور بررسی اثر تنش شوری بر آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی گیاه گل مغربی صورتی (*Oenothera speciosa* Nutt.)، آزمایش گلخانه ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و ۶ تیمار شوری شامل ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دسی زیمنس بر متر در سال ۱۴۰۱ انجام شد. در این مطالعه صفت هایی از قبیل پروتئین، کاتالاز، پراکسیداز، پرولین و محتوای فنل ارزیابی شد. نتایج نشان داد که سطوح مختلف شوری بر تمامی صفات مورد مطالعه به جز کاتالاز معنی دار بود. افزایش شوری از تیمار شاهد تا ۴۰ دسی زیمنس بر متر سبب کاهش ۶۵/۶۶ درصد در میزان پروتئین شد اما با افزایش شوری تا سطح ۵۰ دسی زیمنس بر متر درصد پروتئین محلول افزایش معنی داری یافت. همچنین افزایش شوری سبب افزایش معنی دار میزان پراکسیداز، پرولین و محتوای فنل شد، به طوری که بالاترین میزان این ترکیبات در سطح ۵۰ دسی زیمنس بر متر دیده شد.

واژگان کلیدی: پراکسیداز، پروتئین، فنل، کاتالاز، گل مغربی صورتی.



۱. مقدمه

شوری یک مشکل در حال توسعه در خاک‌های کشاورزی است که رشد و نمو گیاهان را محدود می‌کند. کشور ایران به دلیل شرایط خاص اقلیمی، مناطق وسیعی از اراضی شور و کویری را در خود جای داده است. با توجه به روند رو به رشد جمعیت و لزوم بهره‌برداری از زمین‌های شور، یافتن گیاهان زراعی و دارویی توانمند در مقابل تنش‌های شوری، انتخاب روش‌های اصلاحی برای احیاء خاک‌های شور و اصلاح و انتخاب گیاهان مناسب متحمل به شوری می‌تواند یک راهکار جهت غلبه بر مشکل شوری باشد (نجفیان، ۱۳۸۹). گیاهان در معرض شوری ابتدا با دو نوع تنش رو به رو می‌شوند: (۱) تنش اسمزی، جایی که غلظت زیاد نمک جذب آب را محدود می‌کند و بنابراین گیاهان را در معرض نوعی کسری آب قرار می‌دهد و (۲) مسمومیت یونی که با تجمع Na^+ و Cl^- در بافت‌های گیاه ایجاد می‌شود (Fatma et al., 2016). شوری یکی از دلایل اصلی تجمع گونه‌های فعال اکسیژن است (Ashraf, 2009). تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از شوری به طور مستقیم یا غیرمستقیم باعث آسیب به اجزای سلولی و غشاهای بیولوژیکی می‌شود که باعث کاهش زیست-توده می‌شود (Ali and Ashraf, 2011). مکانیسم‌های مختلفی برای تحمل تنش شوری ارائه شده است که می‌تواند با سم‌زدایی، تخریب پروتئین، سنتز ملکول‌های محافظ اسمزی و آنتی‌اکسیدان‌ها، بیان بیشتر کانال‌های یونی و آبی و تجمع عوامل نسخه‌برداری پاسخ به تنش و غیره همراه باشد (Banerjee and Reychordhury, 2017).

گل مغربی صورتی^۱ به عنوان یک گیاه دارویی تجاری، روغن بذر آن در صنایع دارویی، صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود. روغن گل مغربی صورتی حاوی اسیدهای چرب ضروری از جمله لینولئیک اسید، گامالینولئیک اسید و مشتقات آن‌هاست، همچنین دارای مواد فنلی، فلاونوئیدی و تاننی می‌باشد. این گیاه دارای اثرهای ضدالتهابی، کاهش مشکلات پیش از قاعدگی، تقویت پوست صورت، ترمیم سریع زخم‌ها، مهار تجمع پالکت‌ها، تسکین بیماری‌های قلبی و عروقی، درمان بیماری‌های پوستی مانند حساسیت اگزمایی و درمان عفونت‌های ویروسی است (Wagner et al., 2015). بررسی تاثیر سطوح مختلف شوری ۰ تا ۷۰۰ میلی مولار نمک طعام بر نخود^۲ نشان داد افزایش شوری موجب افزایش میزان پرولین و پروتئین گیاه شد، محققان علت افزایش میزان پرولین را نقش تنظیم کننده اسمزی پرولین بیان کردند (Jovanka et al., 2013). با گسترش روزافزون اراضی شور و هزینه‌های سنگین اصلاح این اراضی و نهایتاً غیرقابل کشت شدن آن‌ها، شناسایی گیاهان متحمل به شوری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار خواهد بود. هدف از پژوهش حاضر ارزیابی برخی از خصوصیات بیوشیمیایی گیاه گل مغربی صورتی در پاسخ به سطوح مختلف تنش شوری بود.

1. *Oenothera speciosa* Nutt.2. *Cicer arietinum* L.



۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. محل و روش آزمایش

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. بذره‌های گیاه مغربی صورتی، در گلدان‌های حاوی ترکیب خاکی یک سوم خاک باغچه، یک سوم پیت ماس و یک سوم ماسه در سال ۱۴۰۱ در گلخانه آموزشی دانشگاه بوعلی سینا کاشته شد. آبیاری گلدان‌ها با آب مقطر انجام گردید. در هر نوبت آبیاری، رطوبت گلدان‌ها در حد ظرفیت زراعی نگه داشته شد. ظرفیت زراعی به محتوای آب خاک بعد از این که آب مازاد خود را تحت تأثیر نیروی جاذبه از دست داد، اطلاق می‌گردد. چهل روز پس از کشت، در مرحله ی ۳ تا ۴ برگی تیمار شوری اعمال گردید. گلدان‌ها با محلول کلرید سدیم خالص در سطوح ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دسی‌زیمنس بر متر به مدت بیست روز به صورت یک روز در میان انجام گردید. در پایان آزمایش، کل اندام هوایی برداشت و برای اندازه‌گیری خصوصیات بیوشیمیایی به آزمایشگاه منتقل شد.

۲-۲. اندازه‌گیری خصوصیات بیوشیمیایی

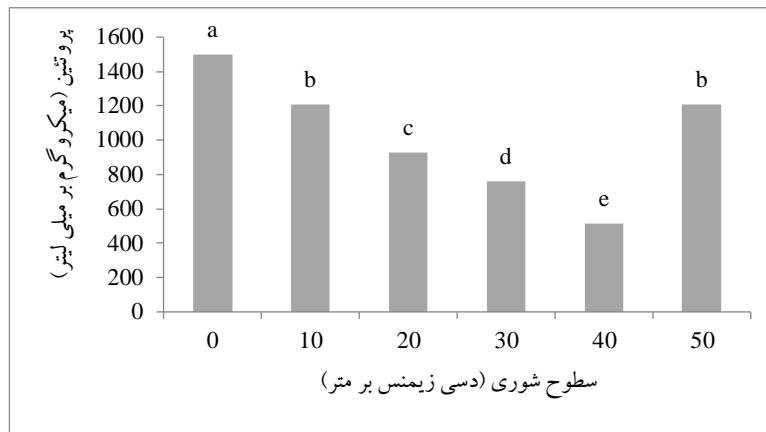
در این آزمایش پروتئین محلول کل به روش برادفورد اندازه‌گیری گردید (Bradford, 1976). فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش (Mishra and Kar, 1976) انجام گرفت. فعالیت آنزیم کاتالاز طبق روش اسپکتروفتومتری ارائه شده توسط (دهیندزا و همکاران، ۱۹۸۱) و بر اساس میزان ناپدید شدن آب اکسیژنه (H_2O_2) در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه‌گیری پرولین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و کالیبره کردن آن با تولوئن، مقدار جذب لایه رنگی در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید (Bates et al., 1973). سنجش ترکیبات فنل کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتو انجام شد. سپس جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک و با توجه به وزن تر برگ و حجم عصاره ترکیبات فنل کل بر اساس میلی گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک بیان شد (Singleton and Rossi, 1965).

۲-۳. تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه واریانس داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SAS (ver 9.4) صورت گرفت. همچنین مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح پنج درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

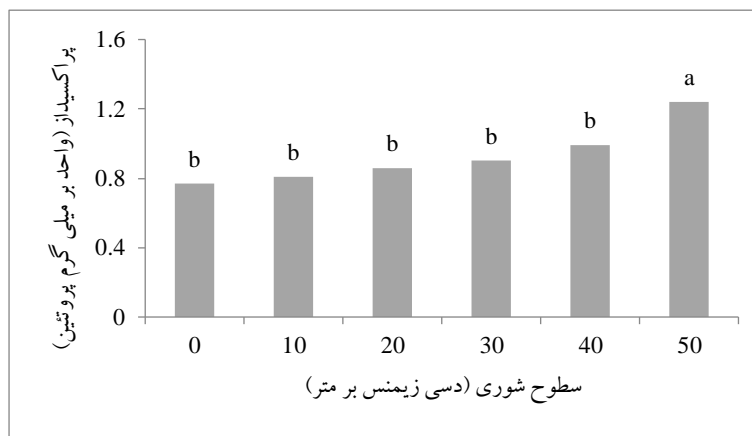
۳. نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر سطوح مختلف تنش شوری بر تمامی صفات مورد مطالعه، به جز کاتالاز معنی‌دار بود. نتایج بررسی مقدار پروتئین تحت تیمارهای مختلف تنش شوری نشان داد که بیشترین مقدار پروتئین در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در سطح ۴۰ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد (شکل ۱). با افزایش تنش شوری از تیمار شاهد تا ۴۰ دسی‌زیمنس بر متر با کاهش مقدار پروتئین همراه بود، ولی مقدار پروتئین در تیمار ۵۰ دسی‌زیمنس بر متر با روند افزایشی معنی‌داری مواجه شد، به طوری که این تیمار اختلاف معنی‌داری با تیمار ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر نداشت (شکل ۱).



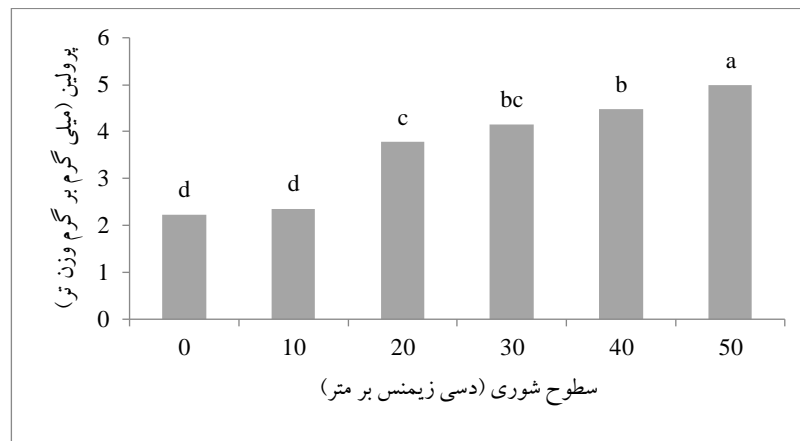
شکل ۱. اثر سطوح مختلف تنش شوری بر میزان پروتئین گیاه گل مغربی صورتی

همان طور که در شکل ۲ مشاهده می شود از لحاظ میزان پراکسیداز تیمارهای آزمایشی در دو گروه مشاهده شد، به طوری که بین تیمارهای ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دسی زیمنس اختلاف معنی داری مشاهده نشد، ولی تیمار ۵۰ دسی زیمنس بر متر افزایش معنی داری در مقدار پراکسیداز پیدا کرد و با بقیه تیمارها اختلاف معنی داری نشان داد.



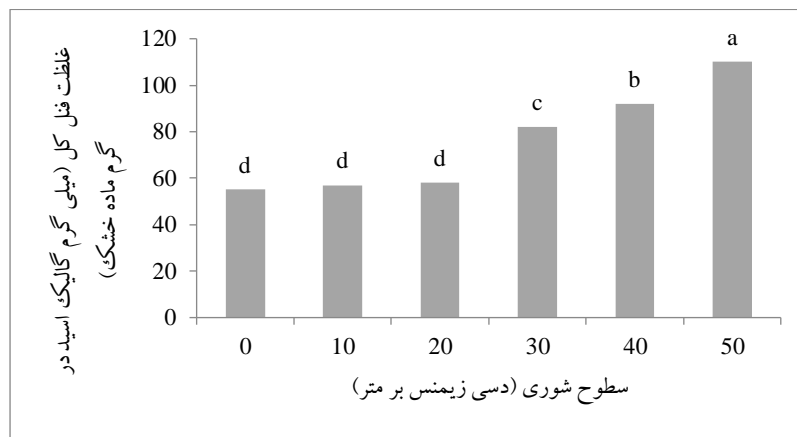
شکل ۲. اثر سطوح مختلف تنش شوری بر میزان پراکسیداز گیاه گل مغربی صورتی

نتایج نشان داد با افزایش تنش شوری از تیمار شاهد تا سطح ۵۰ دسی زیمنس بر متر مقدار پرولین در گیاه گل مغربی صورتی افزایش یافت (شکل ۳). بیشترین و کمترین مقدار پرولین به ترتیب در تیمارهای ۵۰ دسی زیمنس بر متر و شاهد مشاهده شد. بین تیمارهای شاهد و ۱۰ دسی زیمنس بر متر و تیمارهای ۲۰ و ۳۰ دسی زیمنس بر متر و ۳۰ و ۴۰ دسی زیمنس بر متر تفاوت معنی داری مشاهده نشد (شکل ۳).



شکل ۳. اثر سطوح مختلف تنش شوری بر میزان پرولین گیاه گل مغربی صورتی

همان طور که در شکل ۴ مشاهده می گردد محتوای فنل در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ دسی زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد اختلاف معنی داری نشان نداد، درحالی که با افزایش سطح شوری و رسیدن به تیمار ۳۰ دسی زیمنس بر متر افزایش معنی داری در مقایسه با شرایط شاهد مشاهده شد. بیشترین میزان فنل نیز در تیمار ۵۰ دسی زیمنس بر متر مشاهده گردید.



شکل ۴. اثر سطوح مختلف تنش شوری بر میزان غلظت فنل گیاه گل مغربی صورتی

۴. بحث و نتیجه گیری

یکی از راهکارها برای درک توانایی گیاهان در تحمل تنش های محیطی شناسایی تغییرات القاشده با تنش در میزان پروتئین آن ها می باشد. با این اندیشه که سازش به تنش، ناشی از سنتز پروتئین در پاسخ به تنش های محیطی و تغییر بیان ژن است. از جمله رویدادهای مهم بیوشیمیایی در گیاهان تحت تنش شوری، کاهش یا افزایش پروتئین می باشد. با افزایش تنش شوری از تیمار شاهد تا ۴۰ دسی زیمنس بر متر با کاهش مقدار پروتئین همراه بود، ولی مقدار پروتئین در تیمار ۵۰ دسی زیمنس بر متر با روندی افزایشی مواجه شد. از آنجا که سنتز پروتئین نیاز به انرژی دارد، کاهش انرژی ناشی از کمبود آب (به علت تنش شوری) و جذب فعال عناصر سدیم و کلر موجب کاهش سنتز پروتئین و در نتیجه کاهش میزان پروتئین می گردد (Amini et al., 2017). همچنین



کاهش در میزان پروتئین به دلیل تجزیه ی آن از طریق افزایش پروتئولیز، کاهش سنتز پروتئین بوسیله ی جلوگیری از تبدیل اسید آمینه به پروتئین و کاهش میزان پلی ریبوزوم ها می تواند باشد (Khan et al., 2009). بنابراین با توجه به اینکه یکی از اثرات شوری، کاهش سنتز پروتئین است افزایش شوری موجب کاهش مقدار پروتئین شد، البته با افزایش شوری تا حدودی موجب افزایش پروتئین شد. احتمالاً علت افزایش پروتئین در تیمار ۵۰ دسی زیمنس بر متر ممکن است سنتز پروتئین های جدید یا مقدار پروتئین هایی که از قبل در غلظت های کم وجود داشته اند اما همزمان با تنش افزایش یافتند، باشد (Panahi et al., 2015).

آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز ترکیباتی مانند آب اکسیژنه را به آب و اکسیژن تجزیه می کنند و بدین ترتیب از آسیب سلولی جلوگیری می کنند. برای پی بردن به میزان فعالیت این آنزیم از میزان اکسیژن آزاد شده استفاده می شود. اگر اکسیژن آزاد شده زیاد باشد فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان بیشتر خواهد بود (Grieve et al., 1994). در مطالعه حاضر، در سطح شوری ۵۰ دسی زیمنس بر متر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش معنی داری نشان داد. در تأیید یافته های به دست آمده از پژوهش حاضر، (Lee و همکاران، ۲۰۲۱) نشان دادند که فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان برنج^۱ تحت شرایط شوری افزایش یافت. در گشنیز^۲، فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش شوری در مقایسه با شاهد افزایش معنی داری نشان داد که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد (Mehr and Bahabadi, 2013). مطابق با نتایج پژوهش حاضر، نشان داده شده است که مقدار پرولین در گیاهان مختلف با افزایش شوری، افزایش یافت (Panahi et al., 2015). پرولین یکی از اسمولات ها می باشد که به عنوان یک ماده ی اسمززا، به تنظیم اسمزی و حفاظت از ساختارهای درون سلول کمک می کند، به طوری که در برخی گزارش ها یک همبستگی بین تجمع پرولین و مقاومت گیاهان به تنش های محیطی نشان داده شده است. شواهد قابل ملاحظه ای وجود دارد که سطوح بالای پرولین می تواند ساختار و فعالیت پروتئین را حفاظت کند، تجزیه ی آنزیم را کاهش دهد و پروتئین ها و غشاها را از آسیب ناشی از غیرفعال سازی رادیکال های آزاد و گونه های شیمیایی واکنش پذیر دیگر حفاظت می کند (Jamil et al., 2017). ترکیبات فنلی نقش مهمی در کاهش و یا مهار اتو اکسیداسیون لیپیدها، جاروب کردن رادیکال های آزاد، خاموش کردن اکسیژن یکتایی یا تجزیه ی پراکسیدها دارند. این ترکیبات به عنوان یک آنتی اکسیدان ضروری برای حفاظت علیه تکثیر و پیشروی زنجیره ی اکسیداتیو و دفاع علیه گونه های فعال اکسیژن عمل می نمایند. در مطالعه حاضر، محتوای فنل اختلاف معنی داری با شاهد در شرایط تنش نشان داد. مقدار کل فنل گیاه توتون^۳ تحت تنش شوری نیز اختلاف معنی داری با شاهد نشان داد (حاجی بلند و ابراهیمی، ۱۳۹۰) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

نتایج نشان داد که سطوح مختلف شوری بر تمامی صفت های مورد مطالعه، بجز کاتالاز معنی دار بود. نتایج نشان داد که افزایش شوری باعث افزایش معنی دار مقدار پروتئین، پراکسیداز، پرولین و ترکیبات فنلی شد، به طوری که بالاترین مقدار این ترکیبات در شوری ۵۰ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد. با توجه به یافته های پژوهش حاضر، گیاه گل مغربی صورتی می تواند

1. *Oryza sativa* L.
2. *Coriandrum sativum* L.
3. *Nicotiana restica* L.

سطوح شوری بالا آب و خاک را تحمل کند و باتوجه به ارزش دارویی که این گیاه دارد، می توان از این گیاه به منظور احیا و بهره برداری از مناطق شور و دارای منابع آب شور یا در حال شور شدن با بررسی های بیشتر میدانی در جهت بهبود این مناطق استفاده نمود.

منابع

حاجی بلند، ر.، و ابراهیمی، نشمین. (۱۳۹۰). تأثیر پلی آمین فنل های آگروژن بر رشد، فتوسنتز و متابولیسم ها توتون در گیاه تحت تنش شوری. زیستشناسی گیاهی، ۳ (۸): 13-26.

نجفیان، ش. ۱۳۸۹. برهمکنش سالیسیلیک اسید و شوری بر ویژگی های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی آویشن باغی و و اکلیل کوهی پایان نامه دکتری، دانشگاه شیراز.

- Ali, Q., and Ashraf, M. (2011) Exogenously applied glycinebetaine enhances seed and seed oil quality of maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 71: 249-255.
- Amini, F., Ghanbarzadeh, Z., and Askary, M. (2017). Biochemical and physiological response of *Salsola arbuscular* callus to salt stress. *Science Technology, Transactions A: Science*, 41(2): 321-328.
- Ashraf, M. (2009) Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances Journal*, 27: 84-93.
- Banerjee, A., and Roychoudhury, A. (2017) Absciscic acid dependent basic leucine zipper (bzipp) transcription factors in plant abiotic stress. *Protoplasma*, 254: 3-16.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39(1): 205-207.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Review of Biochemistry*, 72(1-2): 248-254.
- Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P., and Thorpe, A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32: 93-101.
- Fatma, M., Masood, A., Per., T.S., and Khan, N.A. (2016) Nitric oxide alleviates salt stress inhibited photosynthetic performance by interacting with sulfur assimilation in mustard. *Front Plant Science*, 7: 521-523.
- Grieve, C., Francois, L., and Maas, E. (1994). Salinity affects the timing of phasic development in spring wheat. *Crop Science*, 34(6):1544-1549.
- Jamil, M., Lee, K.B., Jung, K.Y., Lee, D.B., Han, M.S., and Rha, E.S. (2017). Salt stress inhibits germination and early seedling growth in cabbage (*Brassica oleracea* L.). *Pakistan Journal of Biological Science*, 10(6): 910-914.
- Jovanka, M.D., Nemanja, S., Svetlana, R. Zivko, J., Aleksandar, M., and Vesna, M. (2013). Differential response of three contrasting pea (*Pisum arvense*, *P. sativum* and *P. fulvum*) species to salt stress: Assessment of variation in antioxidative defence and miRNA expression. *Australian Journal of Crop Science*, 7: 2145-2152.
- Kar, M., and Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant physiology*, 57(2): 315-319.
- Khan, M.A., Ansari, R. Ali, H. Gul, B., and Nielsen. B.L. (2009). *Panicum turgidum*, potentially sustainable cattle feed alternative to maize for saline areas. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 129(4): 542-546.
- Lee, D.H., Kim, Y.S., and Lee, C.B. (2021). The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of plant physiology*, 158(6):737-745.
- Mehr, Z.S., and Bahabadi, S.E. (2013). Physiological and antioxidant responses of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to salinity. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences (IJACS)*, 5(4):344-348.



- Panahi, F., Asareh, M.H., Jafary, M., Givar, A., Arzani, H., Tavili, A., and Ghorbani, M. (2015). *Salsola orientalis* responses to salt stress. *Advanced Biological and biomedical Research*, 3(2): 163-171.
- Singleton, V.L., and Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3):144-158.
- Wagner, W.L., Hoch, P.C., and Zarucchi, J.L. (2015). The correct name in *Oenothera* for *Gaura drummondii* (Onagraceae). *PhytoKeys*, 3: 25-29.



اثر کیتوزان بر میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در کشت کالوس گیاه خار مریم

زهرا ملک محمدی^۱، رویا رضوی زاده^{۱*}

^{۱*}گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، ۱۹۳۹۵۳۶۹۷ تهران، ایران (razavi.roya@pnu.ac.ir)

چکیده

کشت کالوس به دلیل توانایی آن در افزایش عملکرد، فراهم کردن شرایط قابل کنترل و امکان دستکاری ژنتیکی، جایگزینی پایدار و مقیاس پذیر برای روش های سنتی استخراج متابولیت ها از گیاه می باشد. هدف این پژوهش بررسی اثرات محرک زیستی کیتوزان بر افزایش متابولیت های ثانویه همچون ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین در کشت کالوس گیاه خار مریم (*Silybum marianum* L.) و همچنین تعیین غلظت بهینه کیتوزان می باشد. برای این منظور پس از القا کالوس و چندین بار واگشت شدن، کالوس های هم سن به محیط های کشت MS حاوی ۰/۲ میلی گرم بر لیتر ۲-۴ دی کلروفونوکسی استیک اسید (2,4D) و ۵ میلی گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین (BAP) همراه با غلظت های ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر لیتر کیتوزان منتقل و به مدت ۲۱ روز تحت تیمار قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیشترین میزان محتوای ترکیبات فلاونوئید (۲۴.۰۷٪) در کالوس های تحت تیمار ۲۰ میلی گرم بر لیتر کیتوزان و بیشترین محتوای فنول ها (۱۱.۰۶٪) و آنتوسیانین (۳۶.۲۵٪) در کالوس های تحت تیمار ۱۰ میلی گرم بر لیتر کیتوزان مشاهده شد. این نتایج نشان می دهد که کیتوزان در غلظت بهینه می تواند به عنوان یک محرک زیستی موثر در کشت کالوس برای افزایش تولید ترکیبات آنتی اکسیدانت مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدانت، ترکیبات فنولی، فلاونوئید، کالوس خار مریم (*Silybum marianum* L.)، کیتوزان، متابولیت های

ثانویه



۱. مقدمه

تکنیر از طریق روش های بیوتکنولوژی از جمله کشت بافت و سلول گیاهی در شرایط آزمایشگاهی می تواند راه حل مناسبی برای غلبه بر مشکلات کشت سنتی گیاهان دارویی باشد. کشت کالوس در شرایط آزمایشگاهی ابزار مفیدی برای مطالعه ی تولید ترکیبات زیست فعال در گیاهان و توسعه راهکارهای جدید برای تولید پایدار و افزایش یاخته آن ها تحت شرایط کنترل شده فراهم می کند (Maqbool et al., 2023). یکی از راهکارهایی که امروزه در تعداد زیادی از مطالعات تحقیقاتی مورد بررسی قرار می گیرد براساس برانگیختن به واسطه محرک های زیستی و غیر زیستی است. محرک ها باعث تغییرات بیولوژیکی و فیزیولوژیکی در گیاه می شوند و گیاهان با فعال کردن پاسخ های دفاعی به این عوامل تنش زا پاسخ می دهند و در نهایت سنتز متابولیت های ثانویه را بهبود می بخشند (Iqbal et al., 2022).

کیتوزان یک هترو پلیمر پلی ساکاریدی زیست سازگار و غیر سمی است که از چند گروه قطبی تشکیل شده است و می تواند به عنوان گیرنده الکترون عمل کند. این محرک زیستی که یکی از تنظیم کننده های رشد محسوب می شود در شرایط آزمایشگاهی بر فرآیند های فیزیولوژیکی مانند فوسنتز تاثیر می گذارد، همچنین برای ساخت متابولیت های ثانویه و اساس ها در گیاهان دارویی به عنوان محرک کاربرد دارد.

خارمریم در صنایع دارویی اهمیت بالایی دارد و ترکیبات شیمیایی آن بیشتر به شرایط رشد گیاه بستگی دارد. تکنیک کشاورزی، کیفیت خاک، آب و هوا، روش های تیمار مواردی هستند که بر ترکیبات موثر و زیست فعال محصول تاثیر می گذارد. مواد موثره موجود در دانه های گیاه خارمریم از نوع فلاونوئیدها می باشد که ترکیب بسار جالبی از فلاونوئیدها و لیگنان ها هستند که ۳-۱۵ درصد وزن خشک دانه ها را تشکیل می دهد. با توجه به مطالب گفته شده، هدف این پژوهش، بررسی اثر کیتوزان بر افزایش بیوسنتز متابولیت های آنتی اکسیدانت شامل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین در کشت کالوس خارمریم می باشد.

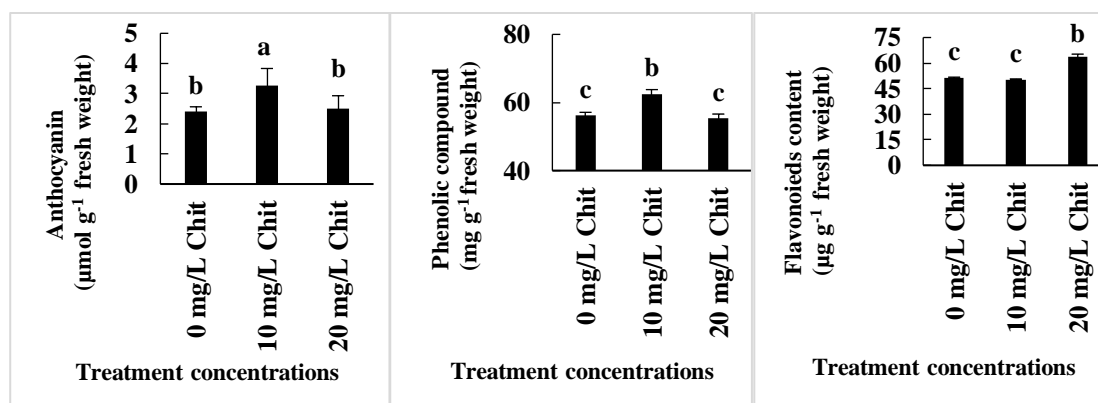
۲. مواد و روش ها

این پژوهش در دانشگاه پیام نور مرکز نجف آباد انجام شد. بذر گیاه خار مریم (*Silybum marianum* L.) از شرکت فردین کشت (کرج، ایران) خریداری گردید. بذرها پس از شست و شو در محیط کشت MS 1/4 کشت گردیدند و به مدت ۲۱ روز در اتاق کشت با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ و رطوبت ۹۵-۹۸٪ نگهداری شدند. سپس به منظور القای کالوس، ریزنمونه های برگ از گیاهچه های استریل تهیه شد و به محیط های کشت MS حاوی ۰/۲ میلی گرم بر لیتر ۲-۴ دی کلروفنوکی استیک اسید و ۵ میلی گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین (BAP) منتقل و در اتاق کشت نگهداری شدند. سپس کالوس های تشکیل شده هر سه هفته یکبار برای تکثیر و تأمین منبع غذایی واکشت شدند. برای تهیه محیط های کشت حاوی تیمار کیتوزان، غلظت های ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر لیتر کیتوزان به طور مستقیم به محیط کشت اضافه گردید. در نهایت برای تیمار کالوس ها، کالوس های هم سن به محیط های کشت مذکور منتقل و در اتاق کشت نگهداری شدند.

پس از ۱۴ روز تیماردهی، میزان متابولیت‌های ثانویه شامل ترکیبات فنولی (Ronald and Iaima, 1999)، فلاونوئید (Meda et al., 2005) و آنتوسیانین (Wagner, 1979) اندازه‌گیری شدند.

۳. نتایج

نتایج بررسی‌ها نشان داد که افزودن کیتوزان با غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر سبب افزایش ۱۱/۰۶ درصدی محتوای فنول‌ها نسبت به گیاه شاهد شد. همچنین اندازه‌گیری محتوای فلاونوئیدها نشان داد که افزودن کیتوزان با غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر سبب افزایش ۲۴/۰۷ درصدی محتوای فلاونوئیدها نسبت به گیاه شاهد شد و میزان آنتوسیانین در مقایسه با گیاه شاهد افزایش ۳۶/۲۵ درصدی در تیمار با کیتوزان ۱۰ میلی گرم بر لیتر را نشان می‌دهد. (شکل ۱)



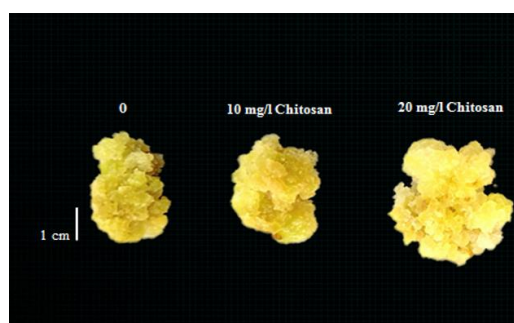
شکل ۱. اثر کیتوزان بر میزان آنتوسیانین، ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها در کالوس‌های گیاه خارمریم. مقادیر، میانگین سه تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن ($P \leq 0.05$) می‌باشد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

کالوس توده‌ای از سلول‌های تمایز نیافته است که به دلیل رشد سریع و تکرارپذیری بالا برای تولید متابولیت‌های ثانویه بسیار کارآمد است. (شکل ۱) در این مطالعه، تأثیر کیتوزان بر افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در کالوس گیاه خارمریم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن کیتوزان با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر به محیط کشت به ترتیب سبب افزایش معنادار محتوای ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها شد. به طور مشابه، افزایش محتوای فنول‌ها و فلاونوئیدها در گیاه نعنای (Rahmani et al., 2020)، افزایش ترکیبات فنولی در *Ferula flabelliloba* (Taheri, 2016) و افزایش محتوای فلاونوئیدی در آویشن دناپی (Emami-Bistgani et al., 2017) و همچنین افزایش معنادار آنتوسیانین بر گیاه توت فرنگی رقم کاماروسا در شرایط هیدروپنیک (Nemati-Mirak et al., 2015) در اثر اعمال کیتوزان گزارش شده‌است. تحریک یک استراتژی کارآمد در ارتقای مکانیسم دفاعی گیاهان برای تولید بیشتر مواد فیتوشیمیایی از طریق کشت‌های آزمایشگاهی است. مطالعات متعددی نشان می‌دهند القای یبوستز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان از طریق تیمار با محرک‌های زیستی و غیرزیستی آغاز می‌شود. به دلیل آن که هر محرک یک عامل استرسی محسوب می‌شود می‌تواند سبب تحریک پاسخ‌های دفاعی در گیاهان شود. (Khanam et al.,)

2022) تحقیقات پیشین نشان داده است که کیتوزان به عنوان تعدیل کننده شرایط محیطی باعث افزایش تحریک تولید ترکیبات فنلی در گیاه میشود (Wang et al., 2004) همچنین نشان داده شده است کیتوزان باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز از طریق افزایش بیان ژن این آنزیم می گردد و با تاثیر بر مسیر تولید مشتقات فنیل پروپانوییدی باعث افزایش آنتوسیانین در گیاه شود. (Mahdavianfard et al., 2021)

در مجموع، نتایج این پژوهش نشان می دهد که استفاده از روش های بیوتکنولوژی مانند کشت کالوس در گیاه خار مریم با بهبود بیوسنتز ترکیبات فنولی آن توسط تیمار کیتوزان به عنوان یک محرک زیستی و تنظیم کننده رشد در غلظت بهینه می تواند یک راهکار مؤثر برای افزایش تولید متابولیت های ثانویه مهم از جمله ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و آنتوسیانین باشد.



شکل ۲. کالوس های خار مریم در غلظت های مختلف کیتوزان

منابع

- Bakhtiari MA, Golkar P. The Effects of Callus Elicitation on Lepidine, Phenolic Content, and Antioxidant Activity of *Lepidium sativum* L.: Chitosan and Gibberellic Acid. *J Plant Growth Regul.* 2022; 41:1148–1160.
- Bistgani, Z. E., Siadat, S. A., Bakhshandeh, A., Pirbalouti, A. G. and Hashemi, M. (2017) Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *The Crop Journal*, 5(5): 407-415.
- Iqbal Z, Javad S, Naz S, Shah AA, Shah AN, Paray BA, Gulnaz A, Abdelsalam NR. Elicitation of the in vitro cultures of selected varieties of *Vigna radiata* L. with zinc oxide and copper oxide nanoparticles for enhanced phytochemicals production. *Front Plant Sci.* 2022; 13:908532.
- Khanam MN, Anis M, Javed SB, Mottaghipisheh J, Csupor D. Adventitious root culture-an alternative strategy for secondary metabolite production: a review. *Agronomy.* 2022; 12(5):1178
- Rahmani, A., Seighali, N. and Ebrahimzadeh, H. (2013) A study on peroxidase activity alterations in corms of saffron (*Crucus sativus* L.) exposed to different H₂O₂ concentrations and pH measurement during dormancy and waking. *New Cellular Molecular Biotechnology Journal*, 3: 10. 79-84. (In Persian)
- Maqbool M, Ishtiaq M, Mazhar MW, Casini R, Mahmoud EA, Elansary HO. Enhancing bioactive metabolite production in *Aerva sanguinolenta* callus cultures through silver nanoparticle and salicylic acid elicitation. *Sustainability.* 2023; 15(13):10395.
- Mahdavianfard, A., Dahajipour Heidarabadi, M., Malekzadeh, K. H. and Sahhafi S.R. (2021) The effect of chitosan on phenolic compounds, rosmarinic acid and expression of key genes involved in rosmarinic acid biosynthesis in cell suspension culture of *Melissa officinalis* L. *Journal of Cell and Tissue*, 11(4): 243-262.



- Nemati-Mirak, Y., Khademi, O. and Karimi, N. (2015) Foliage spraying of nano salicylic acid in increasing yield and improving quality and quantity of strawberry cv. Camarosa under hydroponic culture. 9th Horticultural Science Congress.
- Taheri, Gh. (2016) Effects of Chitosan Spraying on Physiological Characteristics of *Ferula flabelliloba* (Apiaceae) Under Drought Stress. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 13(4): 728-737.
- Wang, Y. J., Wang, M. Y. and Huang, R. R. (2012) Effect of chitosan coating on seed germination and salt-tolerance of *Brassica napus* L. *Bulletin of Botanical Research*, 32(6): 689-694.

مکانسیم های بیوشیمیایی زعفران (*Crocus Sativus L.*) در درمان بیماری ها

احمد جامی حسن آبادی^۱، حسین طایفی نصرآبادی^{*}

^۱گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز (Ahmad.Jamihassanabadi@gmail.com)

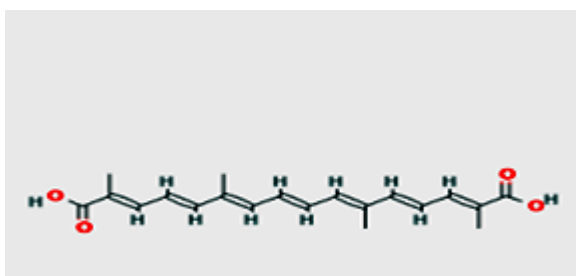
چکیده

با وجود پیشرفت چشمگیر داروهای شیمیایی، کاربرد داروهای گیاهی در درمان بیماری ها در کانون توجه مجامع علمی پزشکی قرار دارد. زعفران (*Crocus Sativus L.*) یک گیاه دارویی از خانواده *Iridaceae* با خواص درمانی متفاوت است. زعفران دارای ۴ ترکیب فیتوشیمیایی مختلف شامل کروسین، کروتین و سافرانال است. کروسین مهمترین ترکیب فیتوشیمیایی زعفران است که بر تنظیم بیان انواع ژن های کلیدی متابولیسم و مسیرهای پیام رسانی سلولی مثلاً بیان سیرتوئین-۱ (SIRT1)، فاکتور Nrf2 و انواع اینترلوکین ها موثر است و با این کار سبب مهار واکنش های التهابی، کنترل استرس اکسیداتیو و از بین بردن رادیکال های آزاد می شود. همچنین کروسین مسیر پیام رسانی سلولی فاکتور هسته ای کاپا-بتا (NF-kB) را کاهش می دهد و سبب مهار نیتریک اکسید سنتاز و سیکلواکسیژناز-۲ (COX2) می گردد که این موضوع اهمیت مهمی در حفظ هموستاز سیستم قلبی و عروقی دارد. سافرانال دیگر ترکیب مهم زعفران، دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است و اکثر خواص خود را با کاهش مالون دی آلدئید، نیتریک اکسید و افزایش آنزیم گلو تاتیون در ریه بر جای می گذارد، همچنین سافرانال با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی بر متابولیسم چربی ها نیز موثر است.

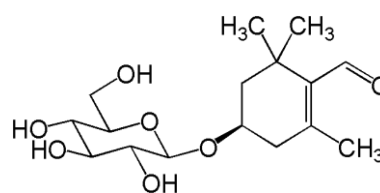
واژگان کلیدی: استرس اکسیداتیو، التهاب، اینترلوکین، زعفران، سافرانال، کروسین.

۱. مقدمه

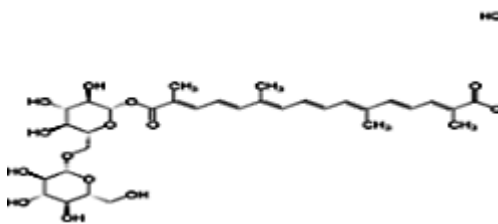
با وجود پیشرفت و توسعه گسترده داروهای شیمیایی، استفاده از گیاهان دارویی همچنان مورد توجه جامعه درمانی قرار دارد، چراکه گیاهان دارویی در بیشتر مواقع فرآیند تولید آسان‌تری دارند، ارزان‌تراند، عوارض جانبی آن‌ها کمتر است، مهم‌تر از همه با وجود پیشرفت علم هنوز امکان تولید مصنوعی برخی از مواد موثره‌ی طبیعی وجود ندارد. زعفران، گیاهی است از خانواده زنبقیان (*Iridaceae*) که مناطق متفاوتی از آسیا، اروپا و آفریقا کشت می‌شود. زعفران گیاهی چندساله با ارتفاع حدود ۳۰ سانتی متر و دارای برگ‌های بلند و ظریف و گل فنجانی شکل و صورتی است. این گیاه می‌تواند تابش مستقیم خورشید و دمای کمتر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد را تحمل و حتی در خاک‌های آهکی و رسی با pH بین ۶ و ۷ رشد کند. مادگی گل زعفران دارای سه کلاله قرمز مایل به نارنجی با عطر خوش‌آیند است که پس از چیده شدن، خشک شده و به عنوان زعفران استفاده می‌شود. تجزیه و تحلیل فیتوشیمیایی وجود چندین ترکیب فرار و غیرفرار در کلاله‌ها را تایید کرده است (Khorasany and Hosseinzadeh 2016). زعفران دارای انواعی از مواد معدنی، پروتئین، قند و ویتامین‌های مختلف مانند B1 و B2 و نیز ترکیبات زیست فعال همچون کروسین، کروستین، پیکروکروسین و سافرانال است (شکل ۱).



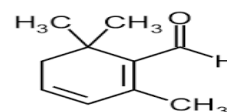
کروستین



پیروکروسین



کروسین



سافرانال

شکل ۱. ترکیبات زیست فعال زعفران

کروسین و کروستین ترکیبات کاروتنوئیدی هستند که باعث رنگ زرد زعفران می‌شوند. عطر و طعم زعفران به دلیل وجود پیروکروسین و سافرانال نیز که مونوترپن آلدئید محسوب می‌شود بوی خاص زعفران را ایجاد می‌کند. کروسیناز طریق فرآیندهای آنزیمی چند مرحله‌ای که از کاروتنوئیدهایی مانند زآگزانتین شروع می‌شود، بیوسنتز می‌شود. آنزیم CsCCD2 زآگزانتین را می‌شکافد و کروسین دی آلدئید را تشکیل می‌دهد که بیشتر توسط CsALDH3I1 به کروسین اکسید می‌شود. گلیکوزیلاسیون کروسین به کروسینینز توسط آنزیم CsUGT74AD1 کاتالیز می‌شود (Demurtas, Frusciante).



et al. 2018). زعفران بیشتر به عنوان یک ادویه غذایی استفاده می شود، اما مطالعات مختلف نشان داده که کروسین و سافرانال زعفران دارای فعالیت آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد اضطرابی، ضد سرطانی، ضد دیابتی و ضد فشار خون اند. همچنین کروسین و کروسین مانع از تجمع آمیلوئید β می شوند و بدین می توانند سبب کاهش علائم بیماری آلزایمر شوند. مقاله مروری حاضر، به بررسی اثرات درمانی زعفران و تاثیر آن بر روی اعضاء مختلف و واکنش های بیوشیمیایی بدن می پردازد (Anaeigoudari et al. 2023).

۲. مواد و روش ها

در مقاله حاضر با استفاده از داده های موجود در پایگاه های داده ای علمی و از ۱۱ مقاله مروری و تحقیقی استفاده شده که به آن ها اشاره می شود: (Bolhassani, Khavari and Bathaie 2014; Khorasany and Hosseinzadeh 2016; Demurtas, Frusciante et al. 2018; Maggi, Bisti and Picco 2020; Ouahhoud, Bencheikh et al. 2022; Salem, Shaheen et al. 2022; Singh, Haileselassie et al. 2022; Anaeigoudari, Anaeigoudari and (Kheirkhah-Vakilabad 2023; Naim, Guirrou et al. 2023; Shams 2023; Aryaeian, Alipour et al. 2024

۳. نتایج

در مقالات مختلف اثرات چهار ترکیب فیتوشیمیایی زعفران بر اعضاء مختلف بدن و در بیماری های مختلف مورد بررسی قرار گرفته که در ادامه به آن پرداخته می شود.

۳-۱. اثرات بر سیستم عصبی

حفظ عملکرد طبیعی سیستم اعصاب مرکزی با هموستاز بیوشیمیایی بافت مغز محقق می شود و استرس اکسیداتیو و التهاب های عصبی می تواند این عامل را برهم زند و راه را برای بروز و پیشرفت بیماری های نورودژنراتیو، پارکینسون و اختلالات عصبی روانی از جمله اضطراب و افسردگی هموار کند. در یک آزمایش تحقیقی با مدل سمیت عصبی ناشی از آکریل آمید، مشاهده شد که با تزریق سیستمیک میزان مختلف کروسین می توان از مغز موش ها در برابر استرس اکسیداتیو محافظت کرد؛ این کار با کاهش سطح مالون دی آلدئید و افزایش محتوای گلوتاتیون انجام می گیرد. در یک مدل تحقیقی دیگر گزارش های علمی نشان داد که تزریق محیطی 20 mg/kg در روز کروسین اثرات مفیدی بر بهبود آسیب های اکسیداتیو ایجاد شده ناشی از پاراکوات در موش ایجاد کرد. همچنین گزارش شده که با استفاده از 30 mg/kg کروسین می توان نقایص رفتاری و شناختی ایجاد شده در موش های دارای آسیب خفیف تروماتیک مغزی را از طریق کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو، بهبود داد. این عامل به واسطه سرکوب پروتئین NLRP3، یک عامل کلیدی در تحریک پاسخ های التهابی، و سروتونین ۱، یک واسطه های التهابی و تنظیم کننده میزان فاکتور نکروز تومور آلفا ($\text{TNF-}\alpha$) و اینترلوکین، انجام می پذیرد (Anaeigoudari et al., 2023). محققان مطالعات دیگری را با دیگر ترکیبات زعفران، از جمله سافرانال اجرا کردند؛ در آزمایشی که بر روی موش های دارای آسیب مغزی ناشی از ایسکمی و سمیت عصبی ناشی از کینولینیک انجام شد، گزارش



شد که با تزریق داخل صفاقی (ip) دوزهای متفاوت سافرانال به واسطه خاصیت آنتی اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در هیپوکامپ موش‌ها، بهبود نسبی حاصل شد (Salem, Shaheen et al. 2022). در یک کارآزمایی بالینی کنترل شده، اثر درمانی ۱ میلی گرم زعفران به مدت ۱ ماه در مبتلا به افسردگی مورد بررسی قرار گرفت؛ پس از آن با توجه به تحلیل‌های روانشناسی، سلامت بیمار بهبود یافته بود. تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی نیز کاهش سطح پروتئین CRP، پروتئینی مرتبط با افسردگی، و افزایش دسترسی مغز به سروتونین و افزایش سطح فاکتور BDNF، از فاکتورهای نوروتروفیک مرتبط با افسردگی، نشان می‌داد. در یک آزمایش دیگر که بر موش‌های مبتلا به ایسکمی مغزی انجام شد تزریق دوزهای متفاوت عصاره زعفران، با کاهش سطح اینترلوکین ۶ (IL-6)، اینترلوکین ۱بتا (IL-1 β)، فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF- α) و افزایش اینترلوکین ۱۰ (IL-10) اضطراب را کاهش و رفتارها و نقص‌های شناختی را بهبود بخشید. در طرح تحقیقی دیگری گزارش شد که، کروسین سبب تعدیل علائم اسکیزوفرنی ناشی از MK-801 و افزایش بیان فاکتور BDNF در موش می‌شود. MK-801 یک آنتاگونیست گیرنده رفتاری است که برای القای رفتارهای شیزوفرنی مانند در مدل‌های حیوانات استفاده می‌گردد (Maggi et al., 2022).

۳-۲. اثرات بر سیستم قلبی و عروقی

بیماری‌های قلبی عروقی از جمله علل مهم مرگ‌ومیر در جهان در نظر گرفته می‌شوند. در یک مطالعه انسانی، استفاده روزانه ۱۰۰ mg زعفران، به مدت ۶ هفته در بیماران مبتلا به آترواسکلروز، از بیماری‌های قلبی عروقی، کیفیت زندگی و اشتها را بهبود بخشیده شد. در مطالعه‌ای دیگر که بر روی موش‌های مبتلا به آترواسکلروز دیابتی انجام شد، تزریق ۳۰ mg/kg، ۶۰ mg/kg و ۹۰ mg/kg زعفران سبب تعدیل واکنش‌های التهابی و بروز اثرات ضد آترواسکلروتیک شد. در مطالعات انسانی که بر روی مردان مسن با فشار خون بالا از دیگر عوامل بیماری قلبی و عروقی، انجام شد؛ استفاده از ۲۰۰ mg زعفران سبب کاهش فشار خون سیستولی، دیاستولی، فشار خون شریانی شد. این اثر با افزایش قابل توجه نیتریک اکسید (NO) و سطح آدیپونکتین و کاهش قابل توجه غلظت اندوتلین-۱ همراه بود. در یک مطالعه حیوانی، تزریق داخل وریدی عصاره هیدروالکلی زعفران فشار خون ناشی از آنژیوتانسین ۲ را در موش ترمیم کرد و سبب کاهش فشار خون سیستولی، فشار خون شریانی و ضربان قلب شد. همچنین در مطالعه مشابه، تجویز داخل وریدی ۵۰ mg/kg، ۱۰۰ mg/kg و ۲۰۰ mg/kg کروسین سبب کاهش خون سیستولی، فشار خون شریانی و ضربان قلب در موش‌های تحت تاثیر آنژیوتانسین ۲ شد. استرس اکسیداتیو و التهابات از عوامل دیگر تنظیم نادرست و غیرطبیعی سیستم قلبی عروقی اند. در مطالعه‌ای که بر روی بیماران مبتلا به بیماری‌های عروق کرونر انجام شد، استفاده روزانه از ۳۰ mg کروسین به مدت ۸ هفته سبب افزایش بیان پروتئین SIRT1 و پروتئین AMPK شد، همزمان تولید لیپوپروتئین با چگالی کم، گیرنده‌های پروتئینی LOX1، فاکتور هسته ای کاپا-بتا (NF- κ B) و پروتئین جذب کننده مونوسیت ۱ (MCP-1) کاهش داشت. نشان داده شده است که استفاده از عصاره زعفران و مشخصاً کروسین باعث تعادل اکسیداتیو، افزایش سطح آنتی اکسیدانی، حفظ عملکردهای همودینامیک سیستم قلبی عروقی و در نتیجه تسکین آسیب‌های قلبی می‌گردد. مطالعات انجام شده همچنین نشانگر اثر مثبت کروسین بر آسیب‌های ناشی از انفارکتوس

میوکارد و نیز مسمومیت قلبی ناشی از موش صحرایی بود. این اثرات احتمالا به واسطه‌ی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد آپاپتوز کروسین روی می‌دهد. علاوه بر این تحقیقات دیگر، اثرات درمانی زعفران را به واسطه‌ی جلوگیری از استرس اکسیداتیو، بر بهبود آریتمی‌های بطنی کشنده در موش را تأیید کرد. در مطالعه‌ای که بر روی موش‌های مبتلا به ایسکمی میوکارد انجام شد، مشاهده شد که کروسین زعفران سبب مهار تولید مالون دی‌آلدئید (MDA)، یک مولکول که به عنوان واسطه فسفولیپیدها و پروتئین‌های گلوبول قرمز عمل می‌کند، و سرکوب بیان $TNF-\alpha$ ، توقف آپوپتوز سلولی و بهبود علائم می‌شود. این عوامل احتمالا به واسطه‌ی پروتئین کیناز ERK1/2، گلیکوژن سنتتاز کیناز- β (GSK3- β) و فاکتور هسته‌ای اریترئید 2 (Nrf2) در عصاره زعفران بود (osseinzadeh et al., 2016).

۳-۳. اثرات بر سیستم تنفسی

بیماری مزمن انسدادی ریه (COPD) نوعی بیماری‌های پیشرونده سیستم تنفسی است که با محدودیت جریان هوا و تخریب بافت ریه همراه است. عوامل متعددی از جمله سن، جنس، ژنتیک، عفونت‌ها، افزایش بیان NF-kB، التهاب راه‌های هوایی ناشی از استرس اکسیداتیو و سیگار کشیدن به عنوان عوامل شروع و پیشرفت بیماری ذکر شده است. بنابراین یکی از استراتژی‌های درمانی بیماری مزمن انسدادی ریه، مدیریت واکنش‌های التهابی و استرس اکسیداتیو است. بر این اساس در مطالعه‌ای تأثیر درمانی روزانه ۳۰ mg کروسین به مدت ۱۲ هفته بر بیماران COPD بررسی شد. با توجه به یافته‌های بیوشیمیایی، کاهش علائم بیماری با کاهش میزان اکسیدان‌ها و NF-kB و افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در خون همراه بود. در یک مطالعه که بر روی موش‌های دیابتی انجام شد، تزریق روزانه ساfranال با کاهش مالون دی‌آلدئید و نیتریک اکسید و افزایش آنزیم گلوکوتایون و آنتی‌اکسیدان SOD در ریه، از دیسترس تنفسی جلوگیری کرد. آسم از دیگر بیماری‌های مهم تنفسی است که با تنگ شدن نایژه و نایژک‌ها بروز می‌کند. در مطالعات تجربی از اوآلبومین برای حساس کردن حیوانات و القای آسم استفاده می‌گردد. در مطالعات انجام شده بر روی خوکچه‌های هندی حساس شده با اوآلبومین، گزارش شد که استفاده روزانه از عصاره هیدروآلکلی زعفران سبب کاهش سطح اینترلوکین ۴ (IL-4)، اینترلوکین ۱۳ (IL-13)، نیتريت، نیتریک اکسید و افزایش اینترفرون گاما ($IFN-\gamma$) و نسبت T-helper1/T-helper2 در مبتلایان می‌گردد (سلول‌های لنفوسیت T-helper2 سبب القای التهاب و سلول‌های لنفوسیت T-helper1 سبب سرکوب التهاب می‌شوند. علاوه بر این گزارش شد که پارامترهای خونی چون تعداد کل گلبول‌های سفید، درصد ائوزینوفیلی، شمار پلاکت و تعداد گلبول‌های قرمز نیز کاهش داشته است. در مطالعه‌ای که بر روی اسب‌های آلرژیک انجام شد، گزارش شد که استفاده روزانه از ۱۰۰ mg زعفران سبب بهبود فاکتورهای تست اسپرومتری مانند حجم بازدمی اجباری در ثانیه اول (FEV1)، ظرفیت حیاتی اجباری (FVC)، نسبت FEV1/FVC و جریان بازدمی اجباری شده و نیز کاهش پروتئین hs-CRP و پروتئین anti-HSP را به دنبال دارد (Khorasany 2016, Anaiegoudari et al., 2023).



۳-۴. اثرات بر روی سیستم گوارشی

بیماری التهابی روده (IBD) شامل بیماری کرون (CD) و کولیت اولسراتیو از اختلالات التهابی مزمن در دستگاه گوارش است که شیوع آن در سراسر جهان افزایش داشته است. عموماً اختلال در عملکرد سیستم ایمنی، عوامل محیطی، ژنتیکی و جمعیت فلور میکروبی روده نقش مهمی در پاتوژنز IBD دارند (Anaieigoudari, 2023). شواهد بالینی و تجربی نیز بیانگر بیش از حد سروتونین و ۵-هیدروکسی تریپتامین (5-HT) است که این موضوع خود نشانگر افزایش واسطه‌های التهابی است. در مطالعه‌ای که بر روی موش‌های مبتلا به کولیت ناشی از دکستران سولفات سدیم انجام شد، گزارش شد که با مصرف ۱۰ و ۲۰ mg/kg زعفران به واسطه کاهش بیان فاکتور پروتئینی NF- κ B، ترشح 5-HT، IL-1 β ، IL-6 و TNF- α سرکوب می‌شود و در نتیجه بیماری رو به بهبود می‌رود. در این گزارش اغلب فلور میکروبی بدون تغییر باقی می‌ماند (Singh, Haileselassie et al. 2022). بر خلاف مطالعه قبلی در مطالعه مشابه دیگری با کمال تعجب، نتایج متفاوتی به دست آمد و کروستین استخراج شده از زعفران، هموستاز روده‌ای را واژگون کرد و دوره بهبودی کولیت ناشی از دکستران سولفات سدیم را در موش‌ها با تشدید التهاب و اختلال در وضعیت فلور میکروبی روده به تعویق انداخت. سرطان معده یکی دیگر از بیماری‌های گوارشی و از علل مهم مرگ و میر در مناطق مختلف جهان است. در مطالعات انجام شده بر روی موش‌های مبتلا به سرطان معده نتایج پاتولوژیک نشان داد که عصاره زعفران بسته به دوز استفاده شده، اثرات درمانی مثبتی بر موش‌های سرطانی دارد. اثرات گزارش شده بیشتر به خواص آنتی اکسیدانی زعفران و بهبود استرس اکسیداتیو، مهار واکنش‌های التهابی و جلوگیری از آپاپتوز سلولی نسبت داده می‌شود (Bolhassani et al., 2014).

۳-۵. اثرات بر سیستم کلیوی-تناسلی

نفروپاتی دیابتی (DN) یکی از اختلالات مزمن در عملکرد کلیه است که در افراد مبتلا به دیابت رخ می‌دهد. پاتوژنز این بیماری پیچیده و چند عاملی است و فرآیندهای التهابی و استرس اکسیداتیو نقش کلیدی در القای بیماری دارند. مطالعات انجام شده نشان داد که تجویز خوراکی روزانه ۲۰ mg/kg کروسین به مدت ۸ هفته به واسطه‌ی افزایش سطح بیومارکرهای آنتی اکسیدانی مانند SOD و GSH و کاهش غلظت MDA و IL-6 و کاهش NF- κ B در بافت کلیه با بهبود شرایط استرس اکسیداتیو و سرکوب تولید سیتوکین‌های التهابی سبب بهبود غلظت نفروپاتی در موش‌های دیابتی می‌شود. در یک مطالعه انسانی نیز گزارش شد که کروسین سبب بهبود پروفایل چربی خون و بهبود عملکرد کبد و کلیه در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌گردد. همچنین مطالعات انجام شده گزارش دادند که کروسین می‌تواند باعث کاهش سطح MDA، IL-6، NF- κ B، TNF- α ، نیتریک اکسید سنتاز (iNOS) و سیکلواکسیژناز و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از جمله گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و SOD و از کلیه‌ها، کبد و مغز در برابر استرس اکسیداتیو محافظت کند و خطر سمیت کلیوی را کاهش می‌دهد. همچنین مشخص شده است مصرف روزانه میزان مشخصی از عصاره گلبرگ‌های زعفران به مدت ۸ هفته، بافت کلیه موش‌ها را از آسیب‌های ناشی از اتانول حفظ می‌کند. ایسکمی کلیوی که از دیگر بیماری‌های این سیستم است که ممکن است در نتیجه فشار خون بالا و پیوند کلیه ایجاد شده و منجر به آسیب اکسیداتیو



هیپوکسیک و التهاب کلیه‌ها شود. در مطالعه‌ای اثر عصاره هیدروالکلی زعفران در برابر آسیب حاد کلیه ناشی از ایسکمی در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده، زعفران بسته به دوز استفاده شده منجر به کاهش سطح کراتینین، MDA، TNF- α ، چسبندگی مولکولی بین سلولی و فیلتراسیون لکوسیتی شد (Anaieigoudari et al., 2023). آمینوگلیکوزیدها از جمله جنتامایسین به عنوان دسته‌ای از آنتی بیوتیک‌ها هستند که برای مقابله با باکتری‌ها کاربرد دارند. یکی از عوارض جانبی شناخته شده این آنتی بیوتیک‌ها سمیت کلیوی است. تصور می‌شود که اثرات سمی آنتی بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدها بر کلیه به دلیل القای تولید رادیکال‌های آزاد باشد. بر اساس مطالعات انجام شده زعفران، سمیت کلیوی ناشی از جنتامایسین را درمان می‌کند. مطابق با نتایج این مطالعات، زعفران باعث کاهش قابل توجه غلظت اوره، کراتینین، اسید اوریک و آلبومین خون و همچنین کاهش قابل توجه سطح MDA بافت کلیه می‌شود (Ouahhoud, Bencheikh et al., 2022). در مطالعه‌ای دیگر مکمل زعفران به طور قابل توجهی باعث کاهش آنزیم‌های کبدی ALT و AST در موش‌هایی شد که از رژیم غذایی پرچرب و قند بالا تغذیه شده بودند. همچنین گزارش شد که زعفران بر بیان ژن‌های کلیدی دخیل در متابولیسم چربی تأثیر گذاشته بود و با افزایش بیان PPAR α و کاهش بیان SREBP 1-c و DGAT2 سبب تجزیه چربی، محدود کردن سنتز چربی و تجمع تری گلیسیرید در بدن آن‌ها شده بود. همزمان تست‌های بیوشیمیایی خون نیز بیانگر کاهش گلوکز، انسولین و نشانگرهای مقاومت به انسولین، افزایش کلسترول HDL و کاهش تری گلیسیرید در خون، بهبود پروفایل لیپیدی بود (Aryaeian, Alipour et al. 2024).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

در این مقاله مکانیسم‌های بیوشیمیایی زعفران در درمان بیماری‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس پژوهش‌های مختلف، کروسین و سافرانال مهم‌ترین ترکیبات فتوشیمیایی زعفران‌اند که بیشتر خواص مثبت بیوشیمیایی زعفران بر اثر این دو ترکیب روی می‌دهد و احتمالاً این دو ترکیب فیتوشیمیایی می‌توانند جایگزینی برای عصاره زعفران باشند. کروسین بر تنظیم بیان انواع ژن‌های کلیدی متابولیسم مانند سیرتوئین-۱ (SIRT1)، فاکتور Nrf2 و انواع اینترلوکین‌ها موثر است و با این کار با مکانیسم خاص خود در هر یک از اعضای مختلف بدن سبب مهار واکنش‌های التهابی، کنترل استرس اکسیداتیو و از بین بردن رادیکال‌های آزاد می‌شود. همچنین کروسین مسیر پیام‌رسانی سلولی فاکتور هسته‌ای کاپا-بتا (NF- κ B) را کاهش می‌دهد و سبب مهار نیتریک اکسید سنتاز و سیکلواکسیژناز-۲ (COX2) می‌گردد که این موضوع اهمیت مهمی در حفظ هموستاز سیستم قلبی و عروقی دارد. سافرانال دیگر ترکیب مهم زعفران، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است و اکثر خواص خود را با کاهش مالون‌دی‌آلدهید، نیتریک اکسید و افزایش آنزیم گلو‌تاتیون در ریه بر جای می‌گذارد، همچنین سافرانال با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی بر متابولیسم چربی‌ها نیز موثر است. باید یادآور شد، اثرات مثبت زعفران بر کسی پوشیده نیست اما همواره به انجام تحقیقات و آزمایشات بیشتر برای روشن‌تر شدن مکانیسم‌های مولکولی و پاتولوژیک زعفران و گیاهان دارویی دیگر توصیه می‌گردد.



منابع

- Anaeigoudari, F., Anaeigoudari, A. and Kheirkhah-Vakilabad, A., 2023. A review of therapeutic impacts of saffron (*Crocus sativus* L.) and its constituents. *Physiological reports*, 11(15): p.e15785.
- Aryaeian, N., Alipour, R., Karegar, S.J., Soleimani, M., Hosseini, A. and Hekmatdoost, A., 2024. Saffron effects on liver enzymes, antioxidant capacity, insulin, inflammation and genes expression of lipolysis and lipogenesis in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical Nutrition Open Science*, 53: pp.95-107.
- Bolhassani, A., Khavari, A. and Bathaie, S.Z., 2014. Saffron and natural carotenoids: Biochemical activities and anti-tumor effects. *Biochimica et Biophysica Acta (Bba)-reviews on cancer*, 1845(1): pp.20-30.
- Demurtas, O.C., Frusciante, S., Ferrante, P., Diretto, G., Azad, N.H., Pietrella, M., Aprea, G., Taddei, A.R., Romano, E., Mi, J. and Al-Babili, S., 2018. Candidate enzymes for saffron crocin biosynthesis are localized in multiple cellular compartments. *Plant Physiology*, 177(3): pp.990-1006.
- Khorasany, A. R. and H. Hosseinzadeh (2016). "Therapeutic effects of saffron (*Crocus sativus* L.) in digestive disorders: a review." *Iranian journal of basic medical sciences* 19(5): 455.
- Maggi, M.A., Bisti, S. and Picco, C., 2020. Saffron: Chemical composition and neuroprotective activity. *Molecules*, 25(23): p.5618.
- Naim, N., Guirrou, I., Fauconnier, M.L., Hafida, H., Tahiri, A., Madani, I., Lahlali, R. and Ennahli, S., 2023. Chemical, biochemical and volatile profiles of saffron (*Crocus sativus* L.) from different growing areas of Morocco. *JSFA Reports*, 3(5): pp.233-247.
- Ouahhoud, S., Bencheikh, N., Khoulati, A., Kadda, S., Mamri, S., Ziani, A., Baddaoui, S., Eddabbeh, F.E., Elassri, S., Lahmass, I. and Benabbes, R., 2022. *Crocus sativus* L. stigmas, tepals, and leaves ameliorate gentamicin-induced renal toxicity: A biochemical and histopathological study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022(1):p.7127037.
- Salem, M., Shaheen, M., Tabbara, A. and Borjac, J., 2022. Saffron extract and crocin exert anti-inflammatory and anti-oxidative effects in a repetitive mild traumatic brain injury mouse model. *Scientific Reports*, 12(1): p.5004.
- Shams, Z. (2023). "Gene Expression Patterns of CsZCD and Apocarotenoid Accumulation during Saffron Stigma Development." *arXiv preprint arXiv:2309.11513*.
- Singh, G., Haileselassie, Y., Ji, A.R., Maecker, H.T., Sinha, S.R., Brim, H., Habtezion, A. and Ashktorab, H., 2022. Protective effect of saffron in mouse colitis models through immune modulation. *Digestive Diseases and Sciences*, pp.1-14.

مطالعه‌ی ترپنوئیدهای گیاه دارویی *Jubertia aucheri*

هانیه فرهمند^{۱*}، فاطمه دانشمند^۱، امیرعباس مینائی فر^۱ و فاطمه نژادعلیمردای^۱

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران (haniefarahmand64@gmail.com)

چکیده

گیاهان توانایی سنتز و ذخیره انواع مختلفی از ترکیبات به نام متابولیت‌های ثانویه را دارند که از این دسته می‌توان به ترپنوئیدها (واحدهای ایزوپرن ۵ کربنی) اشاره کرد، عملکردهای مختلف بیولوژیکی این ترکیبات اثبات شده است. گیاه دارویی *Jubertia aucheri* از خانواده رویاسه، گیاهی گل‌دار است که به صورت وحشی در جنوب ایران روئیده و فراورده‌های گیاه مانند جوشانده و دم کرده آن کاربرد دارویی دارد. در این پژوهش، هدف بررسی ترکیبات ترپنوئیدی گیاه دارویی *J. aucheri* با استفاده از کروماتوگرافی GC-MS است. در گیاه، ۲۷ ترکیب ترپنوئیدی شناسایی شد که بیشترین مقدار مربوط به trans-cinnamaldehyde (57/15 درصد) و کمترین مقدار مربوط به comphore (۰/۰۴ درصد) بود. ترکیبات دیگری مانند 1,8-Cineole (۱۱/۹۶ درصد)، α -humulene (۹/۶۶ درصد)، pinocomphone (۶/۲۲ درصد)، β -caryophyllene (۵/۳۰ درصد)، Sclareol (۲/۲۱ درصد)، β -thujone (۱/۳۰ درصد)، Caryophyllene oxide (۱/۱۶ درصد) شناسایی شد. با توجه به کاربردهای دارویی بسیاری از ترکیبات ترپنوئیدی شناسایی شده در گیاه *J. aucheri*، می‌توان بر روی استخراج و اثربخشی آن در درمان بیماری‌ها استفاده کرد.

واژگان کلیدی: ترپنوئید، GC-MS، trans-cinnamaldehyde



۱. مقدمه

متابولیت‌های ثانویه از متابولیت‌های اولیه در گروه‌های تاکسونومیک خاصی از گیاهان مشتق می‌شوند و دارای فعالیت‌های فیزیولوژیکی متنوعی می‌باشند (Siddiqui et al. 2024). این مولکول‌های کوچک طیف وسیعی از اثرات را بر خود گیاه و سایر موجودات زنده اعمال می‌کنند. آنها باعث گل‌دهی، تشکیل میوه و ریزش می‌شوند، رشد چند ساله را حفظ می‌کنند، به عنوان ضد میکروبی عمل می‌کنند و نقش جذب کننده یا برعکس دافع را ایفا می‌کنند. بیش از ۵۰۰۰۰ متابولیت ثانویه در قلمرو گیاهی کشف شده است. گیاهان دارویی و بسیاری از داروهای مدرن برای اعمال خود به متابولیت‌های ثانویه گیاهی متکی هستند (Teoh., 2016). ماهیت شیمیایی و ترکیب متابولیت‌ها در گیاهان در بین گونه‌ها متفاوت است. هیچ تمایز واضحی بین متابولیت‌های اولیه و ثانویه وجود ندارد و تعریف آن کاملاً گیج‌کننده است، زیرا بیشتر متابولیت‌های موجود در محصولات طبیعی گیاهان متابولیت‌های ثانویه هستند. استفاده از متابولیت‌های گیاهی از ۲۶۰۰ سال قبل از میلاد آغاز شد و در ۴۰۰۰ سال بعد، متابولیت‌های ثانویه منشا گیاهان عمدتاً برای اهداف دارویی و سمی و همچنین غذایی مورد استفاده قرار گرفتند. مورفین اولین محصول طبیعی جدا شده از خشخاش (*Papaver somniferum*) در سال ۱۸۰۶ بود و عصر جدیدی را در تحقیقات متابولیت ثانویه گشود. سپس مشخص شد که فعالیت عصاره‌های گیاهی به یک ترکیب آلی منفرد نسبت داده می‌شود که هویت فردی خود را دارد و می‌تواند خالص شود. بنابراین، نتایج تحقیقات اولیه محصولات طبیعی آغاز شد و تا به امروز، متابولیت‌های ثانویه گیاهی نقش عمده‌ای را ایفا کرده‌اند، با این واقعیت که نشان می‌دهد بیش از ۳۰ درصد محصولات دارویی به طور مستقیم یا غیرمستقیم از محصولات طبیعی مشتق می‌شوند. در ۱۰۰ سال گذشته، به دلیل در دسترس بودن تجهیزات تحقیقاتی پیشرفته، رشد سریعی در تحقیقات متابولیت گیاهی وجود داشته است (Twaij et al. 2022).

گیاهان برای هزاران سال، اساس طب سنتی در سرتاسر جهان بوده‌اند و همچنان مطالعات بر روی آنها در جهت ارائه داروهای جدید ادامه دارد. بنابراین، تلاش زیادی بر روی استفاده از تکنیک‌های تجربی موجود برای شناسایی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از گیاهان متمرکز شده است. گیاه دارویی *Jubertia* یک سرده از گیاهان گلدار از خانواده رویاسه (*Rubiaceae*) است. این جنس در سال ۲۰۰۷ با ادغام چندین جنس دیگر گسترش یافت. در حال حاضر حدود ۳۴ گونه از این جنس وجود دارد. گیاهان این تیره علفی یا بوته‌ای هستند. آنها معمولاً در هنگام خرد شدن رایحه تندی دارند (Zekavati et al. 2018). یکی از معروف‌ترین گونه‌های این تیره با بیشترین پراکندگی جغرافیایی گونه *J. aucheri* است که به صورت وحشی در جنوب ایران، عراق و شمال عمان می‌روید (Poor-Ramezan., 2013). گونه‌های مختلف جنس *Jubertia* که با نام‌های *Gaillonia* و *Plocama* نیز نامیده می‌شود در طب سنتی کاربردهای متفاوتی دارند. به عنوان مثال *G. corniculatum* به عنوان یک داروی مخدر و خواب‌آور استفاده می‌شود و برای تسکین دیابت کاربرد دارد. *G. vitellinum* برای درمان برونشیت، آئزین، سرفه‌های مداوم، سیاه‌سرفه و آسم مناسب است (Hakemi-vala et al. 2015).

ترپنوئیدها دسته متنوعی از ترکیبات آلی زیستی هستند که از واحد ایزوپرن پنج کربنی (C_5H_8) مشتق می‌شوند. واحد ایزوپرن شامل دو گروه متیل (CH_3) متصل به دو پیوند دوگانه است که نقش مهمی در واکنش‌پذیری و پایداری دارد. ترپنوئیدها به دلیل بوهای قوی خود شناخته می‌شوند و مسئول رایحه‌های خاص بسیاری از گیاهان، اسانس‌ها و رزین‌ها هستند و در



عملکردهای مختلف بیولوژیکی نقش اساسی دارند و طیف وسیعی از فعالیت‌های دارویی دارند (Masyita et al. 2022). ترپنوئیدها به عنوان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان معطر و دارویی نقش مهمی در مقاومت به بیماری دارند. به عنوان مثال، مونوترپنوئیدها به عنوان عوامل ضد باکتری عمل می‌کنند، رشد میکروبی را مختل می‌کنند و در فعالیت‌های فیزیولوژیکی آنها دخالت می‌کنند. ترکیباتی مانند آزادیراکتین، کارون، منتول، آسکاریدول، متیل اوژنول، تووسندائین و ولکنسین دارای خواص ضد میکروبی، ضد قارچی و دافع حشرات هستند (Siddiqui et al. 2024). بر اساس واحدهای ایزوپرن ۵ کربنی، ترپن‌ها در هفت گروه (1) همی‌ترپن‌ها (واحد ایزوپرن منفرد) (2) مونوترپن‌ها (دو واحد ایزوپرن) (3) سسکوئی‌ترپن‌ها (سه واحد ایزوپرن) (4) دی‌ترپن‌ها (چهار واحد ایزوپرن) (5) سسترتپن‌ها (پنج واحد ایزوپرن) (6) تری‌ترپن‌ها (شش واحد ایزوپرن) (7) کاروتنوئیدها (هشت واحد ایزوپرن) قرار می‌گیرند (Teoh., 2016). ترپن‌ها از طریق دو مسیر مختلف که یکی از آنها به نام مسیر موالونات (MVA) در سیتوپلاسم و دیگری به نام مسیر متیل‌اری‌تریول-۴-فسفات (MEP) که در پلاست‌ها اتفاق می‌افتد، بیوسنتز می‌شوند. در مسیر MVA، ترکیباتی همچون سسکوئی‌ترپن، تری‌ترپن و ... سنتز می‌شوند، در حالی که مسیر MEP مسئول بیوسنتز ترکیبات مونوترپنی، دی‌ترپنی و ... می‌باشد (اندی و همکاران، ۱۳۹۷).

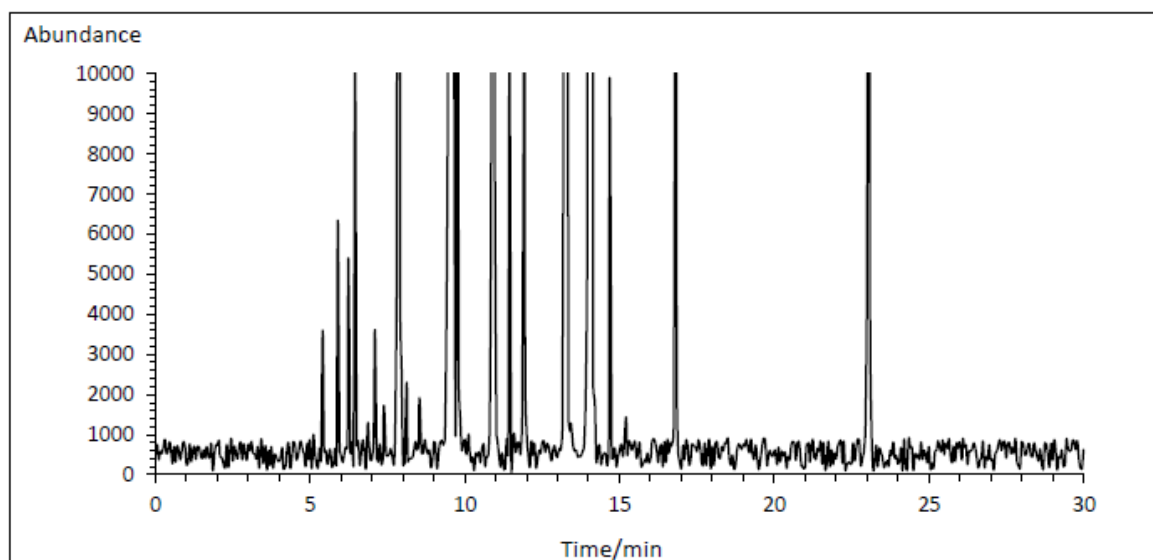
پژوهش‌هایی بر روی گیاهان دارویی مختلف جهت شناسایی نوع و مقدار ترپنوئیدها صورت گرفته است که از جمله این پژوهش‌ها می‌توان به پژوهش داودی و همکاران (۱۳۹۹) بر روی شناسایی و استخراج ترکیبات ترپنوئیدی از *Stipacapensis* را با استفاده از روش‌های LC-MS و GC-MS، حبیبی و همکاران (۱۳۹۲) ترپنوئیدهای قسمت‌های هوایی گیاه *Salvia verticillata*، در سال (۲۰۲۰)، Liu و همکاران ژن‌های سنتز سسکوئی‌ترپن‌ها در گیاه *Camellia sinensis* اشاره کرد. از آنجایی که متابولیت‌های ثانویه از جمله ترپنوئیدها از دسته منابع طبیعی مهم برای توسعه داروها و محصولات طبیعی با فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی و اکولوژیکی هستند، و با توجه به این مطلب که تاکنون مطالعه فیتوشیمیایی کاملی روی گیاه *Jubertia. aucheri* انجام نشده است، هدف از این مطالعه و شناسایی ترکیبات ترپنوئیدی این گیاه دارویی می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

سرشاخه‌های گل‌دار گیاه دارویی *Jubertia aucheri* در اواخر اسفند ۱۴۰۲ از مناطق پراکنش آن واقع در حومه شهرستان کهنوج استان کرمان جمع‌آوری شد. شناسایی و تایید جنس و گونه‌ی گیاه توسط آقای دکتر سید منصور میرتاج‌الدینی عضو هیات علمی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. جهت بررسی ترکیبات مورد نظر، ابتدا اندام‌های هوایی گیاه جدا شد، سپس توسط آب مقطر شستشو داده شدند. قسمت‌های گیاهی جدا شده در سایه به طور کامل خشک و در نهایت به صورت پودر درآمدند. عصاره اندام هوایی نمونه گیاهی به روش سوکسله تهیه شد، و شناسایی ترکیبات ترپنوئیدی طبق روش Di Carro و همکاران (۲۰۱۳) انجام و از کروماتوگرافی گازی سری Agilent 7890 همراه با طیف‌سنج جرمی چهار قطبی Agilent 5975 N MSD استفاده شد (Di Carro et al. 2013).

۳. نتایج

در گیاه *Jubertia aucheri* ۲۷ ترکیب ترپنوئیدی شناسایی شد که بیشترین مقدار مربوط به ترکیب-trans-cinnamaldehyde (57/15 درصد) و کمترین مقدار مربوط به ترکیب comphore (۰/۰۴ درصد) است. کروماتوگرام مربوط به ترپنوئیدها در نمودار ۱ و نام ترکیبات ترپنوئیدی شناسایی شده به همراه غلظت آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.



نمودار ۱: کروماتوگرام GC-MS ترکیبات ترپنوئیدی در گیاه *Jubertia aucheri*

جدول ۱: نام ترکیبات ترپنوئیدی شناسایی شده در گیاه *Jubertia aucheri*

شماره پیک	نام ترکیب ترپنوئیدی	غلظت (%)
۱	α -thujene	۰/۰۶
۲	α -pinene	۰/۲۳
۳	Camphene	۰/۴۱
۴	Sabinene	۰/۳۵
۵	β -pinen	۰/۶۹
۶	β -myrcene	۰/۰۸
۷	β -cymene	۰/۲۳
۸	Limonene	۰/۱۱
۹	1,8-Cineole	۱۱/۹۶
۱۰	cis-cinnamaldehyde	۰/۱۵



۱۱	β -terpinene	۰/۱۲
۱۲	trans-cinnamaldehyde	۵۷/۱۵
۱۳	β -thujone	۱/۳۰
۱۴	cis-sabinol	۰/۰۶
۱۵	Comphore	۰/۰۴
۱۶	Pinocomphone	۶/۲۲
۱۷	Borneol	۰/۶۹
۱۸	bornyl acetate	۰/۰۶
۱۹	myrtenyl acetate	۰/۷۷
۲۰	β -caryophyllene	۵/۳۰
21	(+)-aromadendrene	۰/۰۸
22	α -humulene	۹/۶۶
23	γ muurolene	۰/۶۵
24	\bar{O} -cadinene	۰/۰۹
25	ledol	۰/۰۳
26	Caryophyllene oxide	۱/۱۶
27	Sclareol	۲/۲۱

۴. بحث و نتیجه گیری

در پژوهش حاضر ۲۷ ترکیب ترپنوئید توسط کروماتوگرافی GC-MS در گیاه *J. aucheri* شناسایی شد که از جمله آن‌ها می‌توان به cinnamaldehyde, 1,8-Cineole, α -humulene, pinocomphone, β -caryophyllene, Sclareol, β -thujone و caryophyllene oxide اشاره کرد که مقادیر هر کدام به ترتیب ۵۷/۱۵، ۱۱/۹۶، ۹/۶۶، ۶/۲۲، ۵/۳۰، ۲/۲۱، ۱/۳۰، ۱/۱۶ درصد بود. تحقیقات متعددی در زمینه کاربردهای درمانی ترپنوئیدها جدا شده و خالص شده از گیاهان مختلف انجام شده است. به طور مثال سسکوئی ترپن‌های دو حلقه‌ای طبیعی مانند β -caryophyllene و caryophyllene oxide در تعداد زیادی از گیاهان در سرتاسر جهان وجود دارند. هر دو ترکیب دارای فعالیت‌های ضد سرطانی قابل توجهی هستند و بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی تاثیر می‌گذارند (Fidyt et al. 2016). در سال (۲۰۰۰) Yang و همکاران اثر ضد قارچی ترکیبات نام برده شده را در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. در سال (۲۰۰۹) Monzote و همکاران سمیت



caryophyllene oxide را بر روی اندامک داخل سلولی میتوکندری بررسی کردند و نشان دادند این ترکیب مانع انتقال زنجیره الکترون در میتوکندری می شود. Ghelardini و همکاران (۲۰۰۱) در بررسی اثر بی حسی موضعی β -caryophyllene مشخص نمودند این ترکیب توانست به شکلی وابسته به دوز، انقباضات الکتریکی برانگیخته همی دیافراگم فرنیک موش را کاهش دهد. در سال (۲۰۱۵) Pastor و همکاران از ترکیب *carvacrol*، *ascaridole* و caryophyllene oxide بر علیه انگل لیشمانیا (عامل سالک) استفاده کردند. با توجه به پژوهش های آورده شده مشخص می شود دو ترکیب β -caryophyllene و caryophyllene oxide کاربردهای زیاد و متنوعی در درمان بیماری ها دارند و اثرات ضد سرطانی و ضد میکروبی آن مشخص شده است. بنابراین با توجه به حضور این ترکیبات در گیاه *J. aucheri*، داشتن خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی در این گیاه دور از انتظار نیست و یکی از علت های آن وجود همین ترکیبات ترپنوئیدی است. در سایر مطالعات تنوع کمیت و کیفیت ترکیبات β -caryophyllene و caryophyllene oxide در گیاهان دیگر بررسی شده است. در سال (۱۳۹۴) نجف پور نوایی و همکاران در بررسی ترکیبات شیمیایی اندام های مختلف گیاه *Helichrysum pallasii* نشان دادند میزان caryophyllene oxide در گیاه ۱۵ درصد است با اینکه در گیاه مورد مطالعه این پژوهش این میزان ۱/۱۶ درصد بود. در سال (۱۳۹۷) عاشقی و همکاران با اضافه کردن کودهای آلی و زیستی توانستند میزان caryophyllene oxide در گیاه ریحان را افزایش دهند و به بیشتر از ۲۵/۳ درصد برسانند.

اختلاف در مقادیر کمی ترکیبات فیتوشیمیایی در بین توده های مختلف ناشی از تنوع ژنتیکی، شرایط اکولوژیکی و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل رویش گیاه می باشد. از این رو بررسی تنوع ژنتیکی توده ها از یک سو و بررسی قابلیت رویشگاه مختلف در تولید ترکیبات دارویی از سوی دیگر دارای اهمیت قابل توجهی می باشد. علاوه بر این به نظر می رسد که تفاوت موجود بین محتوای متابولیت های ثانویه در رویشگاه هایی که دارای شرایط جغرافیایی و اکولوژیکی مشابهی هستند، می تواند ناشی از تنوع ژنتیکی بین جمعیت ها باشد (نصرتی و همکاران. ۱۳۹۸).

از دیگر ترپنوئید های شناسایی شده در گیاه *J. aucheri* در این پژوهش، ترکیب α -humulene (۹/۶۶ درصد) است. سسکوئی ترپنوئید ها ترکیباتی طبیعی هستند که به طور گسترده در گیاهان به ویژه آنهایی که غنی از اسانی هستند توزیع شده اند. در این میان α -humulene و ایزومر های آن به دلیل خواص دارویی متعدد و کاربرد آنها در صنایع آرایشی و بهداشتی، عطرسازی و غذایی متمایز است (Leite et al. 2021). در سال (۲۰۲۰) Jang و همکاران بر روی اثر ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی α -humulene بر علیه باکتری باکترئیدیس فراژلیس مطالعه کردند. بر اساس مطالعات مروری Leite و همکاران (۲۰۲۱) در ۴۱ درصد گزارشات α -humulene و ایزومر های آن دارای فعالیت ضد توموری و به دنبال آن فعالیت ضد التهابی و ضد میکروبی بودند. احمدی گل سفیدی و همکاران (۱۳۸۷) در بررسی ترکیبات موثر عصاره های گیاهی رازک نشان دادند مقدار، ترکیب α -humulene در این گیاه ۲/۵ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر بود. ترپنوئید trans-cinnamaldehyde ترکیبی است که توسط سازمان غذا و دارو ایالات متحده، انجمن تولید کنندگان طعم و عصاره به عنوان ترکیبی ایمن شناخته شده است. بنابراین این ترکیب یک افزودنی ایمن در خوراکی ها است و کاربردهای تجاری در زمینه مواد غذایی پیدا کرده است. این ترکیب در فیلم های ضد میکروبی خوراکی، تهیه شده از مواد غذایی مانند میوه ها و سبزیجات، قرار گرفته و عوامل بیماری زای موجود در



مواد غذایی را از طریق تماس مستقیم یا بخارات آزاد شده از فیلم‌ها در ظروف در بسته غیرفعال می‌کند (Doyle et al. 2019). مقدار ترکیب در گیاه *J. aucheri* در پژوهش حاضر از ترکیبات دیگر بیشتر بوده و برابر با ۵۷/۱۵ درصد بود.

منابع

- احمدی گل سفیدی، م.، سلیمانی، م.، آرودی، م. ۱۳۸۷. اندازه‌گیری همزمان ترکیبات موثره اصلی عصاره‌های گیاه دارویی رازک. نشریه علوم پایه (دانشگاه آزاد اسلامی). ۴۸: ۴۳-۴۹.
- اندی، س.ع.، مسکنی، ف.، کیانی، م.، رضوی، س.ع. ۱۳۹۷. مسیرهای بیوستز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی. دومین کنفرانس بین‌المللی فناوری‌های نوین در علوم. آمل.
- داودی، ف.، حمادی، ح.، پوررضا، ن. ۱۳۹۹. شناسایی و استخراج ترپنوئیدهای گیاه بهمن. مجله علمی پژوهشی شیمی کاربردی. ۱۵ (۵۵): ۱۳۵-۱۲۵.
- حبیبی، ز.، قویدل، م.، یوسفی، م. ۱۳۹۲. استخراج و شناسایی بتا-سیتوسترول و دو دی‌ترپنوئید از قسمت‌های هوایی گیاه *Salvia verticillata* L. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۹ (۳): ۵۳۹-۵۵۰.
- عاشقی، پ.، محمدتقی، د.، سیدمحمد رضا، س.ه. ۱۳۹۷. ارزیابی تاثیر کودهای آلی و زیستی بر عملکرد ماده‌ی خشک و کمیت و کیفیت اسانس ریحان سبز در منطقه‌ی فیروزکوه. علوم باغبانی ایران. ۴۹ (۱): ۱۹۹-۲۱۱.
- نجف‌پورنوازی، م.، میرزا، م.، غفرانی‌پناه، ع. ۱۳۹۴. بررسی و مقایسه ترکیب‌های شیمیایی اسانس اندام‌های مختلف گیاه *Helichrysum pallasii* در رویشگاه طبیعی استان تهران. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی. ۱۲ (۳): ۷۹-۸۵.
- نصرتی، ف.، فاخری، ب.، سلوکی، م.، مهدی نژاد، ن.، ولی زاده، م. ۱۳۹۸. بررسی برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه دارویی انزروت (*Astragalus fasciculifolius* Boiss.) در رویشگاه‌های طبیعی جنوب استان سیستان و بلوچستان، دو ماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی معطر ایران. ۳۵ (۱) ک ۶۸-۷۹.

- Di Carro, A., Ianni, C., Magi, E. (2013). Determination of Terpenoids in Plant Leaves by GC-MS: Development of the Method and Application to *Ocimum basilicum* and *Nicotiana langsdorffii*. Analytical Letters, 46(4): 630-639.
- Fidy, K., Fiedorowicz, L., Szumny, A. (2016). β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide—natural compounds of anticancer and analgesic properties. Cancer medicine, 5(10): 3007-3017.
- Ghelardini, C., Galeotti, N., Mannelli, L., Mazzanti, G. (2001). Local anaesthetic activity of β -caryophyllene. Il Farmaco, 56(5-7): 387-389.
- Hakemi-vala, M., Mehrara, M., Pourramezan, M. (2017). Comparison the Antimicrobial Effects of the Flowering Aerial Part of *Glaucium vitellinum* Boiss. and Buhse and *Gaillonia aucheri* Jaub. and Spach. Novelty in biomedicine, 5(1), 24-29.
- Jang, H., Rhee, K., Eom, Y. (2020). Antibacterial and antibiofilm effects of α -humulene against *Bacteroides fragilis*. Canadian journal of microbiology, 66 (6): 15-24.
- Leite, G., Barbosa, M., Lopes, M., Delmondes, G. (2021). Pharmacological and toxicological activities of α -humulene and its isomers: A systematic review. Trends in food science and technology, 115: 255-274.
- Liu, G., Yang, M., Fu, J. (2020). Identification and characterization of two sesquiterpene synthase genes involved in volatile-mediated defense in tea plant (*Camellia sinensis*). Plant Physiology and Biochemistry, 155: 650-657.



- Masyita, A., Mustika Sari, R., Dwi Astuti, A., Yasir, B., Rahma Rumata, N., Emran, T.Bin, Nainu, F., Simal-Gandara, J. (2022). Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chem*, X 13, 100217.
- Monzote, L., Stamberg, W., Staniek, K., Gille, L. (2009). Toxic effects of carvacrol, caryophyllene oxide, and ascaridole from essential oil of *Chenopodium ambrosioides* on mitochondria. *Toxicology and applied pharmacology*, 240(3): 337-347.
- Pastor, J., Garcia, M., Steinbauer, S., Setzer, W. (2015). Combinations of ascaridole, carvacrol, and caryophyllene oxide against *Leishmania*. *Acta tropica*, 145: 31-38.
- Poor-Ramazan, M. (2013). Preliminary phytochemical study and antimicrobial effect of extracts of Petroleum Ether, chloroform, Ethylacetate, methanol and water from aerial parts of Kartoos (*Gailonia aucheri*) Islamic Azad University, Medicinal Science Branch, Tehran.
- Siddiqui, T., Umar Khan, M., Sharma, V. (2024). Terpenoids in essential oils: Chemistry, classification, and potential impact on human health and industry. *Phytomedicine plus*, 4: 100549.
- Teoh., E.S.(2016). Secondary Metabolites of Plants. *Medicinal Orchids of Asia*. Springer, Cham, 59-73.
- Twaij, B., Hasan, N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology*, 13,4-14.
- Yang, D., Michel, L., Chaumont, J., Clerc, J. (2000). Use of caryophyllene oxide as an antifungal agent in an *in vitro* experimental model of onychomycosis. *Mycopathologia*, 148:79-82.
- Zekavati, R., Farjam, M., Doulah, A. (2017). Chemical Compositions of Essential Oil of *Gailonia aucheri* from Iran and it's Antimicrobial and Antioxidant Activities and Total Phenol Content. *Iranian Journal of Science and Technology*, 42, 1125-1130

بررسی میزان فنول، فلاوونوئید، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره زغال اخته

ساجده قلی پور شهرکی^{۱*} و الهام دهقان^۱

^{۱*} گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران (gholipour@ardakan.ac.ir)

چکیده

زغال اخته منبعی غنی از آنتوسیانین ها، ترکیبات فنولیک، فلاوونوئیدها و آسکوربیک اسید است. میزان این ترکیبات به ژنوتیپ گیاه، شرایط آب و هوایی، جغرافیایی و میزان رسیده بودن میوه بستگی دارد. این مطالعه با هدف تعیین میزان فنول، فلاوونوئید، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره زغال اخته انجام شد. در این مطالعه پس از تهیه عصاره ی هیدروالکلی زغال اخته، میزان فنول تام عصاره با روش Folin-Ciocalteu، میزان فلاوونوئید تام به روش colorimetric و میزان آنتوسیانین با استفاده از روش تفاوت PH اندازه گیری شد. همچنین به وسیله روش مهار رادیکال DPPH، فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ی عصاره بررسی گردید. طبق نتایج به دست آمده، میزان ترکیبات فنولیک ۱۳/۶ mg/g، فلاوونوئیدها ۴/۸۲ mg/g، آنتوسیانین ها ۱۵ mg/ml و $IC_{50} = ۱/۸۹ \mu\text{g/ml}$ برآورد شد. در نتیجه این گیاه به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی برای پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری ها قابل مصرف است.

واژگان کلیدی: آنتوسیانین، زغال اخته، فلاوونوئید، فنول.



۱. مقدمه

زغال اخته (Cornelian cherry) با نام علمی *Cornus mas* L. متعلق به خانواده *Cornaceae*، راسته *Cornales* و دارای ۶۵ گونه می‌باشد (Hassanpour et al., 2011; Dokoupil and Řezníček, 2013). گیاه زغال اخته به صورت درخت یا درختچه در کنار جریان آب و یا در بیشه‌ها می‌روید و از گروه گیاهان گل‌دار گلبرگ جدا محسوب می‌شود. (Rudrapaul et al., 2015) و ارتفاع آن به حدود ۷-۸ متر می‌رسد. درختی است با تاج مسطح و شاخه‌هایی که در ردیف‌های مسطح قرار دارند. و دارای برگ‌های متقابل، کامل (به ندرت لوبدار) و بدون استیپول‌اند. پوست تنه قهوه‌ای متوسط و فلس‌های پوست سوسماری شکل دارد. برگ‌ها ساده و متقابل و کامل به طول ۷ تا ۱۵ سانتیمتر و پهنای ۴ تا ۱۰ سانتیمتر و نوک تیز هستند. در ابتدای رشد سرخ رنگ بوده که بتدریج به رنگ سبز درخشان در می‌آیند. در پائیز، قبل از خزان دوباره قرمز رنگ می‌شوند (Bercu, 2013). گل‌های زغال اخته زرد رنگ و خوشه‌ای می‌باشند. برگ‌های سبز پر رنگ و براق و نوک تیز دارند. میوه‌ی آن به شکل بیضی و حدوداً به اندازه‌ی آلبالوی درشت است و طعم ترش و شیرین دارد و رنگ میوه‌ی آن قرمز است. زغال اخته در منطقه‌ی وسیعی از اروپا، آسیا و به خصوص ایران، ارمنستان و قفقاز می‌روید. محل رویش این گیاه در ایران در جنگل‌های ارسباران، کوه‌های البرز، منطقه‌ی الموت، قزوین و جنگل‌های بین مازندران و گیلان می‌باشد. میوه‌ی زغال اخته در اواخر تابستان آماده‌ی چیدن است (Pirlak and Güleriyüz, 2005).

این میوه حاوی مقادیر زیادی آهن، کلسیم، اسید فولیک، ویتامین‌های B1 و B2 و E و فلاوونوئیدهاست. آنتوسیانین موجود در زغال اخته رنگدانه‌ای از گروه فلاوونوئیدها می‌باشد که عامل رنگ قرمز این میوه است. تحقیقات نشان می‌دهد که آنتوسیانین‌ها باعث کاهش بیماری‌هایی مانند آترواسکلروز، بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان و دیابت می‌باشند. آنتوسیانین‌ها دارای آثار فارماکولوژیک گوناگونی از جمله اثرات آنتی اکسیدانی، ضد آلرژی، ضد باکتریایی، ضد التهابی، کاهنده‌ی کلسترول و مهار تجمع پلاکتی می‌باشد. آنتوسیانین‌ها موجب افزایش ترشح انسولین و بهبود مقاومت انسولینی و بهبود هایپرلیپیدمی می‌گردد (Demir and Kalyoncu, 2003). زغال اخته منبعی غنی از آنتوسیانین‌ها، ترکیبات فنولیک، فلاوونوئیدها و آسکوربیک اسید است. از جمله ترکیبات دیگر موجود در زغال اخته می‌توان *Malic acid*، *Tartaric acid*، *Citric acid*، *Galic acid*، *Loganin*، *Chlorogenic acid* و *Sweroside* را نام برد (Asgary et al., 2014). میزان این ترکیبات به ژنوتیپ گیاه، شرایط آب و هوایی، جغرافیایی و میزان رسیده بودن میوه بستگی دارد. ترکیبات آنتی اکسیدان موجود در زغال اخته شامل بوتیل هیدروکوانین، هیدروکسی تولوئن بوتیلات، هیدروکسی آنیزوبوتیلات و فلاوونوئیدهاست (Demir and Kalyoncu, 2003). این مطالعه، میزان ترکیبات فنولی، فلاوونوئیدی، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی اکسیدانی را در عصاره هیدروالکلی میوه زغال اخته مورد بررسی قرار داد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. تهیه‌ی عصاره‌ی زغال اخته

میوه‌ی زغال اخته در شهریور ماه سال ۱۴۰۱ از بازار شهرکرد خریداری شد. کیفیت، جنس و گونه‌ی آن توسط متخصص گیاه شناسی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تایید شد و با شماره‌ی هرباریوم ۲۰۱ نگهداری



گردید. پس از شست و شوی میوه، هسته ها جدا شد و جهت تهیه پودر خشک از دستگاه فریز درایر استفاده گردید که روش خشک شدن میوه در این دستگاه به شرح زیر می باشد:

نمونه هایی که در فریز درایر، خشک می شوند تا ۹۰ درصد از آب تشکیل شده اند و هنگامی که تحت خلاء قرار می گیرند، آب بصورت تصعید از داخل نمونه ها خارج می شود و به علت تخلیه هوای اطراف نمونه ها و ایزوله بودن قفسه ها از بدنه اتاقک خشک کن، انتقال حرارت به نمونه ها بوسیله هدایت و جابجائی هوا به حداقل می رسد و در نتیجه، انرژی داخلی نمونه ها کاهش پیدا می کند و با کاهش فشار هوا، دمای نمونه ها تا ۴۰- درجه سانتیگراد می تواند پائین بیاید. بخار آبی که بصورت تصعید از نمونه ها خارج می شود در اتاقک انجمادی بوسیله کوئل های برودتی جمع می شود.

عصاره گیری توسط خیساندن در الکل ۷۰ درصد انجام شد. به ۱۰۰ گرم پودر خشک زغال اخته ۴۰۰ سی سی الکل اضافه شد. ارلن محتوی زغال اخته و الکل بر روی گرداننده ی مغناطیسی با مگنت قرار داده شد و سپس محتوی آن پس از ۷۲ ساعت صاف گردید. جهت تبخیر آب و الکل عصاره از دستگاه روتاری استفاده شد. جهت خشک کردن نهایی عصاره ی تغلیظ شده از انکوباتور با دمای ۳۷ درجه ی سانتیگراد استفاده شد. به ازای ۱۰۰ گرم پودر خشک زغال اخته ۳۰ گرم عصاره زغال اخته به دست آمد.

۲-۲. تعیین میزان فنول تام عصاره ی زغال اخته

اندازه گیری میزان ترکیبات فنولیک عصاره ی زغال اخته توسط روش Folin-Ciocalteu انجام شد. (Kim et al., 2003) به طور خلاصه ۰/۵ میلی لیتر از عصاره ی رقیق شده (۰/۰۱ گرم در ۱۰ میلی لیتر متانول ۶۰ درصد) به ۰/۵ میلی لیتر از محلول فولین سیوکالتیو اضافه شد و پس از ۳ تا ۵ دقیقه مقدار ۰/۴ میلی لیتر از کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، جذب نمونه ها در مقابل بلانک آب مقطر قرائت شد. همزمان با انجام آزمایش، رقت های مختلف اسید گالیک تهیه و منحنی استاندارد تهیه شد. جذب نمونه ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فنول تام عصاره بر حسب میلی گرم بر گرم عصاره ی خشک محاسبه شد.

۲-۳. تعیین میزان فلاوونوئید تام عصاره ی زغال اخته

اندازه گیری میزان فلاوونوئیدهای عصاره توسط روش colorimetric انجام شد. (Chang et al., 2002). به طور خلاصه ۰/۵ میلی لیتر از عصاره ی رقیق شده (۰/۰۱ گرم در ۱۰ میلی لیتر متانول ۶۰ درصد) با ۰/۵ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۲ درصد مخلوط و مقدار ۳ میلی لیتر استات پتاسیم ۵ درصد به آن ها اضافه شد. پس از ۴۰ دقیقه، جذب نوری نمونه ها در مقابل آب مقطر در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. همزمان با انجام آزمایش، رقت های مختلف روتین تهیه و مانند روش فوق، منحنی استاندارد تهیه و جذب نمونه ها با منحنی استاندارد مقایسه شد و مقدار فلاوونوئید عصاره بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره ی خشک محاسبه شد.



۲-۴. تعیین میزان آنتوسیانین

میزان آنتوسیانین کل در زغال اخته با استفاده از روش تفاوت pH اندازه گیری شد. در این روش میزان جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر نانودراپ در طول موج های ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر همراه با بافرهای با pH متفاوت ۱ و ۴/۵ اندازه گیری شد. با استفاده از فرمول زیر میزان آنتوسیانین کل بر حسب میلی گرم سیانیدین ۳- گلوکوزاید در میلی لیتر محاسبه شد (Wrolstad, 1993).

$$\text{Absorbance (A)} = (A_{520 \text{ pH } 1} - A_{700 \text{ pH } 1}) - (A_{520 \text{ pH } 4.5} - A_{700 \text{ pH } 4.5})$$

$$\text{Total anthocyanin (mg/mL)} = \frac{(A) (10^3) (445.2)}{26900 \times 0.06}$$

۲-۵. تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی زغال اخته

ابتدا هر یک از استوک های عصاره و BHT^۱ جداگانه با غلظت ۱ mg/ml و DPPH^۲ با غلظت ۰/۱ میلی مول تهیه شد. با استفاده از استوک های به دست آمده، پنج غلظت شامل ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ میکروگرم برای عصاره در حجم ۲ میلی لیتر و همچنین پنج غلظت نیز به همان نحو برای BHT تهیه شد. مقدار ۲ میلی لیتر DPPH به هر یک از پنج غلظت عصاره یا BHT اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. همچنین لوله ی کنترل حاوی ۲ میلی لیتر متانول و ۲ میلی لیتر DPPH کنار نمونه ها آماده شد. پس از ۱۵ دقیقه، اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر با بلانک اتانول صفر و جذب نمونه ها قرائت شد. درصد مهار کنندگی رادیکال های DPPH، IC₅₀ با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

۳. نتایج

در این مطالعه میزان فنول، فلاونوئید و آنتوسیانین عصاره هیدروالکی زغال اخته مورد سنجش قرار گرفت. طبق نتایج به دست آمده از این پژوهش، میزان ترکیبات فنولیک عصاره هیدروالکی زغال اخته ۱۳/۶ mg/g برآورد شد. همچنین میزان فلاونوئیدهای این گیاه ۴/۸۲ mg/g محاسبه گردید. مقدار آنتوسیانین های این عصاره PH، ۱۵ mg/ml اندازه گیری شد (جدول ۱). قدرت مهار رادیکال های آزاد نیز IC₅₀ = ۱/۸۹ μ/ml برآورد شد.

جدول ۱. ترکیبات شیمیایی زغال اخته

روش تشخیص	مقدار	ترکیبات
Folin-Ciocalteu	۱۳/۶ mg/g	فنول
Colorimetric	۴/۸۲ mg/g	فلاونوئید
تفاوت PH	۱۵ mg/ml	آنتوسیانین

^۱ Butylated hydroxytoluene^۲ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl



فول، فلاوونوئید و آنتوسیانین از جمله ترکیباتی هستند که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می باشند، و برای پاکسازی رادیکال های آزاد استفاده می شوند. از جمله روش های اندازه گیری ترکیبات فنولیک، روش فولین-سیوکالتیو است. اساس کار در این روش، احیای معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۲۶۳ نانومتر نشان میدهد (Mirzaei et al., 2011). وجود ترکیبات فنولی، فلاوونوئیدی و آنتوسیانین ها و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی زغال اخته در مطالعات مختلف نشان داده شده است.

در مطالعه ی گیلانی و همکاران در سال ۱۳۹۵ میزان ترکیبات فنولی $120/4 \text{ mg/g}$ برآورد شد. که بیشتر از میزان به دست آمده از این پژوهش بود، مقدار کل ترکیبات فنولیک حاصل از حلال های مختلف به علت قطبیت متفاوت هر حلال و توانایی حل کردن آن ها، متفاوت است (گیلانی و همکاران، ۱۳۹۷). مطالعه ی پاشایی بهرام در سال ۱۳۹۶ نشان داد که میزان آنتوسیانین زغال اخته ۲۶ میلی گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک است (پاشایی بهرام و همکاران، ۱۳۹۶).

همچنین ظرفیت آنتی اکسیدانی زغال اخته در مطالعه ی ردابه و همکاران، ۹۷/۸ درصد بود که با گذشت زمان ۹۵/۵۵ درصد کاهش یافت (ردابه و همکاران، ۱۴۰۰). مطالعه ی اسماعیلی و همکاران در سال ۱۳۹۹ نیز نشان میدهد که در طی انبار مانی و گذر زمان میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی زغال اخته کاهش می یابد (اسماعیلی و همکاران، ۱۳۹۹).

ارتفاع، حلالها، روشهای مختلف و سایر شرایط موثر در آزمایش، میزان متابولیت های ثانویه ای که خواص آنتی اکسیدانی دارند را تحت تاثیر و افزایش داد. با بررسی مقادیر بدست آمده و شرایط آب و هوایی میتوان نتیجه گرفت، با افزایش دمای هوا، مقدار فلاوونوئید و خواص آنتی اکسیدانی گیاه هم افزایش میابد (رازلیقی و همکاران، ۱۳۹۷).

۴. نتیجه گیری

زغال اخته سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدان همچون فول، فلاوونوئید و آنتوسیانین است که شرایط محیطی بر میزان این ترکیبات تاثیر می گذارد. این ترکیبات به دلیل دارای بودن خاصیت آنتی اکسیدانی در درمان و پیشگیری از بسیاری از بیماران می تواند موثر واقع شود.

منابع

- اسماعیلی، ن.، نقش بند حسنی، ر.، زارع نهنیدی، ف. ۱۳۹۹. اثر زمان برداشت بر برخی از ویژگی های آنتی اکسیدانی میوه زغال اخته طی انبارگردانی. نشریه پژوهش های صنایع غذایی. ۳۰(۱): ۸۱-۹۷.
- پاشایی بهرام، ر.، آزاد مرد، ص.، حصاری، ج.، پیغمبردوست، ه.، بدبدک، ص.، آقافرمانی، ب. ۱۳۹۷. تاثیر روش های مختلف خشک کردن بر ویژگی های فیزیکی-شیمیایی و ترکیبات بیواکتیو زغال اخته. مجله علوم و صنایع غذایی. ۶۷(۱۴): ۱۹۱-۲۰۱.
- رادبه، ز.، آصفی، آ.، همیشه کار، ح.، روفه گری نژاد، ل.، پزشکی، ا. ۱۴۰۰. مجله علوم و صنایع غذایی ایران. ۱۱(۱۸): ۱۴۱-۱۵۲.
- رازلیقی، ز.، روستایان، ع.، لاریجانی، ک. ۱۳۹۷. بررسی میزان فول، فلاوونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه گل ماهور از منطقه کلکچال استان تهران. فصلنامه علمی پژوهشی بیولوژی کاربردی. ۸(۴): ۵۳-۶۲.
- گیلانی، ف.، امیری، ز.، اسماعیل زاده، ر. ۱۳۹۷. مقایسه تاثیر روش های کربن دی اکسید فوق بحرانی آب زیر بحرانی بر محتوای ترکیبات فنولی و خواص آنتی اکسیدانی میوه زغال اخته. مجله علوم و صنایع غذایی. ۷۴(۱۵): ۱۱۹-۱۲۷.



- Asgary, S., Rafieian-Kopaei, M., Shamsi, F., Najafi, S., & Sahebkar, A. (2014). Biochemical and histopathological study of the anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effects of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 11(2): 63-69.
- Bercu, R. (2013). Biometrical observations on the spontaneous species *Cornus mas* L. leaves. *Annals of West University of Timișoara, ser. Biology*, 1(1): 11-18.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3): 178-182.
- Demir, F., & Kalyoncu, I. H. (2003). Some nutritional, pomological and physical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Journal of Food Engineering*, 60(3): 335-341.
- Dokoupil, L., & Řezníček, V. (2013). Production and use of the Cornelian cherry–*Cornus mas* L. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 60(8): 49-58.
- Hassanpour, H., Yousef, H., Jafar, H., & Mohammad, A. (2011). Antioxidant capacity and phytochemical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Iran. *Scientia Horticulturae*, 129(3): 459-463.
- Kim, D. O., Jeong, S. W., & Lee, C. Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food chemistry*, 81(3): 321-326.
- Mirzaei A, Mohammadi J, Mirzaei N, Mirzaei M. The antioxidant Capacities and total phenolic contents of some medicinal plants in Iran. *Journal of Fasa University of medicinal sciences*.2011.1(3): 160-166.
- Pirlak, L. (2005). Determination of pollen quality and quantity in Cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Bangladesh Journal of Botany*, 34(1): 1-6.
- Rudrapaul, P., Kyriakopoulos, A. M., De, U. C., Zoumpourlis, V., & Dinda, B. (2015). New flavonoids from the fruits of *Cornus mas*, Cornaceae. *Phytochemistry Letters*, 11: 292-295.
- Wrolstad, R. E. (1993). Color and pigment analyses in fruit products. *Agricultural Experiment Station. Oregon State University*, 624: 1-20.

زعفران و زردچوبه دو گیاه دارویی در درمان افسردگی

آیدا ژیان نیا^۱، حسین طایفی نصرآبادی^{*}

^{*} گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، شهر تبریز (aydazh5@gmail.com)

چکیده

افسردگی یکی از شایع ترین بیماری ها در جهان و همچنین شایع ترین اختلال روانی است. اختلالات افسردگی نه تنها برای افراد، بلکه برای عموم مردم نیز یک تهدید واقعی است. این بیماری عامل اصلی ناتوانی در کار است. با توجه به عوارض جانبی متعدد داروهای متداول، توجه روزافزون به راه حل های دیگر از جمله گیاهان دارویی معطوف شده است. بسیاری از گونه های گیاهی به دلیل استفاده سنتی خود در درمان اضطراب، بی خوابی و افسردگی شناخته شده اند. اثرات ثابت شده بالینی مواد خام آدابتورن بر علائم افسردگی احتمالاً به تأثیر مثبت برخی متابولیت های ثانویه (ترپنوئیدها، آلکالوئیدها، گلوکوزینولات ها، فنل ها) مربوط می شود. در حال حاضر تأکید می شود که در بسیاری از موارد خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی مواد گیاهی نقش محافظتی در سطح سلول های عصبی ایفا می کنند. در میان گیاهان دارویی که در آزمایش های بالینی برای درمان افسردگی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته اند، ۲ مورد زیر جالب به نظر می رسند: زعفران (*Crocus*) و زردچوبه (*Curcuma longa* L.) که دارای فعالیت بیولوژیکی گسترده و قوی، تاریخچه عمل و استفاده و اثربخشی در پیشگیری و یا درمان اضطراب و افسردگی به خوبی مستند هستند. این گیاهان هنوز در حوزه تحقیقات بیوشیمیایی و گیاه دارویی هستند که نتایج آن بسیار امیدوار کننده است.

واژگان کلیدی: اختلالات روانی، زعفران، داروهای ضد افسردگی، زردچوبه، مکانیسم های عمل.



۱. مقدمه

افسردگی یک بیماری روانی شایع با عواقب شدید برای عملکرد انسان است. عوامل مختلفی در ایجاد افسردگی دخیل هستند که عوامل بیولوژیکی و اجتماعی از شایع ترین آنها هستند. تئوری بیولوژیکی بر نقش مهم استعداد ژنتیکی، تغییرات در سطح انتقال دهنده های عصبی و سیستم های هورمونی و محلی سازی تغییرات در مناطق خاصی از مغز در بروز اختلالات افسردگی تاکید دارد. اخیراً گزارش شده است که عوامل استرس زای درونی مانند تغییرات در سطح سرمی کلسترول، تری گلیسیرید، گلوکز و فاکتورهای انعقادی با افسردگی مرتبط هستند. تصور می شود که افسردگی از تعامل پیچیده بین عوامل بیولوژیکی، اجتماعی، روانی و اپی ژنتیکی ناشی می شود. هدف از درمان افسردگی در وهله اول دستیابی به بهبودی علائم به طور کامل و سریع و جلوگیری از عود آن است. در اکثر داروهای ضد افسردگی مصنوعی، نقایص شدید وجود دارد، مانند طیف باریک، عوارض جانبی، قیمت بالا و عود آسان. عوارض جانبی جدی داروهای ضد افسردگی مصنوعی و داروهای ضد اضطراب شامل سردرد، اختلال عملکرد جنسی، اعتیاد، تشنج و اقدام به خودکشی است. عوارض ذکر شده در بالا را می توان با استفاده از گیاهان دارویی مناسب با فعالیت آشکار در سیستم عصبی کاهش داد. بسیاری از بیماران به دلیل عوارض جانبی و اثرات مخرب داروهای شیمیایی، گیاهان دارویی را ترجیح می دهند. تحقیقات بر روی یافتن داروهای ضد افسردگی چند جهت به سمیت کم متمرکز شده است (Nurzyńska-Wierdak 2024). اثرات برخی از مواد گیاهی در موارد اضطراب خفیف عمدتاً در مطالعات با مدل های حیوانی نشان داده شده است، و روابط ساختار-فعالیت، متابولیسم، جذب و مکانیسم های عصبی فارماکولوژیک عمدتاً نامشخص است. تعدیل کردن سیستم GABA (گاما آمینوبوتیریک اسید) احتمالاً یک مکانیسم حیاتی برای این اثر است. GABA در سیستم عصبی مرکزی نقش مهمی در تجربه اضطراب ایفا می کند. اضطراب و اختلالات عصبی مرتبط اغلب ناشی از سطوح پایین GABA در سیستم عصبی مرکزی است. علاوه بر این، اثر ضد افسردگی بیشتر گیاهان شامل افزایش سطح سروتونین، نوراپی نفرین یا دوپامین در مغز است. گروه خاصی از مواد خام گیاهی که اثرات مثبتی بر فیزیولوژی انسان در موقعیت های استرس زا نشان می دهند، آداپتوژن ها هستند. اصطلاح آداپتوژن اولین بار در سال ۱۹۴۰ توسط نیکولای لازارف ارائه شد که شرح داد شیساندرا چینسیس (تورچ) و سایر گیاهان به طور غیراختصاصی بدن انسان را تقویت می کنند (Nurzyńska-Wierdak 2024). اثرات بالینی اثبات شده مواد خام آداپتوژن بر علائم افسردگی احتمالاً به اثرات مثبت متابولیت های ثانویه خاص (ترپنوئیدها، آلکالوئیدها، گلیکوزینولات ها، فنل ها) بر آلوستاز سلولی مربوط می شود. اکنون تاکید شده است که در موارد متعدد، خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی مواد مشتق از آداپتوژن نقش محافظتی در سطح سلول های عصبی ایفا می کند (Amaghnouje, Slighoua et al. 2020).

۲. مواد و روش ها

در مقاله حاضر از با استفاده از موتورهای جستجوی google scholar و Pubmed تعداد ۲۰ مقاله در زمینه خواص

زعفران و زردچوبه یافت گردید که از بین این مقالات تعداد ۱۰ مقاله مروری و تحقیقی استفاده شد.



۳. نتایج

۳-۱. زعفران

زعفران یک ادویه و ماده خام دارویی ارزشمند است: کلاله خشک شده و قسمت بالایی یا بالای مادگی (کلاله کروی) قسمت های مهم گل هستند. تولیدکنندگان اولیه زعفران، کشورهای هند، ایران، مراکش، اسپانیا و یونان هستند. تاریخچه این ادویه به ۳۰۰۰ تا ۴۰۰۰ سال قبل بازمی گردد و با چندین قاره و تمدن مرتبط است. زعفران در فرهنگ ها و تمدن های یونانی- رومی، مصری و ایرانی یافت می شود. از ایران به هند و چین گسترش یافت و در حدود قرن نهم در اروپا و سراسر جهان ظاهر شد. زعفران یک منبع دارویی ضروری است و در کشورهای مبدأ آن یک داروی درمان محسوب می شود. علاوه بر اثر ضد افسردگی، دارای اثرات ضد سرطانی، خلط آور، ضد تشنج، ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی است (El Midaoui, Ghzaïel et al. 2022). اثر ضد افسردگی زعفران افزایش غلظت سروتونین و دوپامین در سیستم عصبی مرکزی و در نتیجه بهبود خلق و خوی است. اثرات ضد افسردگی و محافظت عصبی زعفران احتمالاً به فعالیت های ضد التهابی و آنتی اکسیدانی آن مربوط می شود. ماده اولیه زعفران حاوی بیش از ۱۵۰ ترکیب فرار معطر و بسیاری از مواد فعال غیرفرار مانند کاروتنوئیدها است. اجزای اصلی فعال بیولوژیکی عبارتند از کروسین، کروستین، پیروکروسین (پیش ساز سافرانال)، زآگزانتین، لیکوپن، رنگدانه های کاروتنوئیدی نارنجی آلفا و بتا کاروتن، فلاونوئیدها و سافرانال، ترکیب فراری که در طی خشک شدن مواد اولیه ایجاد می شود. کروسین و کروستیناز ترکیبات فعال ضروری زعفران هستند. کروسین یک کاروتنوئید نادر است که در طبیعت یافت می شود. به راحتی در آب حل می شود و بیشترین تاثیر را در قدرت رنگ دهی زعفران دارد. در مقایسه با سایر کاروتنوئیدها، بیشتر به دلیل حلالیت بالای آن به عنوان یک رنگ طبیعی غذایی و دارویی استفاده می شود (Farhan, Shamsi et al).

کروسین جذب ضعیفی دارد و سرعت دفع آن نسبتاً بالاست. پس از مصرف خوراکی، به کروسین متابولیزه می شود. کروستین، آگلیکون کروسین است که پس از مصرف خوراکی به سرعت جذب و در بافت های خارج عروقی توزیع می شود. این ماده می تواند از سد خونی مغزی عبور کرده و به سیستم عصبی مرکزی برسد. به این دلایل، ممکن است در اختلالات نورودژنراتیو موثر باشد. لازم به ذکر است که کروسین نیز به مقدار قابل توجهی از بدن دفع می شود. راه حل های نانو تکنولوژی مختلفی در حال حاضر برای بهبود پایداری و فراهمی زیستی کروسین و کروستین در حال ارزیابی هستند (Nurzyńska-Wierdak 2024). نتایج مطالعات پیش بالینی و بالینی قویاً نشان می دهد که زعفران و ترکیبات فیتوشیمیایی آن به ویژه کروسین، کروستین و سافرانال، شدت افسردگی را کاهش می دهد. مکانیسم اثرات ضد افسردگی زعفران تنها در دهه های اخیر مورد مطالعه قرار گرفته است. این اثرات احتمالاً مربوط به اثرات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و محافظت کننده عصبی زعفران یا توانایی آن در تعدیل سطوح انتقال دهنده های عصبی در مغز به ویژه سروتونین، دوپامین، گلو تامات و GABA است. وانگ و همکاران گزارش می دهند که خواص ضد افسردگی عصاره آبی زعفران مربوط به حضور کروسین است. کروسین فعالیت ضد افسردگی قابل توجهی از خود نشان می دهد. پس از پیش درمانی با راپامایسین، اثر ضد افسردگی کروسین به طور قابل توجهی مهار شد. این نشان می دهد که مکانیسم اثر ضد افسردگی کروسین ممکن است با هدف پستانداران مسیر سیگنالینگ راپامایسین mTOR مرتبط باشد. کروسین اثر ضد افسردگی قابل توجهی در یک مدل افسردگی مزمن ناشی از کورتیکواستروئید در موش ها



داشت که نشان می دهد مهار التهاب و استرس اکسیداتیو با اثرات ضد افسردگی مرتبط است. مکمل کروسین با دوز روزانه ۳۰ میلی گرم به مدت ۸ هفته ممکن است علائم افسردگی همراه با سندرم های متابولیک را کاهش دهد و به نظر می رسد این اثر مستقل از تغییرات در غلظت PAB پلازما باشد. در مقابل محققان دریافتند که اجزای اصلی دخیل در اثرات ضد افسردگی از *C. Sativus* فلاونوئیدها و آنتوسیانین ها هستند. اثر زعفران در درمان افسردگی خفیف مشابه داروهای ضد افسردگی مصنوعی فلوکستین و ایمپرامین است. درمان ترکیبی با زعفران و کورکومین با بهبود قابل توجهی در علائم افسردگی در بیماران مبتلا به اختلال افسردگی اساسی در مقایسه با دارونما همراه است. لازم به ذکر است مصرف زعفران در مقادیر زیاد ممکن است خطر سقط جنین را افزایش دهد. بنابراین زنان باردار نباید بدون مشورت پزشک از آن استفاده کنند. همچنین دادن زعفران به کودکان توصیه نمی شود. مصرف بیش از حد می تواند باعث استفراغ، اسهال و خونریزی دستگاه گوارش و دستگاه تناسلی شود (Srivastava, Ahmed et al. 2010).

۳-۲. زرد چوبه

زردچوبه یک گیاه ادویه ای و دارویی شناخته شده است. ریزوم این گیاه (ریزوم کورکوما) در بسیاری از کشورها عمدتاً در چین و هند به عنوان ادویه و داروی ایمن در برابر بیماری های مختلف استفاده می شود. زردچوبه دارای خواص دارویی ارزشمندی از جمله اثرات محافظ کبد، کلریتیک و کلاژیک، ضد التهابی، ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی، ضد سرطانی و محافظت کننده عصبی است. در پیشگیری و درمان بسیاری از اختلالات، به ویژه مربوط به اثرات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد توموری آن اهمیت به سزایی دارد. اهمیت بالقوه آن در درمان و پیشگیری از دیابت برجسته شده است. ریزوم زردچوبه حاوی ۳ درصد کورکومینوئیدها (مشتقات دی سیناموئیل متان) و ۳ درصد اسانس است که عمدتاً سزکویی ترین ها را شامل می شود. ترکیبات کورکومینوئید شامل کورکومین، متوکسیکورکومین و بیس دمتوکسی کورکومین) که به ترتیب حدود ۱۷٪، ۷۷٪ و ۳٪ وزن خشک آن را تشکیل می دهند. مقالات زیادی وجود دارد که نقش مفید کورکومین را در پیشگیری و درمان بیماری های مزمن مختلف مانند دیابت نوع ۲، بیماری آلزایمر، مولتیپل اسکلروزیس، تصلب شرایین و سرطان توصیف می کنند؛ که به دلیل فعالیت بیولوژیکی گسترده آن است (Karłowicz-Bodalska, Han et al. 2017).

تحقیقات کورکومین (جزء زیستی اصلی زردچوبه) از سال ۱۸۱۵ ادامه داشته و اهمیت فزاینده ای پیدا کرده است. اخیراً علاقه به کورکومین به عنوان درمانی برای شرایط روانپزشکی افزایش یافته است. تعداد فزاینده ای از مطالعات پیش بالینی و بالینی وجود دارد که اثرات ضد افسردگی و ضد اضطراب آن را ارزیابی می کنند. این ماده طیف گسترده ای از خواص دارویی را نشان می دهد و به عنوان یک ضد افسردگی قوی با مکانیسم های اثر متفاوت شناخته شده است. مکانیسم های عمل چندگانه کورکومین مزیت منحصر به فردی را در درمان افسردگی به ویژه از نظر عوارض جانبی ارائه می کند. در مقایسه با تک درمانی کورکومین، به نظر می رسد ادغام با سایر داروهای ضد افسردگی اثرات ضد افسردگی بهتری ارائه می دهد. نشان داده شده است که تحقیقات آینده باید بر روی درمان ترکیبی ضد افسردگی تمرکز کند. اثر ضد افسردگی کورکومین ممکن است به دلیل افزایش سطح سروتونین، نوراپی نفرین و دوپامین در مغز باشد. این ماده ممکن است یک ضد افسردگی مفید باشد، به ویژه در مواردی که به



داروهایی با اثرات مختلط بر سطح سروتونین و کاتکول آمین در مغز پاسخ می‌دهند. کورکومین در تعدیل انتقال دهنده‌های عصبی، غلظت‌ها و مسیرهای التهابی، با اثرات مفید در فرآیندهای پاتولوژیک منجر به آسیب عصبی، اختلالات هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال، مقاومت به انسولین و استرس اکسیداتیو، و همچنین عملکرد در سیستم اندوکراینوئید فعال است. اقدامات ذکر شده در بالا ممکن است در پاتوفیزیولوژی اختلال افسردگی اساسی (MDD) دخیل باشند. چندین کارآزمایی بالینی منتشر شده است که مزایای کورکومین را در MDD نشان می‌دهد. تحقیقات نشان داده‌اند که مکمل‌های کورکومین با افزایش سطح سروتونین، کاهش التهاب و کاهش استرس اکسیداتیو، اثرات ضد افسردگی بالقوه‌ای را بر بیماران دیابتی نوع ۲ مبتلا به چاقی نشان می‌دهند. با افزایش تدریجی شواهد، به نظر می‌رسد کورکومین جایگزین امیدوارکننده‌ای برای درمان MDD باشد. سیستم اندوکراینوئید (ECS) یک سیستم تعدیل کننده عصبی است که به طور قابل توجهی بر سیستم عصبی مرکزی و پاسخ التهابی به ترکیبات درون‌زا و برون‌زا تأثیر می‌گذارد. ECS همچنین بر اضطراب، رفتار خوردن، پاسخ‌های احساسی، فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) و نورورنژ (تشکیل و تمایز سلول‌های جدید در بافت عصبی) تأثیر می‌گذارد. تغییرات در ECS در افسردگی شناسایی شده است و نشان‌دهنده یک هدف درمانی برای مداخله است. در مطالعات حیوانی، تجویز کورکومین اثر مفیدی بر ECS داشت (Lopresti 2022). بسته به نوع افسردگی (حاد یا مزمن)، مدت زمان نظارت و دوزهای مصرفی، کورکومین تأثیر مثبتی بر کاهش علائم افسردگی دارد و مکانیسم اثر احتمالی آن شامل مسیرهای مختلف است. اثرات آن عمدتاً با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و محافظت کننده عصبی مرتبط است. ارزیابی اثر کورکومین در انواع اختلالات التهابی روانپزشکی مانند اسکیزوفرنی، افسردگی و اوتیسم، تأثیر مثبتی در کاهش نقایص روانپزشکی ثابت کرده است (Lamanna-Rama, Romero-Miguel et al. 2022).

یکی از مشکلات اصلی کاربرد کورکومین، فراهمی زیستی ضعیف و ناپایداری آن است. کورکومین در pH فیزیولوژیکی ناپایدار است و به سرعت توسط واکنش‌های اتواکسیداسیون تجزیه می‌شود. محصولات هیدرولیزقلیایی (فرولیک اسید، وانیلین، فرولیک آلدئید، و فرولوئیل‌متان)، و همچنین محصولات اکسیداسیون مانند بی‌سیکلوپنتادیون، فعالیت بیولوژیکی نشان می‌دهند اما بسیار کمتر از کورکومین فعال هستند. ثابت شده است که اثرات ضد التهابی کورکومین توسط متابولیت‌های اکسیداتیو آن انجام می‌شود. کورکومین خوراکی در روده کوچک جذب ضعیفی دارد، به سرعت متابولیزه می‌شود و از بدن دفع می‌شود. برای غلبه بر این مشکلات، چندین فرآورده کورکومین به شکل نانوذرات یا نانوامولسیون توسعه داده شده است. کاروالیو و همکاران اثر بخشی کاهش اندازه ذرات کورکومین را در افزایش حلالیت نشان دادند (Nurzyńska-Wierdak 2024). تهیه نانوسپانسیون باعث تجزیه ذرات کورکومین نشد و نانوسپانسیون حلالیت بیشتری نسبت به مخلوط معمولی داشت. کاهش اندازه ذرات باعث بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی کورکومین نشد. کورکومین خالص و فرمول‌های آزمایش شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی رضایت بخشی را نشان دادند. مطالعات انسانی هیچ اثر سمی کورکومین را به صورت خوراکی ۶ گرم در روز به مدت ۴ تا ۷ هفته نشان نداده است. این ماده به خوبی تحمل می‌شود و فراوانی عوارض جانبی گزارش شده را می‌توان با دارونما مقایسه کرد. شایع‌ترین عوارض جانبی شامل ناراحتی خفیف گوارشی مانند حالت تهوع، درد خفیف شکم و اسهال است. کارآزمایی‌های بالینی تا به امروز بین ۴ تا ۱۶ هفته و با دوزهای درمانی متفاوت به طول انجامیده است. دوزهای درمانی بهینه



هنوز تعیین نشده‌اند. نتایج تأیید می‌کند که کورکومین دارویی امیدوارکننده برای درمان افسردگی است، اما تحقیقات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است. کورکومین ممکن است به عنوان یک ترکیب طبیعی، در دسترس و ایمن به جایگزینی امیدوارکننده برای بسیاری از درمان‌های پرخطر فعلی تبدیل شود (Lopresti 2022).

تحقیقات اخیر به وضوح نشان می‌دهد که زعفران و زردچوبه به عنوان دو گیاه دارویی مؤثر در درمان افسردگی شناخته شده‌اند. زعفران، با ترکیبات فعال خود مانند کروسین و سافرانال، به تنظیم سطح سروتونین در مغز کمک می‌کند و تأثیرات مثبتی بر خلق‌وخو دارد. در یک مطالعه بالینی کنترل شده، مصرف زعفران در مقایسه با داروهای ضدافسردگی معمولی نتایج قابل توجهی را در بهبود علائم افسردگی نشان داده است. در این مطالعه، گروهی از بیماران که زعفران را به مدت ۸ هفته مصرف کردند، بهبود معناداری در مقیاس‌های افسردگی و اضطراب نشان دادند. این نتایج نشان‌دهنده پتانسیل زعفران به عنوان یک مکمل طبیعی در درمان افسردگی است و می‌تواند به عنوان یک گزینه جایگزین برای داروهای شیمیایی مورد توجه قرار گیرد. همچنین، زعفران به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود، می‌تواند به بهبود کیفیت خواب و کاهش استرس کمک کند که این عوامل نیز به طور مستقیم بر سلامت روان تأثیرگذار هستند (Akhondzadeh, Sabet et al. 2010).

زردچوبه نیز به دلیل داشتن کورکومین، یک ترکیب ضد التهابی قوی، می‌تواند به کاهش التهاب‌های مرتبط با افسردگی کمک کند. التهاب‌ها معمولاً در مغز بیماران افسرده مشاهده می‌شوند و زردچوبه با کاهش این التهاب‌ها، به بهبود خلق‌وخو کمک می‌کند (Sanmukhani, Satodiya et al. 2014). در یک مطالعه دیگر، نشان داده شده است که مصرف زردچوبه می‌تواند به افزایش سطح نوروترنسمیترهایی مانند دوپامین و سروتونین کمک کند و در نتیجه علائم افسردگی را کاهش دهد. همچنین، زردچوبه به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل می‌کند و می‌تواند از آسیب‌های اکسیداتیو در مغز جلوگیری کند که این امر نیز به بهبود سلامت روان کمک می‌کند. به طور کلی، ترکیب زعفران و زردچوبه به عنوان یک رویکرد مکمل در درمان افسردگی می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. با این حال، توصیه می‌شود که قبل از شروع هرگونه درمان گیاهی، با پزشک مشورت شود تا اطمینان حاصل شود که این ترکیبات با داروهای دیگر تداخل ندارند و مناسب شرایط فردی بیمار هستند. همچنین، تحقیقات بیشتری برای بررسی تأثیرات بلندمدت و دوزهای بهینه این گیاهان در درمان افسردگی ضروری است (Lopresti 2022).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

گیاهان دارویی که به دلیل استفاده‌های سنتی برای ارتقای سلامت شناخته شده‌اند، اکنون به طور فزاینده‌ای در درمان‌های ترکیبی برای افسردگی مورد مطالعه و آزمایش قرار می‌گیرند. آنها با اثربخشی، هم‌افزایی عمل، و مشخصات ایمنی بالا مشخص می‌شوند. بیماران مبتلا به افسردگی اغلب از اختلالات شناختی رنج می‌برند، احتمالاً در نتیجه استرس اکسیداتیو بسیاری از گیاهان دارویی به دلیل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی خود شناخته شده هستند و ممکن است علائم افسردگی را از طریق اثرات ذکر شده در بالا کاهش دهند. این کار اطلاعات موجود را در مورد استفاده سنتی از گیاهان انتخاب شده در افسردگی و راه‌حل‌های درمانی مدرن جمع‌آوری می‌کند. مثال‌های ارائه شده نشان‌دهنده مطلوب بودن جستجوی داروهای ضد افسردگی



جدید در میان داروهای سنتی است. ترکیبات شیمیایی غنی گیاهان دارویی اجازه می دهند تا اثرات همه جانبه بر بدن داشته باشد. ترکیبات فعال ممکن است روی یک یا چند پروتئین هدف که عملکرد انتقال دهنده عصبی، محور HPA، مسیر سیگنالینگ، پاسخ ضد التهابی، استرس اکسیداتیو، میکروبیوتای روده و فروپتوز را تنظیم می کنند عمل کنند. ترکیبات گیاهی احتمالاً می توانند بر روی چندین مکانیسم به صورت هماهنگ عمل کنند. اگر آنها به درستی استفاده شوند، به نظر می رسد در درمان افسردگی بدون ایجاد عوارض جانبی موثر باشند. عصاره های گیاهی سابقه طولانی در کاربردهای بالینی در درمان اختلالات مغزی و روانی دارند، اما مکانیسم حیاتی آن در اکثر موارد ناقص است. که این نیاز به تحقیقات فشرده بیشتر در مورد فعالیت هر یک از مواد گیاهی و ارزیابی اثرات هم افزایی یا آنتاگونیستی احتمالی، مکانیسم های عمل و فارماکوکینتیک را ایجاد می کند (Nurzyńska-Wierdak 2024).

منابع

- Akhondzadeh, S., et al. (2010). "Saffron in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a 16-week, randomized and placebo-controlled trial." *Journal of clinical pharmacy and therapeutics* 35(5): 581-588.
- Amaghnouje, A., et al. (2020). "Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the traditional treatment of depression and anxiety in Fez-Meknes Region." *Phytothérapie* 18(3-4): 220.
- El Midaoui, A., et al. (2022). "Saffron (Crocus sativus L.): A source of nutrients for health and for the treatment of neuropsychiatric and age-related diseases." *Nutrients* 14(3): 597.
- Farhan, S., et al. "Saffron (Crocus sativus L.): A Review of its Ethnopharmacological value".
- Karłowicz-Bodalska, K., et al. (2017). "Curcuma longa as medicinal herb in the treatment of diabetic complications." *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research* 74(2): 605-610.
- Lamanna-Rama, N., et al. (2022). "An update on the exploratory use of curcumin in neuropsychiatric disorders." *Antioxidants* 11(2): 353.
- Lopresti, A. L. (2022). "Potential role of curcumin for the treatment of major depressive disorder." *CNS drugs* 36(2): 123-141.
- Nurzyńska-Wierdak, R. (2024). "Plants with Potential Importance in Supporting the Treatment of Depression: Current Trends, and Research." *Pharmaceuticals* 17(11): 1489.
- Sanmukhani, J., et al. (2014). "Efficacy and safety of curcumin in major depressive disorder: a randomized controlled trial." *Phytotherapy research* 28(4): 579-585.
- Srivastava, R., et al. (2010). "Crocus sativus L.: a comprehensive review." *Pharmacognosy reviews* 4(8): 200.

سنجش برخی متابولیت های ثانویه گیاه دارویی آوندول در دو مرحله مختلف تکوینی

لیلا بیگدلی^۱، زهرا بقایی فر^{۲*}، حمید درویش نیا^۱

^۱ گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران (z_baghaeifar@pnu.ac.ir)

چکیده

گیاهان به منظور عملکرد صحیح و بقاء خود در محیط های مختلف، متابولیت های ثانویه که متشکل از ترکیبات متنوع شیمیایی هستند را سنتز می نمایند. بافت های مختلف گیاهان از جمله برگ ها، ساقه، گل، ریشه و میوه آنها به منبع مهمی از این گروه ترکیبات آلی محسوب می شوند که توسط انسان به عنوان ترکیب دارویی مصرف می شوند. گیاه دارویی آوندول با نام علمی *Smyrniun cordifolium* گیاهی متعلق به خانواده بزرگ چتریان است و با دارا بودن ارزش غذایی و دارویی، بصورت خودرو در نواحی مختلفی از ایران، از جمله غرب و جنوب غرب رویش دارد. در پژوهش حاضر مقادیر فلاونوئید و فنل کل گیاه آوندول در دو مرحله تکوینی، پیش از گلدهی و گلدهی، مورد سنجش قرار گرفت. نمونه های گیاهی از ارتفاعات کبیرکوه در استان ایلام و اشترانکوه در استان لرستان جمع آوری و مورد شناسایی قرار گرفت. نمونه ها در سایه و در دمای محیط خشک شدند، سپس از آنها به صورت جداگانه پودر تهیه، و عصاره آنها به روش متانولی استخراج گردید. جهت سنجش میزان فنول کل از روش فولین-سیوکالتیو، و جهت سنجش فلاونوئید کل روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید به کار رفت. تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن صورت گرفت. بیشترین محتوای فنول کل مربوط به مرحله گلدهی و پیش از گلدهی گیاه آوندول در رویشگاه واقع در استان ایلام به ترتیب به میزان 0.15 ± 0.071 و 0.13 ± 0.023 میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک، و کمترین میزان آن با مقدار 0.08 ± 0.074 و 0.11 ± 0.061 به ترتیب مربوط به عصاره های استخراج شده از مراحل پیش از گلدهی و گلدهی در رویشگاه واقع در لرستان بود. بیشترین محتوای فلاونوئید کل مربوط به مرحله گلدهی رویشگاه ایلام و لرستان، به ترتیب به میزان 0.09 ± 0.097 و 0.10 ± 0.038 می باشد. همچنین پایین ترین میزان فلاونوئید کل مربوط به مرحله پیش از گلدهی در رویشگاه لرستان و ایلام می باشد که به ترتیب به میزان 0.11 ± 0.09 و 0.10 ± 0.028 بود. نتایج نشان داد که بین مقادیر فنول و فلاونوئید کل در شرایط متفاوت اکولوژیک و مراحل مختلف تکوین این گیاه تفاوت وجود دارد و گیاه به منظور مقابله با تنش های محیطی میزان متابولیت های ثانویه متفاوتی را در خود تولید می نماید.

واژگان کلیدی: آوندول، فلاونوئید کل، فنول کل، گیاهان دارویی، مراحل تکوینی



۱. مقدمه

گیاهان یکی از اولین و در دسترس ترین منابع قابل استفاده در درمان بیماری های مختلف می باشند که داشتن یکسری اطلاعات از آنها موجب در دسترس قرار گرفتن داده های اساسی و مهم برای پژوهشگران گرایش های مختلف می شود که این امر موجب کاربردی تر کردن فراورده های گیاهان با خواصیت دارویی می شود (امیدیگی، ۱۳۷۹). گیاهان مختلف به منظور عملکرد صحیح و بقا خود در محیط های مختلف، متابولیت های ثانویه که متشکل از ترکیبات شیمیایی و متنوعی هستند را سنتز نموده که مشابه آنها را در سایر جانداران نمی توان مشاهده نمود. پژوهشگران تلاش نموده اند تا ساختار، کارکرد و ساخته شدن چنین ترکیبات شیمیایی را در گیاهان مطالعه نمایند. اینچنین فراورده های شیمیایی موجود در گیاهان دارای ویژگی های منحصر به فردی می باشند که از این ترکیبات جهت سازش با محیط محل زیست خود استفاده می نمایند (گنجعلی و همکاران، ۱۳۹۷).

گیاه آوندول با نام علمی *Smyrniium cordifolium* Boiss از خانواده Apiaceae تنها گونه از جنس *Smyrniium* در ایران است که عموماً در بخش مهمی از منطقه گیاهی ایران و تورانی به ویژه در رشته کوه های زاگرس یافت می شود. این مناطق جزء آب و هوای نیمه خشک با زمستان های سرد توصیف شده اند (Abbasi et al., 2017). این گیاه دو ساله بوده و رنگ آن سبز روشن و درخشان است و واجد ریشه، ساقه و برگ های معطری است. این گیاه به صورت وحشی و خودرو می روید و دارای پراکندگی گسترده ای در رشته کوه زاگرس در غرب و جنوب غرب ایران، در ارومیه، سردشت، استان فارس، ایلام، لرستان، کردستان، کرمانشاه، کهگیلویه و بویر احمد و ... رویش دارد (سلطانی و درب امامیه، ۱۳۹۵). این گیاه با ارزش دارویی - غذایی، حاوی طیف بسیار متنوعی از ترکیبات معطر است و به دلیل خواص دارویی و غذایی شناخته شده است (Abbasi et al., 2017, Amiri et al., 2006). این گیاه با ارزش دارویی در طب سنتی ایران دارای کاربردهای فراوانی است. به عنوان اغذیه ای مقوی مورد استفاده قرار می گیرد. ادرار آور بوده و بصورت ارگانیک، دافع سنگ های مجاری ادراری می باشد. ریشه گیاه آوندول به صورت پخته شده یک غذای مقوی می باشد که مورد مصرف قرار می گیرد (ادهمیان اصفهانی و همکاران، ۱۳۹۵). همچنین از بخش های جوان آن بعنوان غذا مورد استفاده قرار می گیرد. گیاه آوندول در بخش های غربی ایران دارای استفاده دز بیماری های مثانه و کلیه می باشد. روغن هایی که از بخش های مختلف این گیاه، از جمله برگ، ریشه و میوه، به دست آمده است دارای اثرات آنتی باکتریال است (امیری، ۱۳۸۵). همچنین دارای اثر بر مرگ برنامه ریزی شده و مهار تکثیر سلول های سرطانی رده MCF-7 است (سلطانی و درب امامیه، ۱۳۹۵).

با توجه به اینکه گیاهان همواره در معرض تنش های محیطی، از جمله تنش های اکسیداتیو قرار دارند، این تنش ها می تواند منجر به غیرفعال سازی آنزیم ها، پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب ساختار غشاء شود. به طور طبیعی همواره در گیاهان به جهت ممانعت از این تنش های اکسیداتیو واکنش هایی صورت می گیرد و در گونه های مختلف گیاهی، مقادیر متفاوتی از ترکیبات آنتی اکسیدان سنتز شده که آنها را در مقابل گونه های مضر اکسیژن فعال شده محافظت می کند (Srivastava et al., 2013). برای مثال گیاهان سیستم دفاعی آنتی اکسیدان قوی مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانین و ترکیبات فنولی مختلفی را به کار می اندازند که مسئول حذف یا غیرفعال کردن اکسیژن فعال شده است و علاوه بر این کار مقاومت گیاهان به این شرایط را افزایش می دهند.



فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی علاوه بر اینکه آنتی اکسیدانهای قوی هستند، جزء متابولیت های ثانویه گیاهی نیز محسوب می شوند و در تحمل تنش های محیطی در گیاهان موثر هستند. بافت های مختلف گیاهان از جمله برگ ها، ساقه، گل، ریشه و میوه آنها به منبع مهمی از این گروه ترکیبات آلی (متابولیت های ثانویه) محسوب می شوند که توسط انسان به عنوان ترکیب دارویی مصرف می شوند (Rasti et al., 2001). با توجه به کاربردهای فراوان گیاهان و عصاره آنها در صنایع مهمی همچون داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی و عطرسازی و موقعیت جغرافیایی کشور ایران با آب و هوای بسیار متنوع، بررسی وجود ارتباط بین بخش های مختلف گیاهان، چه ساقه، ریشه، برگ و گل؛ و چه در مراحل تکوینی رویشی و زایشی با تولید و تجمع متابولیت های ثانویه در گیاهان می تواند مفید باشد. بدین منظور هدف از پژوهش حاضر بررسی کمیت و کیفیت برخی متابولیت های ثانویه گیاه آوندول در دو مرحله پیش از گلدهی و گلدهی در رویشگاه های طبیعی آن در غرب ایران می باشد.

۲. مواد و روش ها

به منظور بررسی میزان برخی از متابولیت های ثانویه و نیز فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه دارویی آوندول با نام علمی *Smymrium cordifolium* Boiss. نمونه برداری از رویشگاه های طبیعی این گیاه در ارتفاعات کبیرکوه در استان ایلام، و نیز ارتفاعات اشترانکوه واقع در استان لرستان در فصل بهار سال ۱۴۰۲ انجام گرفت (شکل ۱). نمونه گیاهی توسط متخصص گیاه شناس در دانشگاه لرستان مورد شناسایی و تایید قرار گرفت. بدین منظور عصاره گیاه در دو مرحله تکوینی از دو منطقه ذکر شده تهیه گردید. استان لرستان یکی از استان های کوهستانی واقع در غرب کشور، بین ۴۶ درجه و ۵۱ دقیقه تا ۵۰ درجه و ۳ دقیقه طول شرقی از نصف النهار گرینویچ و ۳۲ درجه و ۳۷ دقیقه تا ۳۴ درجه و ۲۲ دقیقه عرض شمالی از خط استوا قرار گرفته و دارای وسعتی بالغ بر ۲۸/۲۹۴ کیلومتر می باشد که اکثریت بخش های آن از کوه های سر به فلک کشیده زاگرس پوشیده شده است. استان ایلام یکی دیگر از استان های واقع در غرب کشور می باشد که به مانند استان لرستان بیشتر مساحت آن را مناطق کوهستانی متعلق با زاگرس پوشانده است. این استان با وسعتی حدود ۲۰۱۵۰ کیلومتر مربع، حدود ۱/۴ درصد از مساحت کشور را در بر دارد. این استان به غیر از نواحی جنوب غربی آن، مشتمل بر کوهستان های بسیار رفیع و در هم تنیده ای است که از چین خوردگی های متعدد و موازی تشکیل شده است.



شکل ۱. مرحله پیش از گلدهی و گلدهی گیاه آوندول

نمونه‌های گیاه در دو مرحله تکوینی جمع‌آوری شده، پس از زدودن گرد و خاک، و مواد اضافی در دمای اتاق و در سایه خشک و در آزمایشگاه دانشگاه پیام نور مرکز ایلام با استفاده از آسیاب پودر گردید. جهت تهیه عصاره متانولی بخش‌های رویشی (برگ و ساقه) و زایشی (گل) گیاه آوندول، یک گرم از پودر خشک شده این گیاه را با ۱۵ میلی لیتر از متانول ۸۰ درصدی در شیکر انکوباتور در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد وارد نموده و آن را در دور ۱۵۰ rpm برای مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. با سپری شدن ۲۴ ساعت، صاف کردن عصاره به دست آمده توسط کاغذ صافی واتمن صورت گرفت. عصاره‌های غلیظ تهیه شده را به داخل بشر وارد کرده و جهت تبخیر کامل حلال آن را به آون فن‌دار با دمای ۴۵ درجه سانتیگراد وارد نموده و بعد از آن به آون خلاء با شرایط دمایی ۳۵ درجه سانتیگراد و فشار ۲۰ میلی متر جیوه منتقل شدند که این امر به منظور حلال‌زدایی کامل و خشک شدن نمونه‌ها می‌باشد. پس از سه روز، عصاره‌ها خشک گردیده و آنها در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان استفاده نگهداری شدند.

مقدار فنول کل گیاه با استفاده از معرف فولین-سیو کالتیو توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای این کار به ۰/۱ میلی لیتر از عصاره متانولی گیاه، ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی لیتر معرف فولین-سیو کالتیو ۵۰ درصد اضافه کرده و پس از ۵ دقیقه، ۵ میلی لیتر کربنات سدیم (۷ درصد) به آن اضافه گردید. سپس به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری نموده و پس از آن جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر نسبت به شاهد قرائت گردید. برای رسم منحنی کالیبراسیون، گالیک اسید به عنوان استاندارد به کار رفت و میزان آن بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره (بر حسب میانگین آنها) گزارش شد. از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید و اسپکتروفتومتر (در طول موج ۵۱۷ نانومتر) جهت سنجش مقدار فلاونوئید کل استفاده گردید. از کوئرتستین جهت رسم منحنی استاندارد استفاده گردید (طبق مقاله Chang و همکاران در سال ۲۰۰۲). براساس میلی گرم معادل کوئرتستین بر گرم وزن خشک گیاه (mg QE/ gr DW) میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها محاسبه گردید. داده‌ها



توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ مورد آنالیز قرار گرفتند. با به کارگیری آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه میانگین داده‌ها در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت.

۳. نتایج

مقادیر فنل کل (بر حسب میلی گرم اسید گالیک بر وزن خشک) و فلاونوئید کل (بر حسب میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه) برای عصاره متانولی دو مرحله تکوینی، پیش از گلدهی و گلدی، گیاه آوندول در رویشگاه‌هایی در استان ایلام و لرستان در جدول ۱ ذکر شده است.

با توجه به نتایج ذکر شده در جدول ۱ مشخص می‌شود که بیشترین محتوای فنول کل مربوط به مرحله گلدهی به ترتیب به میزان 0.11 ± 0.13 و 0.08 ± 0.1 میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک در رویشگاه کبیر کوه استان ایلام و اشترانکوه استان لرستان، و کمترین میزان فنول با مقدار 0.13 ± 0.09 و 0.09 ± 0.07 به ترتیب مربوط به عصاره‌های استخراج شده در مرحله نموی پیش از گلدهی گیاه جمع آوری شده از اشترانکوه استان لرستان و کبیر کوه استان ایلام می‌باشد. بین میانگین‌های فنول کل عصاره‌های به دست آمده از دو رویشگاه در هر دو مرحله نموی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$).

مقادیر فلاونوئید کل (بر حسب میلی گرم کوئرستین بر وزن خشک گیاه) برای عصاره متانولی بخش رویشی گیاه آوندول در دو رویشگاه کبیر کوه ایلام و اشترانکوه لرستان در جدول ۱ ذکر شده است. بیشترین محتوای فلاونوئید کل مربوط به مرحله گلدهی گیاه در رویشگاه کبیر کوه و اشترانکوه به ترتیب به میزان 0.09 ± 0.09 و 0.10 ± 0.03 می‌باشد. همچنین پایین‌ترین میزان فلاونوئید کل عصاره مربوط به مرحله پیش از گلدهی در رویشگاه اشترانکوه و کبیر کوه می‌باشد که به ترتیب به میزان 0.11 ± 0.09 و 0.10 ± 0.02 بود. در پژوهش حاضر بین میانگین‌های فنول کل عصاره‌های به دست آمده از دو رویشگاه کبیر کوه و اشترانکوه تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$).

جدول ۱. مقادیر فنول و فلاونوئید کل عصاره متانولی بخش‌های هوایی گیاه دارویی آوندول در دو مرحله تکوینی

منطقه مورد مطالعه	مرحله نموی	فنول کل (mg) (GAE/g DW)	فلاونوئید کل (DW) (mg QE/ gr)
کبیر کوه-ایلام	پیش از گلدهی	0.09 ± 0.07	0.10 ± 0.02
کبیر کوه-ایلام	گلدهی	0.11 ± 0.09	0.09 ± 0.09
اشترانکوه-لرستان	پیش از گلدهی	0.13 ± 0.09	0.11 ± 0.09
اشترانکوه-لرستان	گلدهی	0.08 ± 0.1	0.10 ± 0.03

۴. بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر به بررسی مقایسه‌ای مقادیر فنول کل و فلاونوئید کل دو مرحله تکوینی، پیش از گلدهی و گلدی، گیاه آوندول در رویشگاه‌های طبیعی آن در کبیر کوه استان ایلام و اشترانکوه استان لرستان پرداخته شد. دو ایستگاه مورد اشاره با شرایط آب و هوا، و ارتفاع از سطح دریای متفاوت هستند. بیشترین مقدار فنول کل مربوط به رویشگاه کبیر کوه در استان ایلام و کمترین آن مربوط به رویشگاه اشترانکوه به دست آمد. نتایج مطالعه انجام گرفته نشان‌دهنده تفاوت‌هایی در مقدار فنل و



فلاونوئید کل دو رویشگاه مورد اشاره است. میزان فنل کل از مقدار $0.09 \pm 0.78/5$ تا $0.11 \pm 0.13/6$ میلی گرم بر گرم وزن خشک گیاه، و میزان فلاونوئید کل از مقدار $0.11 \pm 0.09/2$ تا $0.09 \pm 0.97/2$ میلی گرم بر گرم وزن خشک گیاه متغیر بود. هیرت و شینزوکی در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که انباشته شدن ترکیبات فنلی در گیاهان یک نوع پاسخ دفاعی در آنها در مقابل تنش های مختلف بیولوژیک و غیر بیولوژیک می باشد (Hirt and Shinozaki, 2004). در مطالعه دیگری که توسط مرتضایی و همکارانش در سال ۱۳۹۲ انجام گرفت بالاترین مقادیر ترکیبات فنلی در هر گرم از عصاره خشک شده با $480/67$ میلی گرم مربوط به گیاه گل انار بود و بعد از آن آویشن با مقدار $283/43$ میلی گرم قرار داشت. کمترین مقادیر مربوط به گیاه چای کوهی با میزان $44/53$ میلی گرم بود (مرتضایی و همکاران، ۱۳۹۲).

در پژوهش Mirzaee و همکارانش در سال ۲۰۱۲ که بر روی مطالعه فعالیت های ضد اکسیدانی و نیز میزان ترکیبات فنلی عصاره های هیدروالکلی به دست آمده از چند گیاه دارویی، منجمله آویشن دناپی، انجام شد نشان داد که بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل مربوط به گیاه مرزنجوش می باشد. در مطالعات گذشته مشخص شده که گیاه آوندول بسته به شرایط اقلیمی مناطقی که در آن رویش دارد مرحله اولیه رشد خود با افزایش دمای هوا، از اواسط اسفند ماه آغاز می نماید و تا اواخر اسفند ماه ادامه دارد. رشد رویشی آن از اواخر اسفند ماه آغاز می گردد و تا اوایل خرداد نیز ادامه دارد (جهانتاب و همکاران، ۱۳۹۴). مرحله زایشی آن که مرحله رشد گل آذین ها و گلدهی می باشد نیز از اواخر اردیبهشت آغاز می شود و تا ابتدای تیر ماه ادامه دارد. در همان ماه نیز بذر دهی و رسیدن بذر ادامه دارد. در رویشگاه کبیرکوه با دارا بودن ارتفاع از سطح پایین تر و میانگین دمای بالاتر نسبت به رویشگاه اشترانکوه، هوا زودتر از منطقه اشترانکوه گرم شده و گیاه مورد مطالعه زودتر به مرحله گلدهی وارد می گردد. بالطبع گیاه به منظور مقابله با تنش های محیطی میزان متابولیت های ثانویه بالاتری را در خود تولید می نماید. محیط فیزیکی محل رویش گیاه عمدتاً بعنوان فاکتور کنترل کننده مهمی در پراکنش مکانی گیاهان در مناطق کوهستانی مد نظر می باشد. از آنجا که این پراکنش مکانی پوشش گیاهی در مناطق کوهستانی با ارتفاع زیاد عمدتاً مربوط به توپوگرافی آن می باشد. بنابراین فاکتورهای مرتبط با سطح دریاهاى مربوط به زمین همچون شیب و جهت آن، و ارتفاع از پارامترهای مهم در آنالیز مکانی گونه های مختلف گیاهی می باشند که می تواند در مطالعات دیگری روی این گیاه مورد سنجش قرار گیرد (Kashian et al., 2003).

در مطالعه حاضر مقادیر مربوط به فنل و فلاونوئید کل مرحله پیش از گلدهی و گلدهی گیاه دارویی آوندول در دو رویشگاه کبیرکوه و اشترانکوه در استان های ایلام و لرستان مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد مقدار فنل و فلاونوئید کل مرحله گلدهی گیاه رشد یافته در رویشگاه کبیرکوه بالاتر از مرحله پیش از گلدهی همان رویشگاه و رویشگاه دیگر می باشد. نمونه ها از مناطق کوهستانی با ارتفاع بالا جمع آوری گردیدند. ارتفاع از سطح دریا در رویشگاه کبیرکوه پایین تر از رویشگاه اشترانکوه بود. هر چند مشخص گردیده که رابطه مستقیمی بین افزایش ارتفاع از سطح دریا با کمیت و کیفیت مواد موثره ثانویه در برخی گیاهان وجود دارد اما در پژوهش حاضر عکس این نتایج به دست آمد.

منابع

- آزمند نظام، جهانتاب اسفندیار. بررسی فیتوشیمیایی اسانس گیاه دارویی آوندول (*Smyrniun cordifolium* Boiss) در رویشگاه‌های مختلف شهرستان بویراحمد. (۱۳۹۸). نشریه علمی پژوهشی مرتع، سال سیزدهم، شماره اول، ۵۳-۳۹.
- امیری حمزه، اسماعیلی اکبر، (۱۳۸۵). بررسی تغییرات کمی و کیفی اسانس گیاه آوندول (*Smyrniun cordifolium* Boiss) در پنج منطقه رویشی استان لرستان. فصلنامه گیاهان دارویی، سال پنج، شماره بیستم، ۴۱-۳۶.
- امیدبگی، ر. (۱۳۷۹). تولید و فراوری گیاهان دارویی، انتشارات آستان قدس رضوی، ۴۲۴ صفحه.
- جهانتاب اسفندیار، شرافتمندراد محسن، فتاحی بختیار، کرمی رضوان، آفریگان آزاده. (۱۳۹۴). بررسی برخی خصوصیات فردی گونه دارویی آوندول (*Smyrniun cordifolium* Boiss.) در منطقه بویراحمد. نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دهم، شماره ۳۹، صفحات ۶۵-۵۵.
- سلطانی لایلا، درب امامیه مریم. (۱۳۹۵). تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره آوندول (*Smyrniun cordifolium*) بر مرگ برنامه ریزی شده و مهار تکثیر سلول های سرطانی رده MCF-7. مجله دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، دوره بیستم، شماره اول، ۹۴-۱۰۳.
- گنجعلی، ع، زارع حسن آبادی، م، صفار یزدی، آ. (۱۳۹۷). فیزیولوژی گیاهی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.
- مرتضایی، س، رفیعان، م، انصاری سامانی، ر، شاهین فرد، ن. (۱۳۹۲). مقایسه غلظت ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی هشت گیاه دارویی. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، صفحات ۸۳۰-۸۱۹.
- Amiri, H., Khavari-Nejad, R.A., Masoud, S., Chalabian, F., Rustaiyan, A. (2006). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from Stems, Leaves, Fruits and Roots of *Smyrniun cordifolium* Boiss. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 18 (5): 18-30.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. & Chern, J. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. Food and Drug Analysis, 10; 178-182.
- Hirt, H. and Shinozaki, K. (2004). Plant responses to abiotic stress topics in current genetics. Spring berlin/New York. ISBN 978-3-540-20037-6.
- Kashian, D.M., Barnes, B.V. and Walker, W.S. (2003). Ecological species group of landform-level ecosystems dominated by pine in northern Lower Michigan, USA. Plant Ecology. 166: 75-91.
- Rasti, A., F. Sefidkon & K. Jaimand, 2001. Effect of habitat, elevation, aspect and slope on the quality and quantity of essential oil of *Juniperus* sp., in the Amarlooi Roodbar regions, International Conference of Medicinal Plants, 159 p. (In Persian)
- Srivastava, M.P., Tiwari, R., Sharma, N. (2013). Assessment of phenol and flavonoid content in the plant materials. Journal on New Biological Reports 2(2): 163-166.
- Ulubelen, A., Öksüz, S., & Tanker, N. (1984). Furanosesquiterpenes from the fruits of *Smyrniun cordifolium*. Phytochemistry, 23(8), 1793-1794. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)83496-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)83496-2)



سنجش میزان فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی دو مرحله تکوینی در گل راعی

مهین فولادی^۱، زهرا بقایی فر^{۱*}، حمید درویش نیا^۱

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران. (z_baghaeifar@pnu.ac.ir)

چکیده

در پژوهش حاضر به بررسی مقایسه‌ای مقادیر فنل و فلاونوئید کل، و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی دو مرحله رویشی و زایشی گیاه گل راعی (*Hypericum perforatum*) پرداخته شد. هوفاریقون یا گیاه گل راعی از گونه‌های مهم جنس *Hypericum* می‌باشد که به دلیل توانایی بالا در سازگاری، دارای پراکنش وسیعی در ایران می‌باشد. گیاه مورد نظر از استان‌های لرستان و ایلام جمع آوری گردید. نمونه‌ها در سایه و دمای محیط خشک گردید و پس از تهیه پودر، عصاره به روش متانولی استخراج شد. میزان فنول و فلاونوئید کل به ترتیب با روش‌های فولین-سیوکالتیو و رنگ سنجی آلومینیوم کلرید مورد سنجش قرار گرفت. برای سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی به کمک رادیکال پایدار ۲-۲ دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن صورت گرفت. بالاترین مقدار فنول و فلاونوئید کل در مرحله رویشی گیاه رویشگاه چرداول (به ترتیب $1/01 \pm 7/53$ میلی گرم اسید گالیک بر وزن خشک و $0/11 \pm 2/63$ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) بود. بیشترین میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی (کمترین میزان IC50) مربوط به مرحله رویشی رویشگاه چرداول، با مقدار $4/13 \pm 70/73$ میلی گرم بر میلی لیتر بود. بین مقادیر فعالیت آنتی اکسیدانی در شرایط متفاوت اکولوژیک و بخش‌های مختلف گیاه همبستگی وجود دارد. بالاتر بودن این مقادیر به علت ارتفاع پایین تر از سطح دریا و میانگین دمایی بالاتر رویشگاه چرداول نسبت به الشتر می‌باشد و بالطبع گیاه به منظور مقابله با تنش‌های محیطی میزان متابولیت‌های ثانویه بالاتری را در خود تولید می‌نماید.

واژگان کلیدی: غرب ایران، گل راعی، متابولیت‌های ثانویه، مرحله رویشی.



۱. مقدمه

گیاهان با خواص دارویی منابع با ارزشی جهت تولید مواد معطر، چاشنی‌ها، شیرین‌کننده‌های با منشاء طبیعی، ترکیب‌های با خاصیت دارویی و ترکیبات ضد میکروبی هستند. در بیشتر موارد این ترکیبات شیمیایی با اثرات متعدد بعنوان متابولیت‌های ثانویه شناخته می‌شوند. کشور پهناور ایران به لحاظ آب و هوایی و موقعیت جغرافیایی خاصی که دارد یکی از مستعدترین مناطق در زمینه رشد و تکثیر گیاهان دارویی به حساب می‌آید و از سالیان دور به عنوان منبعی برای تولید و مصرف گیاهان با خاصیت دارویی بوده است (امیدبگی، ۱۳۷۹). گیاه گل راعی با نام علمی *Hypericum perforatum*، که به هوفاریقون یا علف چای و نیز گل‌زرد معروف است گیاهی از خانواده گل راعی Hypericaceae می‌باشد. این گیاه علفی و پایا بوده که در آسیا، غرب اروپا و شمال آفریقا رویش دارد (Crockett, 2010). این گیاه با دارا بودن ترکیبات شیمیایی مختلف، شامل فلاونوئیدها، تانن‌ها، پروتو هیپرسیک کاذب، گزانتون‌ها، فلورو گلوکوسینول‌ها، هیپرسیک‌ها، خواص درمانی متعددی دارد که می‌توان به فعالیت‌های ضد ویروسی، ضد اکسیدانی، آنتی باکتریال؛ ضد میکروبی، حشره کشی با فعالیت آنتی باکتریال، ضد عفونی کننده، ضد قارچی، درمان بواسیر و اسهال، درمان پسروریزیس و اگرما و خواص ضد تشنج و ضد اضطرابی آن اشاره نمود (Akhbari et al., 2012).

در اکوسیستم‌های مختلف، عملکرد گیاهان متأثر از علل مختلفی نظیر گونه، اقلیم منطقه، نوع خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی گیاهان آن منطقه می‌باشد. هر یک از این عوامل می‌توانند تأثیر به سزایی بر کمیت و کیفیت محصول گیاهان داشته باشند (حبیبی و همکاران، ۱۳۸۵). گیاهان همواره در معرض تنش‌های محیطی مختلفی که در محیط اطراف آنها وجود دارد قرار دارند. یکی از بارزترین آنها تنش اکسیداتیو است که خود می‌تواند منجر به غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب ساختار غشاء شود. در گونه‌های مختلف گیاهی، مقادیر متفاوتی از ترکیبات آنتی اکسیدان سنتز شده که آنها را در مقابل گونه‌های مضر اکسیژن فعال شده محافظت می‌کند. گیاهان سیستم دفاعی آنتی اکسیدان قوی مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانین و ترکیبات فنولی مختلفی را به کار می‌اندازند که مسئول حذف یا غیرفعال کردن اکسیژن فعال شده است و علاوه بر این کار مقاومت گیاهان به این شرایط را افزایش می‌دهند (Akhbari et al., 2012). در پژوهش حاضر به بررسی مقایسه ای مقادیر فنل و فلاونوئید کل و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی دو مرحله رویشی و زایشی گیاه گل راعی از دو استان لرستان و ایلام، واقع در غرب ایران پرداخته شده است.

۲. مواد و روش‌ها

در این مطالعه، گل راعی از خانواده گل راعیان جمع آوری شده از استان‌های ایلام و لرستان مورد بررسی قرار گرفت. بخش‌های رویشی و زایشی گیاهان جدا گردیده و در سایه خشک گردید. پس از خشک شدن، نمونه‌ها به صورت مجزا توسط آسیاب پودر و در شرایط بهینه و مناسب نگهداری شدند. عصاره نمونه‌ها به روش متانولی به دست آمد. پس از سه روز، عصاره‌های خشک شده در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان استفاده نگهداری شدند. به منظور محاسبه بازده عصاره، مقدار عصاره خشک به دست آمده در ۱۰۰ گرم گیاه خشک مد نظر قرار گرفت.



مقادیر فنول کل در قسمت های مختلف گیاه با اندکی تغییر با روش فولین-سیو کالتیو توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر و با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره بررسی شد (Mc Donald et al., 2001). محتوای فنل کل بر اساس میلی گرم معادل گالیک اسید به گرم وزن خشک بافت $1 \text{ g}^{-1} \text{ DW mg GAE}$ گیاه گزارش شد. به منظور سنجش مقادیر فلاونوئید کل در عصاره به دست آمده از گیاه، روش رنگ-سنجی آلومینیوم کلرید و در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مورد استفاده قرار گرفت. به منظور رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد (Chang et al., 2002). میزان فلاونوئید کل عصاره ها بر اساس میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه DW mg QE/gr محاسبه شد. برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی از توانایی مهار رادیکال های DPPH استفاده گردید. در این آزمون، گروه های هیدروکسیل ترکیبات آنتی اکسیدانی با دادن هیدروژن به رادیکال های آزاد DPPH منجر به کاهش مولکول های DPPH می شوند که با تغییر رنگ محلول واکنش از رنگ بنفش تیره به زرد روشن همراه است. میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. از نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ و Excel 2013 برای آنالیز آماری داده ها و رسم نمودارهای مورد نیاز استفاده گردید.

۳. نتایج

نتایج به دست آمده از سنجش مقادیر فنل و فلاونوئید کل و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی برای عصاره های متانولی مراحل رویشی و زایشی گیاه گل راعی (هوفاریقون) از دو رویشگاه در جدول ۱ نشان داده شده است. بالاترین محتوای فنول کل مربوط به عصاره مرحله رویشی گیاه از رویشگاه چرداول و الشتر، به ترتیب به مقدار $1/01 \pm 7/53$ و $0/21 \pm 7/07$ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک و پایین ترین مقدار فنول کل عصاره ها مربوط به مرحله زایشی از رویشگاه الشتر و چرداول، به ترتیب با مقدار به ترتیب $1/21 \pm 5/61$ و $0/71 \pm 5/92$ بود. بین میانگین های فنول کل عصاره های به دست آمده از رویشگاه های الشتر و چرداول و نیز بین مراحل رویشی و زایشی این دو گونه اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < 0.05$). بالاترین محتوای فلاونوئید کل مربوط به عصاره بخش رویشی رویشگاه های چرداول و الشتر، به ترتیب به مقدار $0/11 \pm 2/63$ و $0/21 \pm 2/27$ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک و پایین ترین مقدار فنول کل عصاره ها مربوط به بخش زایشی در رویشگاه های الشتر و چرداول، به ترتیب با مقدار $0/09 \pm 1/98$ و $0/07 \pm 2/02$ بود. بین میانگین های فلاونوئید کل عصاره های به دست آمده از رویشگاه های الشتر و چرداول و نیز بین بخش های رویشی و زایشی این گیاه اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < 0.05$). عصاره بخش رویشی گیاه از چرداول دارای بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی، با $4/13 \pm 70/73$ میکروگرم بر میلی لیتر (دارای کمترین میزان IC_{50}) بود. بیشترین میزان IC_{50} که نشان دهنده میزان فعالیت آنتی اکسیدانی کمتر است نیز مربوط به بخش رویشی گیاه از الشتر، با میزان IC_{50} $5/43 \pm 101/89$ میکروگرم بر میلی لیتر بود.

جدول ۱. مقدار فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه گل راعی

منطقه مورد مطالعه	بخش گیاهی	فنول کل (mg) (GAE/g DW)	فلاونوئید کل (mg) (QE/ gr DW)	سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی (IC_{50})
-------------------	-----------	----------------------------	----------------------------------	-----------------------------------------



۷۰/۷۳ ± ۴/۱۳	۲/۶۳ ± ۰/۱۱	۷/۵۳ ± ۱/۰۱	بخش رویشی	چرداول - ایلام
۷۵/۸۱ ± ۳/۹۷	۲/۰۲ ± ۰/۰۷	۵/۹۲ ± ۰/۷۱	بخش زایشی	چرداول - ایلام
۱۰۱/۸۹ ± ۵/۴۳	۲/۲۷ ± ۰/۲۱	۷/۰۷ ± ۰/۲۱	بخش رویشی	الشتر - لرستان
۸۷/۸۹ ± ۴/۷۶	۱/۹۸ ± ۰/۰۹	۵/۶۱ ± ۱/۲۱	بخش زایشی	الشتر - لرستان

۴. بحث و نتیجه گیری

در پژوهش حاضر به بررسی مقایسه‌ای میزان فنل و فلاونوئید و ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه گل راعی در دو رویشگاه در استان ایلام و لرستان، با شرایط آب و هوای متفاوت پرداخته شده است. از آنجایی که مرحله تکوینی گیاه و منطقه‌ای که نمونه از آنجا جمع‌آوری می‌شود، تاثیر بسزایی بر زیست توده و میزان ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه دارد، شناخت این مرحله برای هر گیاه سبب می‌گردد که ما اطلاع دقیق‌تری از زمان مناسب برای برداشت و جمع‌آوری آنها و بالطبع اطلاع از وجود ترکیبات شیمیایی که باعث اثر درمانی گیاه می‌گردد، داشته باشیم. بالاترین محتوای فنول و فلاونوئید کل مربوط به عصاره بخش رویشی این گیاه در رویشگاه چرداول و الشتر و پایین‌ترین مقدار مربوط به بخش زایشی در رویشگاه الشتر و رویشگاه چرداول بود (جدول ۱). نتایج نشان داد که بین مقادیر فنول و فلاونوئید کل در شرایط متفاوت اکولوژیک و دو مرحله نموی گیاه تفاوت وجود دارد. گیاه به منظور مقابله با تنش‌های محیطی میزان متابولیت‌های ثانویه متفاوتی را در خود تولید می‌نماید. نکته قابل توجه در نتایج به دست آمده در این تحقیق، تفاوت در مقدار فنول و فلاونوئید کل و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در دو بخش رویشی و زایشی و نیز در دو اقلیم متفاوت است به‌طوری‌که افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی در برگ‌ها (متعلق به بخش رویشی گیاه) مشاهده گردید. تفاوت در میزان فنول و فلاونوئید کل، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و حتی نوع ترکیبات سازنده عصاره در طول تکوین گیاه و اقلیم‌های متفاوت با میزان بیان و یا عدم بیان مجموعه‌های ژنی مرتبط با سنتز اسانس‌ها تغییر می‌کند که تحت تاثیر برهمکنش با عوامل محیطی در هر مرحله تکوینی متغیر گیاه می‌باشند (Toncer et al., 2010).

در تحقیقی نشان داده شد که بررسی سیر تغییرات فنول کل با پیشرفت مراحل نموی میزان فنول و فلاونوئید کل از مرحله نموی قبل از گلدهی تا گلدهی افزایش می‌یابد و در فاصله زمانی بین گلدهی و پس از گلدهی تا حدودی کاهش می‌یابد. در این مطالعه عصاره گیاه گل راعی دارای فنل و فلاونوئید کل مناسبی می‌باشد و به خاطر وجود این متابولیت‌های ثانویه در گیاه مد نظر، از ظرفیت آنتی اکسیدانی مناسبی برخوردار است (Akhbari et al., 2012). در مطالعه‌ای رابطه مستقیمی بین محتوای فنل و فلاونوئید کل گیاه و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی همان گیاه به دست آورده‌اند (کمالی و همکاران، ۱۳۹۳). فلاونوئیدها از مهمترین ترکیبات فنلی هستند که خاصیت ضد التهابی، ضد باکتری، ضد تب، ضد آلرژی و ظرفیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی دارند. طبق نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر مقدار فنول و فلاونوئید کل در بخش رویشی (برگ) گیاهان رشد یافته در رویشگاه چرداول که دارای آب و هوای گرم‌تری است، نسبت به سایر بخش‌های رویشی یا زایشی و منطقه سردسیر الشتر بالاتر است. ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتر (IC₅₀ پایین‌تر) در مرحله رویشی این گیاه نسبت به مرحله زایشی کاملاً مشهود بود. بنابراین همبستگی مثبتی بین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و مرحله نموی مورد نظر در این گیاه شد.



میزان فاکتور IC_{50} معمولاً جهت مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های مختلف استفاده می‌شود که به غلظتی از عصاره گفته می‌شود که در آن ۵۰ درصد از رادیکال‌های DPPH موجود در محیط واکنش مهار می‌شوند. هر چه این غلظت کمتر باشد، نشان‌دهنده این است که عصاره مورد نظر فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری دارد. سنجش میزان IC_{50} در تعدادی از گیاهان دیگر بررسی شده است. منتشلو و همکاران در سال ۱۳۹۶ با مقایسه عصاره‌های مختلف درخت گردو متوجه شدند که بیشترین فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بعد از اسید آسکوربیک، مربوط به عصاره اتانولی شاخه و تنه می‌باشد. رادیکال DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با اتم مرکزی نیتروژن بوده که با احیاء توسط فرایندهای گرفتن هیدروژن یا الکترون رنگ آن از ارغوانی به زرد تبدیل می‌شود. ترکیب‌هایی که قابلیت انجام این عمل را دارند به عنوان یک آنتی اکسیدان مطرح می‌شوند. سنجش فعالیت به دام اندازی رادیکال DPPH تفاوت معنی‌داری در دو منطقه مورد مطالعه و بخش‌های هوایی مختلف نشان داد. در مطالعه‌ای ارتباط بین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و مرحله رویشی و زیستگاه را در بسیاری از گیاهان گزارش کردند و این ارتباط در مطالعه حاضر مشاهده گردید (Cai et al., 2004).

بخش رویشی این گیاه در رویشگاه چرداول با دارا بودن فنل و فلاونوئید کل بیشتر، دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتری بود. مطالعات گسترده‌ای نشان داده است که خاصیت آنتی اکسیدانی گیاهان مختلف وابسته به حضور ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدهای موجود در این گیاهان می‌باشد. این ترکیبات به عنوان جمع‌آوری‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد و نیز مهارکننده پراکسیداسیون لیپیدی شناخته شده‌اند. این دو جمعیت به دلیل قرارگیری در شرایط رویشگاهی و آب و هوایی مختلف، تفاوت‌هایی در میزان متابولیت‌های ثانویه و ظرفیت آنتی اکسیدانی نشان دادند که به دلیل تفاوت در تنش‌های محیطی مختلفی است که گیاهان این دو رویشگاه با آنها مواجه هستند.

منابع

- امیدیگی، ر. (۱۳۷۹). تولید و فراوری گیاهان دارویی، انتشارات آستان قدس رضوی، ۴۲۴ صفحه.
- حبیبی، ح.، مظاهری، د.، مجنون حسینی، ن.، چایی چی، م.، طباطبایی، م.ف.، بیگدلی، م. (۱۳۸۵). اثر ارتفاع بر روغن اسانس و ترکیبات گیاه دارویی آویشن وحشی (*Thymuskotschyanus* Boiss) منطقه طالقان. مجله پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی، ۷۳: ۲-۱۰.
- کمالی، م.، خسرویاری، س.، جلیلیوند، م. (۱۳۹۳). بررسی ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، آنتوسیانینی و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های مختلف اندام هوایی گیاه دارویی بادرنجبویه دنائی «مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی»، ۶(۳): ۶۲۷-۶۳۴.
- منتشلو جعفر، دلجو علی، پیری خسرو. (۱۳۹۶). بررسی میزان فنول و فلاونوئیدها و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های اتانولی، متانولی، کلروفرمی و اتیل استاتی پوست تنه و شاخه درخت بید (*Salixalba*. L.). مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست شناسی ایران)، ۳۰(۳): ۲۹۵-۳۰۳.
- Akhbari, M.; Batooli, H. and Mozdianfard, M. (2012). Comparative study of composition and biological activities of SDE prepared essential oils from flowers and fruits of two *Hypericum* species from central Iran. *Nat. Prod. Res.*; 26: 193-202.
- Cai Y, Luo Q, Sun M. and Corke H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.* 12;74(17):2157-84. doi: 10.1016/j.lfs.2003.09.047. PMID: 14969719; PMCID: PMC7126989.

- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Food and Drug Analysis*, 10: 178-182.
- Crockett, S. L. (2010). Essential oil and volatile components of the genus *Hypericum* (*Hypericaceae*). *Natural Product Communications*, 5(9):1493-1506.
- McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M. and Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73(1): 73-84. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00288-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00288-0)
- Toncer, O., Karaman, S. and Diraz, E. (2010). An annual variation in essential oil composition of *Origanum syriacum* from Southeast Anatolia of Turkey. *Journal of Medicinal Plant Research*, 11:1059-1064.



بررسی مقادیر فنول و فلاونوئید کل دو مرحله تکوینی گیاهان دارویی *Allium jesdianum* و *Nectaroscordum tripedale*

زهرا منصوری^۱، زهرا بقایی فر^{۱*}، حمید درویش نیا^۱

^۱ گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران؛ (z_baghaeifar@pnu.ac.ir)

چکیده

متابولیت‌های ثانویه، ترکیبات آلی با عملکردهای اکولوژیکی مهم در گیاهان هستند که در حفاظت از گیاهان در برابر عوامل مختلف همچون گیاهخواران و عوامل میکروبی بیماری‌زا نقش دارند. دو گونه گیاهی خرگریو (*Nectaroscordum tripedale*) و بُن‌سرخ (*Allium jesdianum*) از گونه‌های بومی ایران می‌باشند که به‌طور خودرو در رشته‌کوه‌های زاگرس در غرب و جنوب غربی ایران می‌رویند. این گیاهان دارای ارزش‌های غذایی-دارویی زیادی هستند و از گذشته تا به امروز توسط جوامع محلی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تاثیر دو مرحله تکوینی بر میزان فنل و فلاونوئید کل این دو گونه هم‌بوم از ارتفاعات کبیرکوه در جنوب استان ایلام می‌باشد. پس از جمع‌آوری بخش‌های رویشی و زایشی، نمونه‌ها در سایه خشک شده و عصاره به روش متانولی استخراج شد. محتوای فنل کل و فلاونوئید کل به ترتیب با استفاده از روش Folin-Ciocalteu و سنجش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. از نرم افزار SPSS برای انجام آنالیزهای آماری استفاده شد و جهت مقایسه میانگین‌ها با همدیگر آزمون چند دامنه‌ای دانکن بکار رفت. نتایج نشان داد بخش رویشی (ساقه و برگ) بن‌سرخ و خرگریو دارای بالاترین بازده عصاره، بالاترین مقادیر فنول کل (به ترتیب $2/81 \pm 18/43$ و $3/01 \pm 16/51$ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) و فلاونوئید کل (به ترتیب $0/92 \pm 4/93$ و $1/02 \pm 3/87$ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) بودند. می‌توان استنتاج کرد که بخش رویشی این دو گیاه دارای مقادیر بالای فنل و فلاونوئید کل است. تحقیقات بیشتری که متضمن شناسایی هر چه بیشتر و با جزئیات ترکیبات فیتوشیمیایی این گونه‌های گیاهی باشد، به احتمال زیاد بتواند به بهره‌گیری از آنها در صنایع بهداشتی، علوم غذایی و دارویی بیانجامد.

واژگان کلیدی: بُن‌سرخ، خرگریو، غرب ایران، متابولیت‌های ثانویه



۱. مقدمه

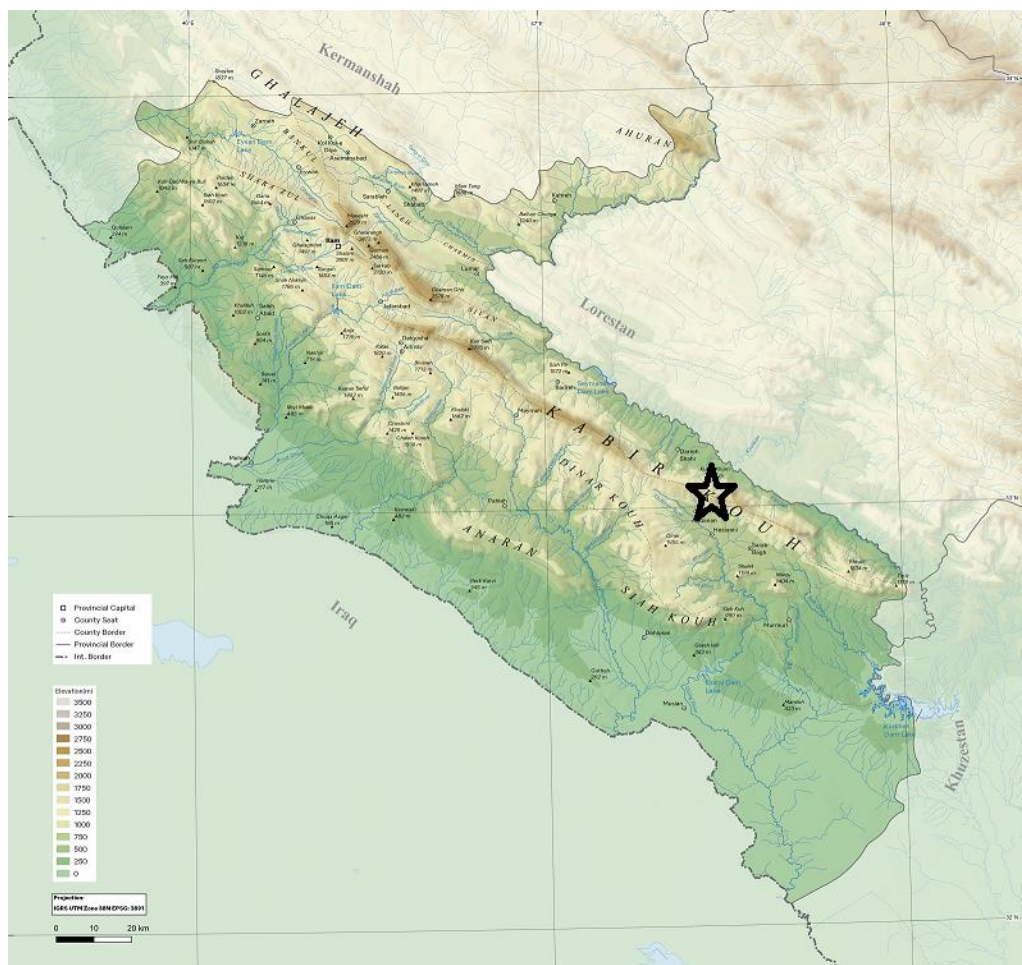
گیاهان به دلیل داشتن خواص دارویی-غذایی، و نیز به عنوان منابع اولیه ترکیبات زیست فعال از اهمیت بالایی برخوردار هستند. دو گروه از ترکیبات، شامل متابولیت‌های اولیه و ثانویه، در یاخته‌های مختلف گیاهی سنتز می‌شوند. متابولیت‌های اولیه (شامل قندها، چربی‌ها، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها) به طور مستقیم در فرایندهای رشد و متابولیسمی گیاه دخیل هستند. متابولیت‌های ثانویه که بعنوان ترکیباتی فرعی و انتهایی از متابولیسم‌های اولیه به حساب می‌آیند و در فرایندهای سوخت و سازی وارد نمی‌گردند از بیوسنتز اولیه‌ها به وجود می‌آیند (غلامی، ۱۳۹۶). متابولیت‌های ثانویه در مقادیر کم تولید و ذخیره شده و معمولاً در یکسری سلول‌های تخصصی، اندام‌های خاص و مرحله‌ای خاص در مراحل تکوینی زندگی گیاهان تولید می‌شوند و به این دلیل نسبت به متابولیت‌های اولیه که در همه یاخته‌ها تولید می‌شوند، استخراج و خالص نمودن آنها دشوارتر است (Van Etten et al., 2001).

گیاهان و فرآورده‌های گیاهی در طول تاریخ بشر در طب سنتی برای درمان بیماری‌های رایج به کار رفته‌اند و در بیشتر موارد باعث از بین بردن بیماری شده، بدون اینکه اثرهای نامطلوبی بر سلامت مصرف‌کنندگان بر جای بگذارند (Mazid et al. 2011; Peniche-Pavia et al., 2022; Sadowska-Bartosz and Bartosz, 2022). گیاه خرگوب با نام علمی *Nectaroscordum tripedale* متعلق به جنس *Tripedale* و تیره *Liliaceae* (سوسنیان) می‌باشد که در مناطق مختلفی از جهان شامل ایران، ترکیه، عراق و قفقاز رویش دارد. این گیاه بومی مناطق نیمه غربی کشور از جمله استان‌های لرستان، ایلام، کهگیلویه و بویر احمد و ... می‌باشد. مردم این مناطق از گیاه خرگوب استفاده خوراکی دارند. برگ‌های گیاه بوی تند و قوی داشته و به اعضای هم‌خانواده خود مثل سیر شباهت زیادی دارد. بسیاری از ترکیبات شیمیایی این گیاه تا چند سال اخیر شناسایی نشده بود اما مردم ساکن مناطق رویش این گیاه دارویی سالهاست از این گیاه به صورت خوراکی استفاده می‌کنند. دارای ترکیبات دارویی مفید و موثری همچون آلیسینف آلئین، اینولین، آنزیم آلیناز و ویتامین‌های A، B و C می‌باشد (محمدی و همکاران، ۱۳۹۸). گیاه دارویی بن سرخ نیز با نام علمی *Allium jesdianum* گیاهی از جنس *Allium* و تیره *Liliaceae* یا سوسنیان می‌باشد که به صورت علفی رویش داشته و برگ‌هایی شبیه تره دارد. گل آذین آن چتری بوده و در ارتفاعات سردسیری (و برخی کوه‌های گرمسیری) مناطق غرب ایران و بصورت هم‌بوم با گیاه خرگوب رویش دارد (رامک و همکاران، ۱۳۹۹).

مطالعاتی در زمینه‌های مختلف دو گیاه دارویی بن سرخ و خرگوب در رویشگاه مختلف صورت گرفته است که می‌توان به مطالعه پایدار و همکاران (۱۳۹۴)، کریمی و همکاران (۱۳۹۷)، محمدی و همکاران (۱۳۹۸)، رامک و همکاران (۱۳۹۹) و Alibegova و همکاران در سال ۲۰۲۲ اشاره نمود اما تاکنون، مطالعه‌ای به منظور بررسی تاثیر مراحل مختلف تکوینی بر میزان برخی متابولیت‌های ثانویه دو گیاه هم‌بوم *Nectaroscordum tripedale* و *Allium jesdianum* در غرب ایران انجام نشده است. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی میزان برخی از متابولیت‌های ثانویه دو گیاه هم‌بوم، بن سرخ و خرگوب، در مراحل مختلف تکوین می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

استان ایلام یکی از استان‌های واقع در غرب ایران و در محدوده رشته کوه زاگرس واقع شده است. با دارا بودن وسعتی حدود ۲۰۱۵۰ کیلومتر مربع، شامل حدود ۱/۴ درصد از مساحت کل کشور است. استان ایلام دارای چشم‌اندازهای طبیعی و زیبا، و گونه‌های گیاهی و جانوری متنوعی است. به دلیل داشتن تنوع اقلیمی و آب و هوایی و به خاطر زیبایی‌های طبیعی که دارد به عروس زاگرس معروف است (شکل ۱). این استان دارای اکوسیستم‌های متفاوتی است که شرایط را برای رویش گونه‌های مختلف گیاهان دارویی مهیا نموده است.



شکل ۱. نقشه استان ایلام که محدوده زیستگاه‌های طبیعی جمع‌آوری نمونه‌ها در ارتفاعات کبیرکوه در شهرستان دره شهر مشخص گردیده است.

به منظور تهیه عصاره از بخش‌های مد نظر دو گیاه مورد مطالعه در زمان‌های متفاوت (بسته به مرحله رویشی یا زایشی گیاه)، ابتدا خاک و مواد اضافی اطراف گیاهان را با شستن حذف نمودیم. سپس نمونه‌ها در سایه و با گذشت حدود دو هفته خشک شدند. نمونه‌های خشک شده (هر بخش گیاه و هر مرحله رشدی گیاه) به صورت مجزا در هاون بصورت دستی خرد شده و سپس با استفاده از آسیاب برقی به خوبی پودر شدند و در شرایط بهینه و مناسب نگهداری گردیدند. میزان فنول کل توسط روش فولین-سیوکالتیو و با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر به دست آمد. از منحنی استاندارد بر حسب



میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره بررسی مقادیر فنل کل صورت گرفت (Mc Donald *et al.*, 2001). از روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید و اسپکتروفتومتر (در طول موج ۵۱۷ نانومتر) جهت سنجش مقدار فلاونوئید کل استفاده گردید. از کوئرتستین جهت رسم منحنی استاندارد استفاده گردید (طبق مقاله Chang و همکاران در سال ۲۰۰۲). براساس میلی گرم معادل کوئرتستین بر گرم وزن خشک گیاه (mg QE/ gr DW) میزان فلاونوئید کل عصاره ها محاسبه گردید. داده ها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ مورد آنالیز قرار گرفتند. با به کارگیری آزمون چند دامنه ای دانکن مقایسه میانگین داده ها در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت.

۳. نتایج

نتایج مربوط به مقادیر فنل کل (میلی گرم اسید گالیک در وزن خشک عصاره) و فلاونوئید کل (میلی گرم کوئرتستین بر گرم وزن خشک) عصاره های به دست آمده از بخش های برگ و ساقه، و گل در دو گیاه هم بوم خرگريو و بن سرخ در ارتفاعات رویشگاه کبیرکوه در استان ایلام بر اساس معادله مورد سنجش قرار گرفت که در جدول ۱ ذکر شده است. بالاترین محتوای فنول کل در این پژوهش مربوط به بخش برگ و ساقه (با هم) گیاه بن سرخ و خرگريو، به ترتیب به میزان $16/51 \pm 3/01$ و $18/43 \pm 2/81$ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک؛ و پایین ترین مقدار فنول کل با مقادیر $12/39 \pm 2/12$ و $4/21 \pm 12/39$ به ترتیب متعلق به عصاره های استخراج شده از فاز زایشی (گل) در گیاه خرگريو و بن سرخ است. برای هر یک از آزمون های ذکر شده سه تکرار انجام شد. از نتایج مشخص گردید که بین میانگین های فنول کل بدست آمده از عصاره های این دو گیاه در رویشگاه کبیرکوه و نیز بین بخش های رویشی و زایشی آنها اختلاف معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$). بالاترین مقدار فلاونوئید کل به ترتیب مربوط به بخش ساقه و برگ (با هم) گیاه غذایی-دارویی بن سرخ و خرگريو با میزان $3/87 \pm 1/02$ و $4/93 \pm 0/92$ میلی گرم کوئرتستین بر گرم وزن خشک؛ و پایین ترین میزان فلاونوئید کل به دست آمده با مقدار $2/94 \pm 1/01$ و $2/09 \pm 0/12$ میلی گرم بر گرم وزن خشک نیز مربوط به بخش گل (ساختارهای زایشی) گیاه خرگريو و بن سرخ در رویشگاه کبیرکوه می باشد.

جدول ۱. مقدار فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه گل راعی

نام گیاه	بخش گیاهی	فنول کل (mg) (GAE/g DW)	فلاونوئید کل (DW) (mg QE/ gr)
خرگريو	برگ و ساقه	$16/51 \pm 3/01$	$3/87 \pm 1/02$
خرگريو	گل	$12/39 \pm 2/12$	$2/09 \pm 0/12$
بن سرخ	برگ و ساقه	$18/43 \pm 2/81$	$4/93 \pm 0/92$
بن سرخ	گل	$13/24 \pm 4/21$	$2/94 \pm 1/01$

۴. بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش به بررسی مقایسه ای مقادیر فنول و فلاونوئید کل برگ و ساقه (بخش رویشی)، و گل (بخش زایشی) دو گیاه دارویی هم بوم بن سرخ و خرگريو ارتفاعات کبیرکوه در استان ایلام پرداخته شد. نتایج این پژوهش نشان داد که بخش



رویشی (شامل ساقه و برگ به صورت مخلوط) در هر دو گیاه دارای بالاترین مقادیر مربوط به فنول و فلاونوئید کل، و بخش زایشی (گل) گیاه خرگوبو دارای کمترین مقادیر بود. مشخص گردیده که داده‌های به‌دست‌آمده در مطالعه مقادیر فنل و فلاونوئید کل در گیاهان برای توضیح مکانیسم‌های تغییرپذیری در محتوای متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر مجموعه‌ای از عوامل محیطی و سازگاری گیاهان با شرایط محیطی مورد استفاده قرار خواهند گرفت. با بررسی تغییرات متابولیت‌های ثانویه در این دو گیاه مشخص شد که با پیشرفت مراحل نمو میزان فنول کل در بخش زایشی کاهش یافته است. نتایج مطالعه انجام گرفته نشان‌دهنده تفاوت‌هایی در مقدار فنل و فلاونوئید کل دو بخش (رویشی و زایشی) در گیاهان مورد اشاره است. تفاوت در میزان فنول کل و حتی نوع ترکیبات سازنده عصاره در طول تکوین گیاه و اقلیم‌های متفاوت با میزان بیان و یا عدم بیان مجموعه‌های ژنی مرتبط با سنتز اسانس‌ها تغییر می‌کند که تحت تأثیر برهمکنش با عوامل محیطی در هر مرحله تکوینی متغیر گیاه می‌باشند (Toncer et al., 2010).

در مطالعات متعددی نشان داده شده است که مقادیر متابولیت‌های ثانویه به مرحله نمو گیاهان بستگی دارد. Jakovljevic و همکاران (Jakovljević et al., 2013) گزارش دادند که مقدار فنول کل در گیاه *Chelidonium majus* L. به مرحله فنولوژیکی گیاه بستگی دارد. Naghiloo و همکاران طی مطالعاتی بر روی *Astragalus compactus* بیان کردند که مقادیر ترکیبات فنولیک در عصاره این گیاه، به مرحله نمو گیاه بستگی داشته و بالاترین مقادیر در مرحله میوه‌دهی دیده می‌شود. همچنین مقادیر ترکیبات فنولی به شدت وابسته به شرایط محیطی همچون دما و تابش خورشید می‌باشد (Naghiloo et al., 2012). هیرت و شینزوکی در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که انباشته شدن ترکیبات فنلی در گیاهان یک نوع پاسخ دفاعی در آنها در مقابل تنش‌های مختلف بیولوژیک و غیر بیولوژیک می‌باشد (Hirt and Shinozaki, 2004). در مطالعه دیگری که توسط مرتضایی و همکارانش در سال ۱۳۹۲ انجام گرفت بالاترین مقادیر ترکیبات فنلی در هر گرم از عصاره خشک شده با ۴۸۰/۶۷ میلی گرم مربوط به گیاه گل انار بود و بعد از آن آویشن با مقدار ۲۸۳/۴۳ میلی گرم قرار داشت. کمترین مقادیر مربوط به گیاه چای کوهی با میزان ۴۴/۵۳ میلی گرم بود (مرتضایی و همکاران، ۱۳۹۲). در پژوهش Mirzaee و همکارانش در سال ۲۰۱۰ که بر روی مطالعه فعالیت‌های ضد اکسیدانی و نیز میزان ترکیبات فنلی عصاره‌های هیدروالکلی به دست آمده از چند گیاه دارویی، منجمله آویشن دنايي، انجام شد نشان داد که بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل مربوط به گیاه مرزنجوش می‌باشد.

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که مقدار فنل و فلاونوئید کل در بخش رویشی (برگ و ساقه) هر دو گیاه خرگوبو و بن‌سرخ بالاتر از مرحله زایشی بود. اطلاعات به دست آمده از مطالعه حاضر حاکی از تفاوت میزان مواد موثره گیاه در شرایط متفاوت تکوینی است و می‌توان برگ و ساقه این دو گیاه را بهترین بخش برای جمع‌آوری نمونه‌های این دو گیاه پیشنهاد داد.

منابع

- رامک، پ.، کریمیان، و.، سیاه منصور، ر. (۱۳۹۹). مقایسه عناصر غذایی و ترکیبات شیمیایی گیاه دارویی-خوراکی بن سرخ در رویشگاه و مزرعه. علوم باغبانی ایران، دوره ۵۱، شماره ۱، ۳۱-۱۹.
- پایدار صدیقه، جلودار غلامعلی، محمدی جمشید. (۱۳۹۴). اثر عصاره هیدروالکلی گیاه خرگوب بر میزان گلوکز و لیپیدهای خون در موش های صحرایی دیابتی. ارمغان دانش، دوره ۲۰، شماره ۵، ۴۱۵-۴۰۴.
- غلامی ع. ا. (۱۳۹۶). تولید متابولیت های ثانویه از طریق مهندسی ژنتیک و کشت بافت. فصل نامه علمی ایمنی زیستی، ۱۰ (۳): ۳۶-۱۷.
- کریمی، ن.، بهبهانی، م.، دینی، ق.، رزمجو، ا. (۱۳۹۷). سنتز سبز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره گیاه خوراکی-دارویی بن سرخ (*Allium jesdianum*). مجله علوم پزشکی رازی، دوره ۲۵، شماره ۹، ۷-۱.
- مرتضایی، س.، رفیعیان، م.، انصاری سامانی، ر. و شاهین فرد، ن. (۱۳۹۲). مقایسه غلظت ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی هشت گیاه دارویی. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان. صفحات ۸۳۰-۸۱۹.
- محمدی، ج.، دادفر، ف.، روشنفکر، ح.، دلاویز، ح. (۱۳۹۸). تاثیر عصاره هیدروالکلی خرگوب بر غلظت سرمی گنادوتروپین و هورمون های جنسی در موش های صحرایی نر دیابتی. ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دوره ۲۴، شماره ۴، ۱۴-۱.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. & Chern, J. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. Food and Drug Analysis, 10; 178-182.
- Jakovljević, Z.D., S.M. Stanković and D.M. Topuzović. 2013. Seasonal variability of *Chelidonium majus*. Secondary metabolites content and antioxidant activity. Experimental and Clinical Sciences Journal, 12: 260 - 68.
- Hirt, H. and Shinozaki, K. (2004). Plant responses to abiotic stress. Springer.
- Mazid, M., Khan, T. and Mohammad, F. (2011) Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. Advances in Experimental Medicine and Biology. 3 (2): 232-249.
- McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry, 73(1), 73-84. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00288-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00288-0)
- Mirzaei A, Akbartabar M, Sadeghi H, Sharifi B. The antioxidant activities and total phenolic of *Artemisia martima*, *achillea millefolium* and *matricaria recutica*. Armaghane danesh 2010; 15: 243-52.
- Naghiloo, S., A. Movafeghi, A. Delazar, H. Nazemiyeh, S. Asnaashari and M.R. Dadpour. 2012. Ontogenetic variation of volatiles and antioxidant activity in leaves of *Astragalus compactus* lam. (Fabaceae). Experimental and Clinical Sciences Journal, 11: 436-443. (In Persian).
- Peniche-Pavia, H. A., Guzman, T. J., Magana-Cerino, J. M., Currola-Diaz, C. M., Tiessen, A. (2022). Maize flavonoid biosynthesis, regulation and human health relevance: A review. Molecules, 27, 5166: 1-29.
- Sadowska-Bartos, I., Bartosz, G. (2022). Evaluation of the antioxidant capacity of food products: Methods, applications and limitations. Processes, 10: 2031. <https://doi.org/10.3390/pr10102031>.
- Toncer, O., S. Karaman and E. Diraz. 2010. An annual variation in essential oil composition of *Origanum syriacum* from Southeast Anatolia of Turkey. Journal of Medicinal Plant Research, 11:1059-1064.
- Van Etten H, Temporini E, Wasmann C, 2001. Phytoalexin (and phytoanticipin) tolerance as a virulence trait: why is it not required by all pathogens? Physiological and Molecular Plant Pathology, 59: 83-93.

مطالعه‌ی خواص ضدباکتریایی گیاه دارویی *Jubertia aucheri*

هانیه فرهمند^{۱*}، فاطمه دانشمند^۱، امیرعباس مینائی^۱ و فاطمه نژادعلیمردای^۱

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران (haniefarahmand64@gmail.com)

چکیده

از زمان شناخته شدن موجوداتی تحت عنوان باکتری‌ها بشر همواره در چالش برای یافتن دارویی موثر بر عفونت‌های ناشی از آن بوده است. گیاه دارویی *Jubertia aucheri* از خانواده Rubiaceae، گیاهی است با نام محلی کارتوس، که به صورت وحشی در جنوب ایران می‌روید و فراورده‌های آن مانند جوشانده و دم کرده استفاده دارویی دارد. در این پژوهش، هدف بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره متانولی گیاه دارویی *J. aucheri* با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار و همچنین بررسی حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) آن با استفاده از روش ماکرودیلوشن براث بر علیه دو پاتوژن /شریشیاکلی ATCC 25922 و /استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923 است. نتایج نشان داد میانگین قطر هاله عدم رشد در /شریشیاکلی برابر با $0.23 \pm$ و 11.03 میلی‌متر و در /استافیلوکوکوس اورئوس برابر با $0.17 \pm$ و 15.83 میلی‌متر است. MIC باکتری /شریشیاکلی و باکتری /استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر با غلظت ۶۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و MBC باکتری /شریشیاکلی و باکتری /استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر با غلظت ۸۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و ۶۰ میکروگرم در میلی‌لیتر مشخص شد. نتایج این مطالعه نشان داد که گیاه دارویی *J. aucheri* دارای خواص ضد باکتریایی می‌باشد.

واژگان کلیدی: پاتوژن‌ها، خواص ضد میکروبی، عصاره‌ی گیاهی، کارتوس



۱. مقدمه

امروزه گیاهان به عنوان منابع طبیعی با خاصیت ضد باکتریال، مورد توجه هستند. گیاه دارویی *Jubertia* سرده‌ای از گیاهان گل‌دار خانواده رویاسه (Rubiaceae) است که نام‌های علمی *Plocama aucheri* و *Gaillonia aucheri* نیز شناخته شده است. جنس رویاسه در سال ۲۰۰۷ از ادغام جنس‌های این خانواده گسترش یافت. در حال حاضر حدود ۳۴ گونه از آن وجود دارد. گیاهان این تیره علفی یا بوته‌ای هستند و یکی از معروف‌ترین گونه‌های این جنس با بیشترین پراکندگی جغرافیایی *Jubertia aucheri* است که به صورت وحشی در جنوب ایران، عراق و شمال عمان می‌روید. این گیاه درختچه کوچک سخت و شاخه‌های خاردار به ارتفاع ۱ متر، برگ‌های بسیار کوچک به طول ۱/۵ سانتی‌متر و سبز تیره است. نام محلی آن "کارتوس" است و جنوب ایران یکی از محل‌های رویش آن است. افراد بومی از فراورده‌های مختلف گیاه مانند جوشانده، دم کرده و پودر به عنوان گیاه دارویی استفاده می‌کنند. در طب سنتی از گیاه به عنوان یک عامل ضد باکتری، ضد قارچ و ضد درد استفاده می‌شود (Hakemi vala et al. 2017 ; Asgarpanah and Ghavami, 2016 ; Zekavati et al. 2018).

باکتری‌های بیماری‌زا عامل اصلی عفونت‌های مزمن و مرگ و میر هستند. بر اساس مطالعات متعدد استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به پیدایش سویه‌های باکتریایی مقاوم به چند دارو شده است و به دلیل سوء مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، سوپر باکتری‌ها یعنی باکتری‌هایی که تقریباً در برابر همه آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند ایجاد شده‌اند. (قادری و همکاران، ۱۳۹۹). اعضای خانواده انتروباکتریاسه مانند *شریشیا کلی* از دسته باکتری‌های گرم منفی، متحرک، هوازی _ بی هوازی اختیاری و بدون اسپور هستند که در دستگاه گوارش انسان، حیوانات، گیاهان، حشرات، آب، خاک و مواد در حال فساد یافت می‌شوند. از آنجایی که زیستگاه طبیعی این خانواده روده انسان و حیوانات است به آنها باسیل‌های روده‌ای یا انتریک گفته می‌شود (مسعودی و همکاران، ۱۴۰۲). اولین بار باکتری *شریشیا کلی* توسط یک پزشک آلمانی به نام *تئودور Escherich* در هنگامی که بر روی فلور نرمال روده کودکان مطالعه می‌کرد، شناسایی شد. این محقق در سال ۱۸۸۵، میکروارگانسیم مشاهده شده را *باکتریوم کلی* نام نهاد و آن را به عنوان عامل بیماری‌زای اصلی عفونت‌های روده‌ای و برخی عفونت‌های خارج روده‌ای اعلام کرد (Mahon et al. 2010). از دسته باکتری‌های بیماری‌زای دیگر می‌توان *استافیلوکوکوس اورئوس* اشاره کرد. این باکتری عضوی از خانواده *استافیلوکوکاسیه* است و باکتری گرم مثبت، بدون حرکت، هوازی-بی‌هوازی اختیاری است که بیش از یک قرن از شناخت آن می‌گذرد. *استافیلوکوکوس اورئوس* عامل بیماری‌های عفونی گسترده‌ای مانند عفونت‌های پوست، باکتری، اندوکاردیت، پنمونی و عفونت غذایی است. این ارگانسیم در اصل یک بیماری‌زای بیمارستانی بوده که بعد از مدتی به صورت کلونی‌های اپیدمیولوژیکی متمایز در محیط‌های جامعه ظاهر شده است (سعادت و همکاران، ۱۳۹۲). در اوایل دهه ۱۹۴۰، پنی‌سیلین انقلاب بزرگی در درمان عفونت‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* ایجاد کرد، اما به زودی بیشتر ایزوله‌ها به واسطه تولید پنی‌سیلیناز به پنی‌سیلین مقاوم شدند (Tracey et al. 2020).

از روزگار گذشته، بشر از گیاهان برای درمان بیماری‌های عفونی رایج استفاده کرده است و برخی از این داروهای سنتی هنوز به عنوان بخشی از درمان همیشگی بیماری‌های مختلف است، اما حضور باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها موجب شده است تا مطالعه بر روی گیاهان دارویی مختلف جهت بررسی خواص ضد میکروبی آنها مورد اهمیت باشد. در ارتباط با اثر



ضدمیکروبی عصاره گیاهان مطالعات متعددی انجام شده است اما در خصوص گیاه *J. aucheri* تحقیقات متعدد و کاملی صورت نگرفته است. با توجه به مطالعات محدود روی گیاه دارویی *J. aucheri* و اهمیت مطالعات و بررسی خواص ضدمیکروبی گیاهان دارویی و ترکیبات گیاهی، هدف از این مطالعه بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ی این گیاه روی یک باکتری گرم منفی (*اشریشیا کلی*) و یک باکتری گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) می باشد.

۲. مواد و روش‌ها

سرشاخه‌های گل دار گیاه دارویی *J. aucheri* در اواخر اسفند ۱۴۰۲ از مناطق پراکنش آن واقع در حومه شهرستان کهنوج استان کرمان جمع آوری و شناسایی و تایید جنس و گونه‌ی گیاه توسط آقای دکتر سید منصور میرتاج‌الدینی عضو هیات علمی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. عصاره متانولی گیاه به روش سوکسله تهیه و اثر ضد میکروبی آن بر روی دو باکتری بیماری‌زا با نام‌های *اشریشیا کلی* (گرم منفی) ATCC 25922 و *استافیلوکوکوس اورئوس* (گرم مثبت) ATCC 25923 با روش دیسک دیفیوژن آگار سنجیده شد. سپس، حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد و حداقل غلظت بازدارندگی از رشد باکتری‌ها توسط عصاره متانولی گیاه با استفاده از روش ماکرودیلوشن براث بررسی شد (Naghsh et al. 2015).

۳. نتایج

قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط عصاره متانولی گیاه دارویی *J. aucheri* در مقابل دو باکتری *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* ارزیابی شد. میانگین و خطای استاندارد Se آن آن با استفاده از برنامه SPSS مشخص شد (جدول ۱).

جدول ۱: هاله عدم رشد ایجاد شده توسط گیاه دارویی *J. aucheri* (2 mg/Disk) در مقابل نمونه‌های باکتریایی (قطر هاله بر اساس میلی‌متر است)

خطای استاندارد (Se)	میانگین	
۰/۲۳	۱۱/۰۳	<i>اشریشیا کلی</i> (O157 H7)
۰/۱۷	۱۵/۸۳	<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>

حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) باکتری *اشریشیا کلی* و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب برابر با غلظت ۶۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) باکتری *اشریشیا کلی* و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب برابر با غلظت ۸۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و ۶۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود (جدول ۲).

جدول ۲: نتایج MIC و MBC نمونه‌های باکتریایی توسط عصاره متانولی گیاه *J. aucheri*
(غلظت عصاره میکروگرم در میلی لیتر است)

نام باکتری	غلظت عصاره	۵	۱۰	۲۰	۴۰	۶۰	۸۰	۱۰۰	۱۲۰	۱۴۰	۱۶۰	۱۸۰	۲۰۰	۲۲۰
اشریشیا کلی (O157 H7)	MIC	++	++	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	MBC						-							
استافیلوکوکوس اورئوس	MIC	++	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MBC					-								

+: کدورت ++: کدورت زیاد -: عدم کدورت

۴. بحث و نتیجه گیری

گیاهان می‌توانند حاوی ترکیبات شیمیایی باشند که دارای ویژگی‌های متنوع به دلیل ساختارهای پیچیده‌شان هستند و بنابراین می‌توانند مکانیسم‌های اثر متفاوتی را در مقایسه با عوامل دیگر ایجاد کنند. آنتی‌بیوتیک‌ها و عوامل ضد میکروبی موادی هستند که رشد باکتری‌ها را مهار می‌کنند و بسیاری از عملکردهای حیاتی سلول را مختل می‌کنند و در نتیجه باعث مرگ سریع سلول‌های باکتری می‌شوند (Zhou et al. 2022). اگرچه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای انسان نتایج خوبی به نظر می‌رسد، اما علاوه بر فواید، مشکلاتی را نیز ایجاد کرده است. با افزایش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، تعداد و نوع مقاومت میکروبی به آنتی‌بیوتیک‌ها افزایش یافته و در نتیجه نیاز به عوامل ضد میکروبی جدید با منابع جدید غیر قابل انکار است. در پژوهش حاضر بررسی عصاره متانولی گیاه دارویی *J. aucheri*، در برابر دو باکتری پاتوژن اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس اثر ضد باکتریایی داشت و میانگین قطر هاله عدم رشد در اشریشیا کلی برابر با $0/23 \pm 11/03$ میلی‌متر و در استافیلوکوکوس اورئوس برابر با $0/17 \pm 15/83$ میلی‌متر بود. حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر با غلظت ۶۰ و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی (MBC) به ترتیب برابر با غلظت ۸۰ و ۶۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. در مطالعات دیگر خواص ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی بررسی شده است، مانند پژوهش قانطان و همکاران (۱۴۰۱) خواص ضد میکروبی عصاره گیاه سرخارگل را بررسی و قطر هاله عدم رشد استافیلوکوکوس اورئوس $1/24 \pm 4/67$ میلی‌متر و قطر هاله عدم رشد اشریشیا کلی $0/84 \pm 3/11$ میلی‌متر بود. در سال (۲۰۱۷) Hakemi-vala و همکاران نشان



دادند گیاه *J. aucheri* اثر ضد باکتریایی بر علیه *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* با روش دیسک دیفیوژن آگار ندارد، و در روش MIC عصاره متانولی گیاه در غلظت ۰/۹۲۰ میلی گرم در میلی لیتر دارای MIC بود. در سال (۲۰۱۸) Zekavati و همکاران در بررسی فعالیت ضد میکروبی گیاه دارویی *J. aucheri* نشان دادند بهترین فعالیت علیه باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اپیدرمیس*، باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* و قارچ *آسپرژیلوس نایجر* با بررسی آزمون MIC مشاهده شد که به ترتیب MIC آنها برابر با ۸، ۱۶ و ۸ میلی گرم در میلی لیتر بود. به طور کلی فراورده های ضد باکتریایی گیاهی دارای فعالیت ضد میکروبی قوی تری در برابر باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی هستند. عصاره ها و اسانس های مختلف گیاهی حاوی نسبت نسبتاً بالایی از مونوترپن های اکسیژن دار هستند که فعالیت ضد میکروبی بهتری در برابر باکتری های گرم مثبت نشان می دهند (Zekavati et al. 2018). با توجه به آنچه از نتایج به دست آمد مشخص شد تاثیر عصاره گیاهی چه در بررسی قطر هاله عدم رشد و چه در بررسی حداقل غلظت بازدارنده از رشد و حداقل غلظت کشنده باکتری در مورد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر تاثیر بیشتری داشته است. در مطالعات دیگر نیز اثر ضد باکتریایی عصاره های گیاهی بر روی باکتری های گرم مثبت به ویژه *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر بوده است که علت این فرایند ناشی از وجود غشای خارجی دور دیواره سلولی در باکتری های گرم منفی است که نفوذ و انتشار ترکیبات هیدروفوبیک در پوشش لیپولی ساکاریدی باکتری را محدود می کند (جلی جوان و همکاران، ۱۴۰۲).

منابع

- جلی جوان، ۱.، پارسایی مهر، م.، محمدی، م. ۱۴۰۲. ارزیابی خواص شیمیایی و میکروبی عصاره های الکلی، هیدروالکی، متانولی و آبی گیاه *Spinacia oleracea* (سمنان). مجله تحقیقات آزمایشگاهی دامپزشکی. ۱۵(۲): ۱۵۳-۱۶۵.
- سعادت، س.، صلح جو، ک.، نوروز نژادفر، م. ج.، کاظمی، ا.، روحی، ر.، مردانه، ج. ۱۳۹۳. فراوانی *استافیلوکوکوس اورئوس* در کارکنان بیمارستان های شیراز و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آنها. دو ماهنامه طب جنوب. ۱۷(۵): ۹۱۶-۹۵۶.
- قادری، ر.، کاظمی، م.، سلیمان پور، س. ۱۳۹۹. نانو ذرات، رقیبی موفق تر از آنتی بیوتیک ها برای درمان عفونت های باکتریایی مقاله مروری. مجله میکروبیولوژی پزشکی ایران. ۱۵(۱): ۲۶-۴۶.
- قائدان، م.، زمین دار، ن.، گلی، م.، قاسمی سپرو، ن. ۱۴۰۱. بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره گیاه سرخارگل و شناسایی ترکیبات آن با کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی. بهداشت مواد غذایی. ۱۲(۱): ۷۱-۸۵.
- مسعودی، م.، اونق، ع.، انفرادی، ا. ۱۴۰۲. شناسایی مولکولی *اشریشیا کلی* در کنه های جدا شده از حیوانات اهلی استان آذربایجان غربی. بهداشت و بیماری های عفونی دام، ۱(۱): ۹-۱.

- Asgharpanah, J., Ghavami, S. (2016). Volatile constituents of *Gaillonia aucheri* from south of Iran. Chemistry of natural compounds, 25(4), 743-745.
- Hakemi-vala, M., Mehrara, M., Pourramezan, M. (2017). Comparison the Antimicrobial Effects of the Flowering Aerial Part of *Glaucium vitellinum* Boiss. and Buhse and *Gaillonia aucheri* Jaub. and Spach. *Novelty in biomedicine*, 5(1), 24-29.
- Mahon, CR LD., Manuselis, Jr G. (2010). Textbook of diagnostic Microbiology. 4 ed: W.B. Sanders Company.

- Naghsh A, Mohammadi Sichani M, Amjad L. (2015). Antibacterial activity of the essential oil of *artemisiadeserti* flowers against some pathogenic bacteria. Qom Univeresity Medicine Science, 8(S1):57-64.
- Tracey, A., Taylor, Ch., Unakal, G. (2020). *Staphylococcus aureus*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Zekavati, R., Farjam, M., Doulah, A. (2017). Chemical Compositions of Essential Oil of *Gailonia aucheri* from Iran and it's Antimicrobial and Antioxidant Activities and Total Phenol Content. *Iranian Journal of Science and Technology*, 42, 1125-1130
- Zhou, Y., Chen, X., Chen, T. (2022). A review of the antibacterial activity and mechanisms of plant polysaccharides. *Trends in food science and technology*, 123: 264-280.



بررسی شاخص های بیوشیمیایی جمعیت های آویشن زوفایی در استان ایلام

علی اصغر حاتم نیا^{۱*}، محمد آقایی^۲

^۱ گروه زیست، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران a.hatamnia@ilam.ac.ir

^۲ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

چکیده

آویشن زوفایی (*Thymbra spicata* L.) گیاهی از خانواده نعناع (Lamiaceae) است که در مناطق وسیعی از ایران پراکنش دارد و دارای خواص دارویی ارزشمندی است. در این مطالعه جمعیت های مختلف آویشن زوفایی از سه منطقه مختلف در سطح استان ایلام جمع آوری گردید و اثر محل رویشگاه و عوامل محیطی بر روی محتوای پرولین، قند محلول کل و پروتئین کل مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) در پارامترهای بیوشیمیایی بین جمعیت های آویشن زوفایی جمع آوری شده از مناطق مختلف استان ایلام وجود دارد. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین میزان پروتئین کل به ترتیب در نمونه های جمع آوری شده در کوه مانشت (۵/۳۸ میلی گرم / گرم وزن خشک) و کوه کاوران (۳/۱۲ میلی گرم / گرم وزن خشک) می باشد. تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بین نمونه های جمع آوری شده از مناطق مختلف مشاهده گردید. نتایج نشان داد که همبستگی مثبت معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بین شاخص های بیوشیمیایی (محتوای قند محلول، پروتئین کل و پرولین) وجود دارد. به طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با کاهش میزان بارندگی و افزایش میانگین دمای منطقه محتوای قند محلول، پروتئین کل و پرولین نمونه های آویشن زوفایی کاهش یافت، و یک ارتباط معنی داری بین ارتفاع، بارندگی، میانگین دمایی با محتوای اسمولیت های سازگار مشاهده گردید.

واژگان کلیدی: آویشن زوفایی، پرولین، پروتئین کل، قند محلول.



۱. مقدمه

تیره نعناع (Lamiaceae) شامل تعدادی از گونه‌های گیاهی معطر می‌باشد که از لحاظ اقتصادی دارای اهمیت بوده و دارای ترکیبات معطر و اسانس می‌باشند، از جمله این گیاهان معطر می‌توان به آویشن زوفایی (*Thymbra spicata* L.) اشاره کرد. این گیاه سرشار اسانس بوده و دارای کاربردهای صنعتی بسیاری می‌باشد (Markovic et al., 2011; Kirkan et al., 2019).

عوامل مختلفی مثل شرایط اقلیمی، آب و هوای رویشگاه و ارتفاع منطقه بر کمیت و کیفیت گیاه آویشن زوفایی اثر دارد. افزایش غلظت پرولین در شرایط تنش، ممکن است به علت فعال‌سازی آنزیم‌های بیوسنتزی پرولین، کاهش تخریب آن در اثر اکسیداسیون و تبدیل آن به گلوتامات و کاهش استفاده از پرولین در سنتز پروتئین‌ها و یا تبدیل پروتئین به پرولین باشد (Ashraf and Harris, 2005). قندها در تولید انرژی، ثبات و پایداری غشاء سلولی و در سنتز ترکیبات دیگر گیاهی به‌طور مستقیم دخالت دارند. تحت تنش‌های محیطی روند تبدیل کربوهیدرات‌های محلول به پلی‌ساکاریدهای ساختاری مانند سلولز و همی-سلولز کاهش یافته و در نتیجه قندهای محلول در گیاه تجمع پیدا می‌کنند. تجمع قندهای محلول می‌تواند به حفظ تورژسانس در بافت‌های تنش دیده به واسطه تنظیم اسمزی کمک کند (Lascano et al., 2005). گیاه در پاسخ به تنش‌های محیطی، مقدار پروتئین‌ها را کاهش می‌دهد (Parida and Das, 2005).

هدف این مطالعه مقایسه برخی شاخص‌های بیوشیمیایی مثل محتوای پرولین کل، قند محلول کل و پروتئین کل جمعیت‌های آویشن زوفایی جمع‌آوری شده از سه منطقه با شرایط اقلیمی متفاوت از استان ایلام و همچنین بررسی اثر عوامل اقلیمی و محیطی بر این ترکیبات می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. منطقه مورد مطالعه

نمونه‌های مربوط به آویشن زوفایی از سه رویشگاه مختلف با شرایط اکولوژیکی متفاوت در سطح استان ایلام در شهریور ماه سال ۱۳۹۹ جمع‌آوری شدند. جزئیات مربوط به جمعیت‌های مختلف آویشن زوفایی در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: مشخصات جغرافیایی منطقه رویش نمونه‌های آویشن زوفایی

نمونه‌های آویشن زوفایی	محل جمع‌آوری	ارتفاع	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	میانگین دما (°C)	بارندگی (mm)	رطوبت نسبی
T1	کوه مانشت	۲۴۹۸	۳۳° ۶۸' ۹۶"	۴۶° ۴۵' ۵۶"	۱۷/۸	۴۱۰/۶	۴۱
T2	کوه کله جمن	۱۷۰۳	۳۳° ۵۰' ۲۷"	۴۶° ۳۴' ۴۰"	۱۹/۲	۳۴۸/۶	۴۲
T3	کوه کاوران	۹۷۰	۳۳° ۴۱' ۱۴"	۴۵° ۵۶' ۲۸"	۲۵/۶	۲۱۵	۳۶



۲-۲. روش تحقیق

۲-۲-۱. سنجش میزان قندهای محلول کل

میزان قندهای محلول به روش فنل سولفوریک Dubois و همکاران (۱۹۵۶) سنجش شد. ۵۰۰ میکروگرم از نمونه گیاهی توزین شد و در ۵ میلی لیتر آب مقطر، به وسیله ی هاون خوب له شد. بعد از صاف شدن از عصاره حاصل ۲ میلی لیتر به لوله ی آزمایش دیگر منتقل شده و سپس به آن فنل ۵ درصد (w/v) (۱ میلی لیتر) و اسید سولفوریک ۹۸ درصد (w/v) (۳ میلی لیتر) اضافه شد. لوله ها به مدت ۱ ساعت انکوبه شده تا رنگ آن ها ظاهر و تثبیت شود. از آب مقطر (۲ میلی لیتر) به عنوان کنترل استفاده شد و مراحل فوق بر روی آن هم انجام شد. پس از ظهور رنگ، میزان جذب در ۴۸۵ نانومتر اندازه گیری شد.

۲-۲-۲. سنجش میزان پروتئین محلول کل

سنجش پروتئین های محلول طبق روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) اندازه گیری شد. اساس این آزمایش بر پایه شکسته شدن پروتئین ها و رها شدن اسیدهای آمینه ی تریپتوفان و تیروزین موجود در ساختمان پروتئین ها می باشد، که با مصرف فولن (فسفومولیدات و فسفوتنگستات) کمپلکس رنگی ایجاد شده و شدت رنگ حاصله به وسیله ی اسپکتروفتومتری سنجش می شود.

۲-۲-۳. سنجش اندازه گیری میزان پرولین

پرولین با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه گیری شد. در این روش ۵۰ میلی گرم ماده ی خشک برگ در ۱۰ میلی لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد به مدت ۷۲ ساعت هموژنیزه و بعد سانتریفوژ شد. ۲ میلی لیتر از محلول رویی در یک لوله آزمایش با ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین (۲۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۶ نرمال + ۳۰ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال + ۱/۲۵ گرم نین هیدرین) مخلوط و به مدت ۱ ساعت در بن ماری جوش قرار داده شد. بعد از ۱ ساعت نمونه ها در آب یخ قرار داده شدند و ۴ میلی لیتر تولوئن به آن ها اضافه گردید. بعد از هم زدن نمونه ها با ورتکس، میزان جذب در ۵۲۰ نانومتر اندازه گیری شد.

۳. نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نمونه های آویشن زوفایی مورد مطالعه تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر پارامترهای بیوشیمیایی (محتوای قند کل، محتوای پروتئین کل و محتوای پرولین) دارند (جدول ۲).

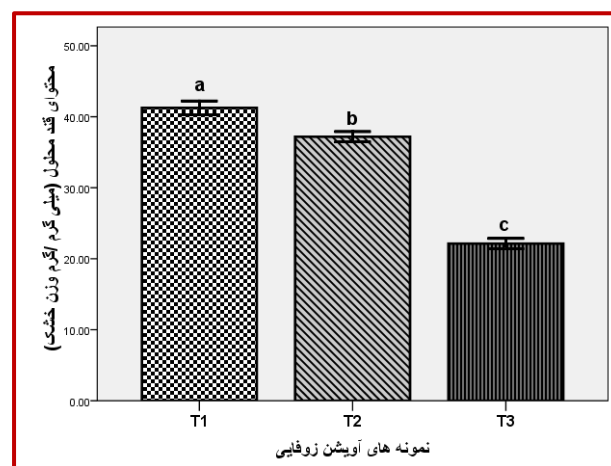


جدول ۲: تجزیه واریانس محتوای قند کل (میلی گرم / گرم وزن خشک)، محتوای پروتئین کل (میلی گرم / گرم وزن خشک)، و محتوای پرولین (میلی گرم / گرم وزن خشک) در نمونه‌های آویشن زوفایی.

منابع تغییر	درجه آزادی	قند محلول کل	پروتئین کل	پرولین
بین گروه‌ها	۲	۳۰۴/۲۴۴**	۴/۴۴۴**	۲/۱۸۵**
اثر خطا	۶	۰/۵۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۶
درصد تغییرات		۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۱۱

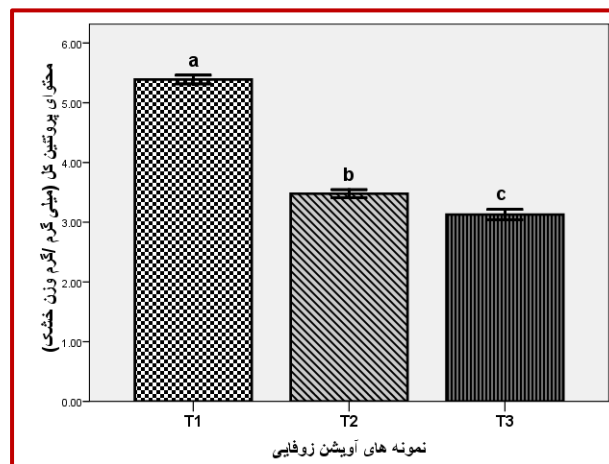
** : معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۱

شکل ۱ محتوای قند محلول را در نمونه‌های آویشن زوفایی نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان در سطح احتمال ۵ درصد وجود دارد و بیشترین میزان محتوای قند محلول مربوط به نمونه جمع‌آوری شده از کوه مانشت (T1) با میزان ۴۱/۲۵ میلی گرم / گرم وزن خشک می‌باشد.



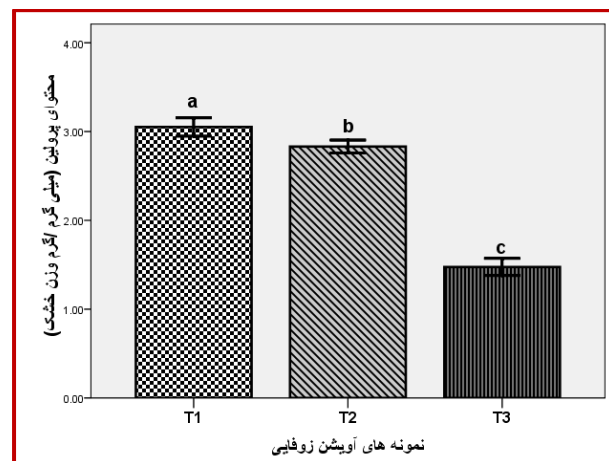
شکل ۱: محتوای قند محلول (میلی گرم / گرم وزن خشک) در نمونه‌های آویشن زوفایی. ستون‌های عمودی نشانگر میانگین و انحراف معیار هستند. ستون‌هایی که دارای حروف لاتین متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. T1 = نمونه جمع‌آوری شده از کوه مانشت، T2 = نمونه جمع‌آوری شده از کوه کله جمن سربله، T3 = نمونه جمع‌آوری شده از منطقه گرمسیری.

نتایج مربوط به محتوای پروتئین محلول در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین میزان پروتئین کل به ترتیب در نمونه‌های جمع‌آوری شده در کوه مانشت (۵/۳۸ میلی گرم / گرم وزن خشک) و کوه کاوران (۳/۱۲ میلی گرم / گرم وزن خشک) می‌باشد. تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بین نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف مشاهده گردید.



شکل ۲: محتوای پروتئین کل (میلی گرم / گرم وزن خشک) در نمونه های آویشن زوفایی. ستون های عمودی نشانگر میانگین و انحراف معیار هستند. ستون هایی که دارای حروف لاتین متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می باشند. T1= نمونه جمع آوری شده از کوه مانشت، T2= نمونه جمع آوری شده از کوه کله جمن سربله، T3= نمونه جمع آوری شده از منطقه گرمسیری.

شکل ۳ محتوای پرولین را در نمونه های آویشن زوفایی جمع آوری شده از نقاط مختلف استان ایلام را نشان می دهد. میانگین داده ها نشان داد که اختلاف معنی داری بین نمونه های آویشن زوفایی در سطح احتمال ۵ درصد وجود دارد و بیشترین میزان محتوای پرولین در منطقه کوه مانشت (۳/۰۵ میلی گرم / گرم وزن خشک) و کمترین میزان محتوای پرولین در کوه کاوران (۱/۴۷ میلی گرم / گرم وزن خشک) مشاهده گردید.



شکل ۴-۳: محتوای پرولین (میلی گرم / گرم وزن خشک) در نمونه های آویشن زوفایی. ستون های عمودی نشانگر میانگین و انحراف معیار هستند. ستون هایی که دارای حروف لاتین متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می باشند. T1= نمونه جمع آوری شده از کوه مانشت، T2= نمونه جمع آوری شده از کوه کله جمن سربله، T3= نمونه جمع آوری شده از منطقه گرمسیری.



به طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با کاهش میزان بارندگی و افزایش میانگین دمای منطقه محتوای قند، پروتئین محلول و پرولین نمونه های آویشن زوفایی کاهش یافت، و یک ارتباط معنی داری بین ارتفاع، بارندگی، میانگین دمای با محتوای اسمولیت های سازگار مشاهده گردید.

همبستگی بین شاخص های بیوشیمیایی در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که همبستگی مثبت معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بین شاخص های بیوشیمیایی (محتوی قند کل، محتوی پروتئین محلول و محتوی پرولین) وجود دارد.

جدول ۴: همبستگی بین شاخص های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی. محتوای قند کل (میلی گرم / گرم وزن خشک)، محتوای پروتئین کل (میلی گرم / گرم وزن خشک) و محتوای پرولین (میلی گرم / گرم وزن خشک) در نمونه های آویشن زوفایی.

قند کل	پروتئین کل	پرولین
۱		
۰/۷۶۰*	۱	
۰/۹۹۰**	۰/۷۰۹*	۱

*= همبستگی در سطح ۵ درصد معنی دار می باشد. **= همبستگی در سطح ۱ درصد معنی دار می باشد.

۴. بحث و نتیجه گیری

واکنش های مختلفی از قبیل افزایش اسمولیت ها، اسیدهای آمینه (از قبیل پرولین)، پروتئین و کربوهیدرات ها در گیاهان تحت تنش های محیطی صورت می گیرد (Bamniya et al., 2012). تنش های محیطی با کاهش جریان کربوهیدرات ها از برگ به محل مصرف سبب ایجاد اختلال در رشد میزبان شده و پاسخ های فیزیولوژیک پیچیده ای ایجاد می کند (Burke, 2007). تنش های محیطی سبب افزایش غلظت اسمولیت های سازگار شده و به عنوان عامل اسمزی سبب افزایش قندها در شرایط تحت تنش و در نتیجه سبب نگهداری تورژسانس سلولی شود و یا ممکن است به عنوان محافظ اسمزی باعث پایداری غشاء سلولی و پروتئین ها شود (Ingram and Bartlett, 1996). افزایش قندهای محلول در اثر تنش می تواند به علت جابجایی کمتر آن ها از برگ، مصرف کمتر آن ها در اثر کاهش رشد و تغییرات دیگری مثل هیدرولیز نشاسته نسبت داده شود، همچنین، مطالعه قندهای محلول می تواند روشی مفید برای انتخاب گونه های مقاوم در مقابل تنش باشد (Pagter et al., 2005).

منابع

- Ashraf, M., and Harris, P.J.C. (2005). Abiotic Stresses: Plant Resistance through Breeding and Molecular Approaches. Haworth Press. New York.
- Bamniya, B.R., Kapoor, C.S. and Kapoor, K. (2012). Harmful effects of air pollution on physiological activities of *Pongamia pinnata* L. Pierre. Clean Technologies Environmental Policy, 14(1): 115-124.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. A., and Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil, 39: 205-207.
- Burke, J.J. (2007). Evaluation of source leaf responses to water-deficit stresses in cotton using a novel stress bioassay. Plant Physiology, 143(1): 108-121.

- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3): 350-356.
- Ingram, J. and Bartlet, D. (1996). The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual review of plant biology*, 47(1): 377-403.
- Kirkan, B., Sarikurkcü, C., and Amarowicz, R. (2019). Composition, and antioxidant and enzyme-inhibition activities, of essential oils from *Satureja thymbra* and *Thymbra spicata* var. *spicata*. *Flavour and fragrance journal*, 34(6), 436-442.
- Lascano, H. R., Antonicelli, G. E., Luna, C. M., Melchiorre, M. N., Gomez, L. D., Racca, R.W., Trippi, V. S., and Casano, L.M. (2005). Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: field and in vitro studies. *Austrian Journal Plant Physiology*, 28: 1095-1102.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193: 265-275.
- Markovic, T., Chatzopoulou, P., Šiljegović, J., Nikolić, M., Glamočlija, J., Ćirić, A., and Soković, M. (2011). Chemical analysis and antimicrobial activities of the essential oils of *Satureja thymbra* L. and *Thymbra spicata* L. and their main components. *Archives of Biological Sciences*, 63(2), 457-464.
- Pagter, M., Bragato, C. and Brix, H. (2005). Tolerance and physiological responses of *Phragmites australis* to water deficit. *Aquatic Botany*, 81(4): 285-299.
- Parida, A. K., and Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3): 324-349.



تأثیر شرایط اقلیمی بر روی رنگیزه‌های فتوسنتزی آویشن زوفایی

علی اصغر حاتم نیا^{۱*}، محمد آقایی^۲

^{۱*} گروه زیست، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. (a.hatamnia@ilam.ac.ir)

^۲ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

چکیده

آویشن زوفایی (*Thymbra spicata* L.) با خواص دارویی ارزشمند، گیاهی از خانواده نعناع (Lamiaceae) است. در این مطالعه اکوتیپ‌های مختلف آویشن زوفایی از سه منطقه مختلف در سطح استان ایلام جمع‌آوری گردید و اثر شرایط اقلیمی بر روی محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان در سطح احتمال ۵ درصد وجود دارد و بیشترین میزان رنگیزه‌های کلروفیلی مربوط به نمونه جمع‌آوری شده از کوه مانشت (T1) با ارتفاع بالاتر، میزان بارندگی بیشتر و میانگین دمایی کم‌تر می‌باشد. به‌طوری‌که بیشترین میزان رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در نمونه‌های جمع‌آوری شده از کوه مانشت به ترتیب برابر ۰/۵۱، ۰/۳۵، ۰/۸۶ و ۰/۲۱ میلی گرم / گرم وزن تر می‌باشد. همچنین کمترین میزان رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در نمونه‌های جمع‌آوری شده از کوه کاوران به ترتیب برابر ۰/۳۳، ۰/۲۲، ۰/۵۵ و ۰/۰۷ میلی گرم / گرم وزن تر می‌باشد. به‌طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش ارتفاع، افزایش میزان بارندگی و کاهش میانگین دمای منطقه محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدی افزایش یافت، و یک ارتباط معنی‌داری بین ارتفاع، بارندگی، میانگین دمایی با محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدی مشاهده گردید.

واژگان کلیدی: آویشن زوفایی، رنگیزه‌های کلروفیلی، کاروتنوئیدها.



۱. مقدمه

آویشن زوفایی (*Thymbra spicata* L.) گیاهی از تیره نعناع (Lamiaceae) است. این خانواده شامل تعدادی از گونه‌های گیاهی معطر می‌باشد که از لحاظ اقتصادی دارای اهمیت بوده و دارای ترکیبات معطر و اسانس می‌باشند. آویشن زوفایی سرشار اسانس بوده و دارای کاربردهای صنعتی بسیاری می‌باشد (Markovic et al., 2011; Kirkan et al., 2019).

کنترل فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان، می‌تواند توسط تغییرات طول روز، دما، ارتفاع از سطح دریا، رطوبت محیط، سرعت باد و مقدار بارندگی انجام شود. میزان کلروفیل برگ تحت تنش‌های محیطی، دچار تغییر می‌شود. از مهم‌ترین علائمی که میزان تنش‌های اعمال شده به گیاه را با آن می‌سنجند، غلظت کلروفیل برگ است. محتوای کلروفیل تحت دوره تنش کاهش می‌یابد و گیاه نور کمتری را جذب می‌کند. تنش همچنین سبب کاهش کاروتنوئیدها در سلول‌های گیاهان می‌شود. با کاهش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید، محتوای فتوسنتز هم به نوبه‌ی خود کاهش پیدا می‌کند که بیشترین میزان این کاهش بر روی تولیدات گیاه و رشد آن خواهد بود. مقایسه کلروفیل با کاروتنوئید نشان داد، گیاهانی که میزان کاروتنوئید آن‌ها از کلروفیل بیشتر باشد، در مقابل تنش مقاوم تر هستند، زیرا کاروتنوئیدها دیرتر و آهسته تر از کلروفیل‌ها تجزیه می‌شوند. محتوای کلروفیل رابطه مستقیمی با سرعت فتوسنتز دارد و اصلی‌ترین جزء کلروپلاست به حساب می‌آید. از شاخص‌های مهم میزان فتوسنتز و تولید ماده خشک، تعیین میزان کلروفیل است (Ghosh et al, 2004).

فشارها و تنش‌های محیطی، میزان کلروفیل برگ و در نتیجه کل جذب نور را کاهش می‌دهند. بنابراین از کلروفیل می‌توان به عنوان یکی از پارامترهای نشانگر تنش‌های محیطی نام برد (Kaya et al, 2001). تنش‌ها می‌توانند موجب تغییر در ساختار کلروپلاست‌ها و یا مختل شدن کلروفیل‌ها شوند که راهکار گیاه در این شرایط، نگه داشتن مقدار کلروفیل است. گیاهان زراعی مختلف، محتوای کلروفیل متفاوتی دارند (Bishop and Bugee, 1998).

هدف این مطالعه بررسی تأثیر شرایط اقلیمی بر روی رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدی جمعیت‌های آویشن زوفایی جمع‌آوری شده از سه منطقه با شرایط اقلیمی متفاوت از استان ایلام می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. منطقه مورد مطالعه

نمونه‌های مربوط به آویشن زوفایی از سه رویشگاه مختلف با شرایط اکولوژیکی متفاوت در سطح استان ایلام در شهریور ماه سال ۱۳۹۹ جمع‌آوری شدند. جزئیات مربوط به جمعیت‌های مختلف آویشن زوفایی در جدول ۱ آمده است.



جدول ۱: مشخصات جغرافیایی منطقه رویش نمونه‌های آویشن زوفایی.

نمونه‌های آویشن زوفایی	محل جمع‌آوری	ارتفاع	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	میانگین دما (°C)	بارندگی (mm)	رطوبت نسبی
T1	کوه مانشت	۲۴۹۸	۳۳° ۶۸' ۹۶"	۴۶° ۴۵' ۵۶"	۱۷/۸	۴۱۰/۶	۴۱
T2	کوه کله جمن	۱۷۰۳	۳۳° ۵۰' ۲۷"	۴۶° ۳۴' ۴۰"	۱۹/۲	۳۴۸/۶	۴۲
T3	کوه کاوران	۹۷۰	۳۳° ۴۱' ۱۴"	۴۵° ۵۶' ۲۸"	۲۵/۶	۲۱۵	۳۶

۲-۲. روش تحقیق

میزان رنگیزه‌های کلروفیلی (کلروفیل a، b، کلروفیل کل) و کاروتنوئیدهای برگ گیاهان مورد مطالعه، به روش Lichtenthaler and Wellburn (۱۹۸۳) اندازه‌گیری شد. ۱۰۰ میکروگرم از نمونه گیاهی توزین شد و با ۵ سی سی استون ۸۰ درصد به وسیله‌ی هاون خوب له شد. جذب عصاره‌ها پس از صاف شدن بوسیله کاغذ صافی در ۴۷۰، ۴۴۶ و ۶۶۳ نانومتر به ترتیب برای کاروتنوئیدها، کلروفیل b و کلروفیل a اندازه‌گیری شد. میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها طبق معادلات زیر محاسبه شد:

$$A_{663} - 2.1798 A_{666} = 12.25 A_{663} = \text{کلروفیل a}$$

$$A_{663} - 5.1 A_{666} = 21.5 A_{666} = \text{کلروفیل b}$$

$$\text{کلروفیل کل} = \text{کلروفیل a} + \text{کلروفیل b}$$

$$19.8 / (\text{کلروفیل b} - 85.02 - \text{کلروفیل a} \times 1.82 - A_{670} \times 100) = \text{میزان کاروتنوئیدها}$$

۳. نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نمونه‌های آویشن زوفایی مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها) دارند (جدول ۲).

جدول ۲: تجزیه واریانس محتوای کلروفیل a (میلی گرم / گرم وزن تر)، محتوای کلروفیل b (میلی گرم / گرم وزن تر)، محتوای کلروفیل کل (میلی گرم / گرم وزن تر)، و محتوای کاروتنوئیدها (میلی گرم / گرم وزن تر) در نمونه‌های آویشن زوفایی.

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئیدها
بین گروه‌ها	۲	۰/۰۲۳**	۰/۰۱۴**	۰/۰۶۴**	۰/۰۱۶**
اثر خطا	۶	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰۰۰۰۷
درصد تغییرات		۰/۰۱۳	۰/۰۱۴۴	۰/۰۰۷	۰/۰۲۳

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱



نتایج مربوط به محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در جدول ۳ ارائه شده است. میانگین داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان در سطح احتمال ۵ درصد وجود دارد و بیشترین میزان رنگیزه‌های کلروفیلی مربوط به نمونه جمع‌آوری شده از کوه مانشت (T1) با ارتفاع بالاتر، میزان بارندگی بیشتر و میانگین دمایی کم‌تر می‌باشد. به‌طوری‌که بیشترین میزان رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در نمونه‌های جمع‌آوری شده از کوه مانشت به ترتیب برابر ۰/۵۱، ۰/۳۵، ۰/۸۶ و ۰/۲۱ میلی گرم / گرم وزن تر می‌باشد.

همچنین کمترین میزان رنگیزه‌های کلروفیلی مربوط به نمونه جمع‌آوری شده از کوه کاوران (T3) با ارتفاع کمتر، میزان بارندگی کمتر و میانگین دمایی بیشتر می‌باشد. به‌طوری‌که کمترین میزان رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در نمونه‌های جمع‌آوری شده از کوه کاوران به ترتیب برابر ۰/۳۳، ۰/۲۲، ۰/۵۵ و ۰/۰۷ میلی گرم / گرم وزن تر می‌باشد (جدول ۳).

جدول ۳: محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی آویشن زوفایی. محتوای کلروفیل a (میلی گرم / گرم وزن تر)، محتوای کلروفیل b (میلی گرم / گرم وزن تر)، محتوای کلروفیل کل (میلی گرم / گرم وزن تر)، محتوای کاروتنوئیدها (میلی گرم / گرم وزن تر). T1 = نمونه جمع‌آوری شده از کوه مانشت، T2 = نمونه جمع‌آوری شده از کوه کله جمن سرابله، T3 = نمونه جمع‌آوری شده از منطقه گرمسیری.

نمونه‌های آویشن زوفایی	محتوای کلروفیل a	محتوای کلروفیل b	محتوای کلروفیل کل	محتوای کاروتنوئیدها
T1	۰/۵۱±۰/۰۰۹ a	۰/۳۵±۰/۰۰۷ a	۰/۸۶±۰/۰۱ a	۰/۲۱±۰/۰۰۵ a
T2	۰/۴۵±۰/۰۱۱ b	۰/۲۵±۰/۰۰۵ b	۰/۷۰±۰/۰۱ b	۰/۱۰±۰/۰۰۵ b
T3	۰/۳۳±۰/۰۰۸ c	۰/۲۲±۰/۰۰۸ b	۰/۵۵±۰/۰۱ c	۰/۰۷±۰/۰۰۲ c

داده‌ها نشانگر میانگین و انحراف معیار هستند. داده‌هایی که دارای حروف لاتین متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

به‌طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش ارتفاع، افزایش میزان بارندگی و کاهش میانگین دمای منطقه محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدی افزایش یافت، و یک ارتباط معنی‌داری بین ارتفاع، بارندگی، میانگین دمایی با محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدی مشاهده گردید. نتایج نشان داد که همبستگی مثبت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بین رنگیزه‌های مختلف کلروفیلی و کاروتنوئیدی وجود دارد.



جدول ۴: همبستگی بین شاخص‌های بین رنگیزه‌های کلروفیلی مختلف. محتوای کلروفیل a (میلی گرم / گرم وزن تر)، محتوای کلروفیل b (میلی گرم / گرم وزن تر)، محتوای کلروفیل کل (میلی گرم / گرم وزن تر)، محتوای کاروتنوئیدها (میلی گرم / گرم وزن تر) در نمونه‌های آویشن زوفایی.

کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئیدها
۱			کلروفیل a
۰/۷۷۳*	۱		کلروفیل b
۰/۹۲۳**	۰/۹۳۷**	۱	کلروفیل کل
۰/۷۹۳*	۰/۹۶۶**	۰/۹۵۹**	۱

*= همبستگی در سطح ۵ درصد معنی دار می باشد. **= همبستگی در سطح ۱ درصد معنی دار می باشد.

۴. بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه اختلاف معنی داری در میزان کلروفیل a ، b ، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها مشاهده شد، که نشان دهنده تأثیر شرایط اقلیمی متفاوت محل جمع آوری جمعیت‌های مختلف آویشن زوفایی می باشد. تحقیقات نشان داده است که یکی از فاکتورهای مهم در حفظ ظرفیت فتوسنتزی در گیاهان میزان کلروفیل می باشد (Jiang and Huang, 2001). از عوامل پایین آمدن سطح تولید فتوسنتز در گیاهان تحت تنش، می توان به جلوگیری از سنتز کلروفیل، بسته شدن روزنه‌ها، تأثیر بر کاروتنوئیدها و آنزیم‌های فتوسنتزی تاکید کرد. تنش‌های محیطی باعث تخریب کلروپلاست‌ها، عدم پایداری ترکیب رنگیزه-پروتئین و کاهش میزان کلروفیل می گردد (Stępień, and Kłbus, 2006). تحت تنش‌های محیطی مقدار رنگیزه‌های کلروفیلی کاهش می یابد که این کاهش می تواند علل متفاوتی داشته باشد. از جمله این عوامل می توان به کاهش نسبی سنتز کلروفیل به دلیل کاهش جذب مواد سازنده و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز اشاره کرد (Gunes et al, 2007). افزایش غلظت تنظیم کننده‌های رشدی همچون اسید آبسزیک و اتیلن تحت شرایط تنش محیطی در گیاهان ، نیز باعث افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز می شوند. کاهش گلو تامات و ۵ آمینو لوولنیک اسید (پیش سازهای سنتز کلروفیل) تحت تنش‌های محیطی ، نیز از علل کاهش میزان فتوسنتز می باشد (Bybordi, 2012; Turan and Tripathy, 2014). تخریب کاروتنوئیدها می تواند ناشی از اکسید شدن توسط ترکیبات ROS یا تبدیل بتاکاروتن به زآزانتین در چرخه گزانتوفیل نیز از علل کاهش کاروتنوئیدها تحت تنش‌های محیطی می باشد (Bruce et al., 2002). عوامل مختلفی در کاهش میزان رنگیزه‌های کلروفیلی تحت تنش نقش دارند.

منابع

- Bishop, D. L., and Bugbee, B. G. (1998). Photosynthetic capacity and dry mass partitioning in dwarf and semi-dwarf wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of plant physiology*, 153(5-6): 558-565.
- Bruce, W. B., Edmeades, G. O., and Barker, T. C. (2002). Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. *Journal of experimental botany*, 53(366): 13-25.



- Bybordi, A. (2012). Study effect of salinity on some physiologic and morphologic properties of two grape cultivars. Life Science Journal, 9(4): 1092-1101.
- Ghosh, P. K., Ramesh, P., Bandyopadhyay, K. K., Tripathi, A. K., Hati, K. M., Misra, A. K., and Acharya, C. L. (2004). Comparative effectiveness of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizer-NPK on three cropping systems in vertisols of semi-arid tropics. I. Crop yields and system performance. Bioresource technology, 95(1): 77-83.
- Gunes, A., Inal, A., Guneri Bagci, E. and Pilbeam, D. J. (2007) Silicon-mediated changes of some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach and tomato grown in sodic-B toxic soil. Plant and Soil, 290: 103-114.
- Jiang, Y., and Huang, N. (2001). Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science, 41: 436-442.
- Kaya, C., Higgs, D., and Kirnak, H. (2001). The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach. Bulg. Journal of Plant Physiology, 27(3-4): 47-59.
- Kirkan, B., Sarikurkcu, C., and Amarowicz, R. (2019). Composition, and antioxidant and enzyme-inhibition activities, of essential oils from *Satureja thymbra* and *Thymbra spicata* var. *spicata*. Flavour and fragrance journal, 34(6), 436-442.
- Lichtenthaler, H. K., and Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11: 591-592.
- Markovic, T., Chatzopoulou, P., Šiljegović, J., Nikolić, M., Glamočlija, J., Ćirić, A., and Soković, M. (2011). Chemical analysis and antimicrobial activities of the essential oils of *Satureja thymbra* L. and *Thymbra spicata* L. and their main components. Archives of Biological Sciences, 63(2), 457-464.
- Stępień, P., and Kłbus, G. (2006). Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress. Biologia Plantarum, 50: 610-616.
- Turan, S., and Tripathy, B. (2014). Salt-stress induced modulation of chlorophyll biosynthesis during de-etiolation of rice seedlings. Physiologia Plantarum, 153(3): 477-491.

تأثیر بیوجار بر روی گیاهان دارویی

وحیده نگهبان^{۱*}، علی اکبر کریمیان^۲

^{۱*} دانشجوی دکترا مدیریت و کنترل بیابان، دانشکده منابع طبیعی و کویر شناسی، دانشگاه یزد، شهر یزد

(v.negahban@stu.yazd.ac.ir)

^۲ گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی و کویر شناسی، دانشگاه یزد، شهر یزد

چکیده

بیوجار یک ماده متخلخل و غنی از کربن است که از سوزاندن بقایای آلی مانند ضایعات گیاهی، کودهای دامی و سایر ضایعات در دمای ۲۰۰ تا ۹۰۰ درجه سلسیوس، در یک محیط بدون اکسیژن یا با اکسیژن کم تشکیل می‌شود. از آنجا که مدیریت مزرعه یکی از اساسی‌ترین مسائل زیست محیطی و توسعه‌ای در کشاورزی پایدار است بیوجار می‌تواند یک ماده موثر برای اصلاح خاک و همچنین به عنوان گزینه‌ای مناسب جهت بهبود شرایط رشد گیاه بکار رود. این مقاله مروری است و در آن به بررسی ۴۴ مقاله در مورد بیوجار و تأثیر آن بر روی گیاهان دارویی پرداخته شد. نتایج نشان داد که بیوجار در نگهداری عناصر غذایی خاک و بهبود رشد گیاه موثر بوده که با توجه به نوع و مقدار بیوجار مصرفی اثرات متفاوتی داشته است. استفاده از بیوجار به تنهایی موجب بهبود عملکرد دانه و روغن در دانه‌های روغنی، عملکرد اسانس در گیاهان دارویی شود. استفاده ترکیبی بیوجار با کودهای آلی همچون ورمی کمپوست یا کودهای زیستی می‌تواند بر افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی موثر بوده و اثرات سوء تنش‌های محیطی بر روی گیاهان را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: بیوجار، تنش خشکی، گیاهان دارویی



۱. مقدمه

بیوپار ماده متخلخل و غنی از کربن است که از سوزاندن بقایای آلی مانند ضایعات گیاهی، کودهای دامی و سایر ضایعات در دمای ۲۰۰ تا ۹۰۰ درجه سلسیوس، در یک محیط بدون اکسیژن یا با اکسیژن کم تشکیل می شود (Lehmann and Joseph, 2015 و Zeelie, 2012). بیوپار سبب افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی، اصلاح pH خاک، افزایش پتانسیل نگهداری آب در خاک، جذب عناصر غذایی و جلوگیری از آبتویی عناصری مانند پتاسیم و نیتروژن و بهبود حاصلخیزی خاک در نتیجه افزایش عملکرد گیاه می شود (Mansoor et al., 2021 و Pandey et al., 2016 و Widowati., 2014). به طور کلی شرایط فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک را بهبود می بخشد. (Fiaz et al., 2014) به عنوان یک ماده اصلاحی موجب کاهش آلودگی نیکل و کادمیوم می شود و در کنترل آلودگی مؤثر گزارش شده است (Fiaz et al., 2014) و رحیمی و همکاران، (۱۳۹۷). از آنجا که مدیریت و استفاده بهینه از آب، اساسی ترین مسائل زیست محیطی و توسعه ای در کشور می باشد بیوپار می تواند یک ماده مؤثر برای اصلاح خاک و همچنین به عنوان گزینه ای مناسب جهت بهبود شرایط رشد گیاه در مناطق خشک و بیابانی بکار رود.

۲. مواد و روش ها

پژوهش حاضر با بررسی منابع موجود، مطالعات اسنادی و مرور مطالعات گذشته انجام شده است. ۴۴ مقاله به چاپ رسیده در مورد بیوپار در منابع معتبر داخلی و خارجی، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و در پایان نتایج آن بصورت خلاصه، جمع بندی و ارائه گردید.

۳. نتایج

۳-۱. بیوپارهای استفاده شده و خصوصیات آن ها

نمونه ای از خصوصیات بیوپارها بطور خلاصه در جدول ۱ و ۲ آورده شده است. برای تهیه بیوپارها اکثراً از روش پیرولیز یا همان حرارت دادن با افزایش دما تدریجی تا سوختن کامل استفاده شده است. بیشترین دمای استفاده شده ۶۰۰ درجه سانتی گراد مربوط به بیوپار کود گاوی و کمترین آن ۲۸۰ درجه سانتی گراد مربوط به مواد سلولزی درختان جنگلی بود. بیشترین EC مربوط به بیوپار کود گاوی (۴۰/۶ درصد) و کمترین آن مربوط به مواد سلولزی درختان جنگلی (۰/۰۰۱ درصد)، بیشترین pH در بیوپار کود گاوی (۱۳/۹ درصد) و کمترین آن بیوپار باگاس نیشکر (۰/۸ درصد)، بیشترین فسفر در بقایای هرس انگور (۱/۲ درصد) کمترین آن در چوب گردو (صفر درصد)، بیشترین پتاسیم در بین بیوپارهای حاصل از فضولات و کود گاوی، ضایعات محصولات زراعی و باغی، چوب و هرس درخت انار، چوب بلوط، چوب گردو، سبوس برنج، ضایعات درخت خرما، شاخ و برگ درخت پسته، تفاله نارنج، کاه و کاه و کلش گندم، چوب نرم صنوبر، بقایای کلزا، لجن فاضلاب، مواد سلولزی درختان جنگلی، کمپوست زباله شهری، سیب با اختلاف کم در ضایعات درخت خرما (۳/۷ درصد) و همچنین در چوب بلوط (۳/۶ درصد) و کمترین آن در چوب گردو (صفر درصد)، بیشترین سدیم مربوط به بیوپار حاصل از شاخ و برگ گیاهان جنگلی مازندران (۲۹/۵ درصد) و کمترین آن مربوط به بیوپار چوب انار (۰/۲۱ درصد)، بیشترین کربن آلی از بین بیوپارهای چوب و



هرس انار، سبوس برنج، ضایعات درخت خرما، شاخ و برگ درخت پسته، تفاله برنج، بقایای کلزا، لجن فاضلاب، مواد سلولزی و شاخ و برگ درختان جنگلی، کمپوست زباله شهری، کود گاوی، کاه و کلش گندم، چوب سیب و بقایای هرس آن، هرس انگور مربوط به بیوچار انگور (۸/۴ درصد) و کمترین آن مربوط به بیوچار سبوس برنج (۷۶ درصد) می باشد.

جدول ۱- خصوصیات بیوچارها بصورت خلاصه

بیوچار پارامتر	کاه برنج	پوسته برنج	باگاس نیشکر	بقایای کلزا	چوب نرم صنوبر	کاه گندم	تفاله نارنج	شاخ و برگ درخت پسته	ضایعات درخت خرما	سبوس برنج	چوب گردو	چوب بلوط	چوب انار	فضولات گاوی
درجه حرارت (°C)	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۵۰	۴۷۵	۴۵۰	۴۵۰	۵۰۰	۵۰۰	-	۶۵۰-۴۰۰	-	۴۵۰	۶۰۰
زمان (ساعت)	۳	۳	۳	۴	-	۲	۲	-	-	-	-	-	۴	۴
EC (ds/m)	۲	۱/۱	۰/۸	۴/۳	۰/۴	۲/۷	۲/۸	۳/۲	۲/۸	۲/۲	۱/۷	۳/۲	-	۷/۸
pH	۷/۵	۷/۳	۶/۶	۸/۹	۷/۱	۷/۹	۸/۳	۱۰	۱۰	۷/۸	۹/۷	۱۰/۱	۷/۶	۱۳/۹
فسفر (%)	۰/۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰	۰/۰۱	۰/۱	۰/۳	۰/۰۱	۰/۱	۰/۱	۰/۰	۰/۸	۰/۲	۰/۳
پتاسیم (%)	-	-	-	۰/۰۹	۰/۰۰۵	۰/۹	۰/۰۴	۰/۰۶	۳/۷	۰/۸	۰/۰	۳/۶	۰/۳	۱/۸
نیتروژن (%)	۱/۱	۰/۵	۰/۸	۰/۴	-	۱/۱	-	۲/۲	-	۰/۸	۱/۳	۱/۶	۰/۲	۱/۷
کربن آلی (%)	-	-	-	۳۹/۱	-	-	۴۶/۱۲	۵۱/۶۲	۵۱/۶۲	۸/۴۳	-	-	۶۵/۴۳	-
منبع	رنجبر و همکاران (۱۴۰۱)	رنجبر و همکاران (۱۴۰۱)	رنجبر و همکاران (۱۴۰۱)	فیض عباسی و همکاران (۱۴۰۳)	Gravel و همکاران (۲۰۱۳)	Zulfiqar و همکاران (۲۰۲۱)	سوسرائی و همکاران (۱۴۰۳)	عرب باقرانی و همکاران (۱۳۹۹)	ثقفی و همکاران (۱۴۰۱)	پیطرفان و همکاران (۱۳۹۸)	تقی زاده و همکاران (۱۴۰۰)	Tavali و همکاران (۲۰۲۲)	اقلیما و همکاران (۱۴۰۲)	کیانی و همکاران (۱۴۰۲)



ادامه جدول ۱- خصوصیات بیوچارها بصورت خلاصه

بیوچار	بقایای هرس انگور	بقایای هرس سیب	کود گاوی	شاخ و برگ سیب	هرس درخت انار	شاخ و برگ گیاهان جنگلی مازندران	کاه و کلش گندم	کمپوست زباله شهری	مواد سلولزی درختان جنگلی	لجن فاضلاب	چوب نراد	کاه گندم
پارامتر												
درجه حرارت (°C)	۳۵۰	۳۵۰	-۴۵۰ ۶۵۰	۳۵۰	۴۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۴۰۰	۲۸۰	۳۵۰	۳۰۰	۳۰۰
زمان (ساعت)	۲	۲	۴	۲	۲	-	-	-	۲	۲	۳	۳
EC (ds/m)	۱/۶	۱/۲	۱۰/۳	-	۲/۶	۶/۱	۶/۱	۹/۵	۰/۰۰۱	۱/۳	۰/۶	۱/۵
pH	۸/۲	۷/۶	۸/۰۲	۷/۷	۸/۶	۷/۳	۷/۳	۸/۸	۸/۷	۷/۴	۶/۸	۷/۴
فسفر (%)	۱/۲	۰/۷	۰/۰	۰/۵	۰/۰۰۵	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۶	۰/۰۵	۱/۲	۰/۰۳	۰/۰۳
پتاسیم (%)	-	-	۰/۰۳	۰/۲	۰/۰۵	۰/۲	۰/۲	۰/۷	-	۰/۲	-	-
نیتروژن (%)	۰/۸	۱	۳/۶	۰/۴	۲/۹	۲۹/۵	۱۹/۵	۱/۱	۰/۳	۱/۰۵	۰/۲	۰/۶
کربن آلی (%)	۷۶	۶۶	-	-	۵۳/۵	۵۷/۵	۵۸/۵۰	۱۱	۱۹/۱	۱۰/۱۳	-	-
منبع	موسوی و همکاران (۱۴۰۲)	موسوی و همکاران (۱۴۰۲)	بیرانوندی و همکاران (۱۳۹۹)	قاسمی گلرانی و رحیم زاده	غیاث و همکاران (۱۴۰۱)	توراج زاده و همکاران (۱۴۰۳)	پیری و همکاران (۱۴۰۳)	فروهر و همکاران (۱۳۹۷)	قبری و خواجوی نژاد (۱۳۹۷)	جلیلی و همکاران (۱۴۰۳)	رنجبر و همکاران (۱۴۰۱)	رنجبر و همکاران (۱۴۰۱)



جدول ۲- خلاصه خصوصیات بیوچارهای حاصل از مواد اولیه یکسان در مقالات مختلف

بیوچار پارامتر	لجن فاضلاب	لجن فاضلاب	کاه و کلش گندم	کاه گندم	کاه گندم	کاه گندم	هرس درخت انار	چوب انار	کود گاوی	کود گاوی	فضولات گاوی
درجه حرارت (°C)	۴۰۰	۳۵۰	۳۰۰	۵۰۰	۴۵۰	۵۰۰	۴۰۰	۴۵۰	۴۰۰	۶۰۰	۶۰۰
زمان (ساعت)	-	۲	-	-	۳	۲	۴	۲	۴	۴	۴
EC (ds/m)	۳/۶۸	۱/۲۸	۶/۱	۷/۵	۱/۵	۲/۷۵	۱۱/۶۲	۲/۶	۴۰/۶	۱۰/۱۷	۷/۸۱
pH	۷/۸	۷/۴	۷/۳	۸/۵	۷/۴	۷/۹۴	۱۰/۵۰	۸/۶	۱۰/۵	۱۰/۶۳	۱۳/۹
فسفر (%)	۰/۵۹	۱/۲	۰/۰۴	-	۰/۰۳۵	۰/۰۱	-	۰/۰۰۵	۱/۰۲	-	۰/۳۴
پتاسیم (%)	۰/۱۱	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۳۲	-	۰/۹۳	۴/۲	۰/۵۲	۰/۳۲	۲/۸۹	۰/۰۱
نیتروژن (%)	۱/۵۲	۱/۰۵	۱۹/۵	-	۰/۶۳	۱/۱	۰/۷۱	۲/۸۷	۰/۲۱	۱/۷۹	۲/۹۸
کربن آلی (%)	۱۵/۲	۱۰/۱۳	۵۷/۵۰	-	-	-	-	۵۳/۵	۶۵/۴۳	۲۸/۷	-
منبع	فروهر و همکاران (۱۳۹۷)	جلیلی و همکاران (۱۴۰۳)	پیری و همکاران (۱۴۰۳)	رضایی و همکاران (۱۳۹۷)	رنجبر و همکاران (۱۴۰۱)	Zulfiqar و همکاران (۲۰۲۱)	نجفی قیری و بوستانی (۱۳۹۶)	غیاث و همکاران (۱۴۰۱)	اقلیما و همکاران (۱۴۰۲)	فروهر و همکاران (۱۳۹۷)	صادقی عسکری و همکاران (۱۴۰۳)
کیانی و همکاران (۱۴۰۲)											



ادامه جدول ۲- خلاصه خصوصیات بیوچارهای حاصل از مواد اولیه یکسان در مقالات مختلف

بیوچار پارامتر	کاه پنبه	بقایای پنبه	بقایای کلزا	بقایای کلزا	چوب گردو	چوب گردو	چوب گردو	پوسته برنج	پوسته برنج	سبوس برنج	سبوس برنج
درجه حرارت (°C)	۴۵۰	۷۰۰-۳۵۰	۳۵۰	۷۰۰-۳۵۰	۳۵۰	۴۰۰-۶۵۰	۴۰۰-۶۵۰	۷۰	۳۰۰	-	۵۰۰
زمان (ساعت)	-	۱	۴	۱	-	-	-	۲۴	۳	-	۴
EC (ds/m)	۳/۷۰	۰/۵-۰/۹	۴/۳	۵/۴-۲/۵	۵/۵	۰/۲	۱/۷۲	-	۱/۱	۲/۲	۳/۵۰
pH	۱۰/۵	۶/۸-۹/۶	۸/۹	۶/۹-۸/۲	۸/۹	-	۹/۷	۷/۷	۷/۳	۷/۸	۱۱
فسفر (%)	۰/۰۹	-	۰/۰	-	-	۰/۰۱	۰/۰	-	۰/۰۵	۰/۱۳	-
پتاسیم (%)	-	۰/۴۱-۱/۰۸	۰/۰۱	۲/۳-۷۷/۵۸	۰/۰۹	۰/۲۱	۰/۰	-	-	۰/۸۴	۰/۸
نیتروژن (%)	۰/۰۰۴	-	۰/۴۳	-	-	۱/۲۷	۱/۲۷	۰/۵	۰/۵	۰/۷۶	۰/۷۷
کربن آلی (%)	-	۴۲/۸-۱۳/۹	۳۹/۱	۴۸/۹-۲۲/۲	۲۹/۳	-	-	-	-	۸/۴۳	-
منبع	Feng و همکاران (۲۰۲۱)	سوسرائی و همکاران (۱۳۹۸)	فیض عباسی و همکاران (۱۴۰۳)	سوسرائی و همکاران (۱۳۹۸)	رضایی و همکاران (۱۴۰۱)	عباس پور و همکاران (۱۳۹۷)	تقی زاده طبری و همکاران (۱۴۰۰)	ابوالفضل بھروز و همکاران (۱۴۰۳)	رنجیر و همکاران (۱۴۰۱)	بطرفان و همکاران (۱۳۹۸)	نجفی قبری و بوستانی (۱۳۹۶)

۳-۲. تأثیر بیوچار بر گیاهان دارویی

اثر بیوچار چوب گردو و کود شیمیایی بر برخی ویژگی‌های خاک و عملکرد سیاه‌دانه (*Nigella sativa L*) توسط (عباس پور و همکاران، ۱۳۹۷) در شرایط کمبود آب مورد پژوهش قرار گرفت و مشاهده نمودند که بیوچار تأثیر معنی‌داری بر عملکرد دانه، درصد روغن، عملکرد روغن و اسیدهای چرب مریستک، پالمیتیک و لینولئیک داشته و کاربرد ۱۰ تن در هکتار بیوچار را به عنوان بهترین مقدار بر روی این گیاه گزارش نمودند. گزارش نمودند استفاده همزمان بیوچار و کود شیمیایی تأثیر بهتری نسبت به سایر تیمارها داشته است. (قنبری و خواجویی نژاد، ۱۳۹۷) اثر کاربرد کمپوست و ترکیب کمپوست و بیوچار (حاصل از مواد سلولزی درختان جنگلی) بر جرم مخصوص ظاهری خاک بستر کاشت و میزان ظهور و رشد اولیه گیاهچه اکوتیپ‌های زعفران



را مورد بررسی قرار داده نتایج نشان داد که کاربرد کمپوست و کمپوست + بیوجار، پارامترهای ظهور جوانه اصلی و جوانه‌های فرعی و پارامترهای رشد برگ را نسبت به شاهد بهبود بخشید. همچنین موجب کاهش جرم مخصوص ظاهری خاک (۱۲ درصد) نسبت به شاهد شد. تأثیر بیوجار (حاصل از چوب و بقایای زراعی) و کودهای زیستی (شامل: *Pseudomonas fluorescens*, *Azotobacter chroococcum*, *Glomus mosseae*, *G. intradices*, *G. etunicatum*) بر رنگرزه‌های فتوسنتزی، عملکرد و محتوای عناصر غذایی نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.) توسط (زعفریان و همکاران، ۱۳۹۸) مورد بررسی قرار گرفت نتایج نشان داد که مصرف بیوجار موجب افزایش کلروفیل a (۷/۴۲ درصد) و کلروفیل کل (۹/۷۱ درصد)، نیتروژن اندام هوایی (۷۴ درصد)، فسفر (۰/۳۲ درصد)، وزن تر برگ (۲۱/۶۸ درصد)، وزن تر ساقه (۵۳/۵۲ درصد) و وزن تر کل (۴۲/۹۶ درصد) شد. حداکثر مقدار فسفر در تیمارهای بیوجار + میکوریزا و بیوجار ورمی کمپوست، حداکثر وزن تر کل در تیمار بیوجار + میکوریزا گزارش شد. (Zulfiqar و همکاران، ۲۰۲۱) کاربردهای بیوجار (حاصل از کاه گندم (*Triticum aestivum* L.))، کمپوست و ترکیب بیوجار-کمپوست برای تعدیل رشد، فتوسنتز، اسمولیت‌ها و سیستم آنتی اکسیدانی گیاه دارویی زنجبیل (*Alpinia zerumbet*) را مورد بررسی قرار داد نتایج نشان داد که بیوجار و ترکیب آن با کمپوست به طور قابل توجهی نرخ خالص فتوسنتز گیاهان را بیش از ۲۸ درصد، محتوای کلروفیل a و b را به ترتیب ۹۲ و ۷۸ درصد، و راندمان کربوکسیلاسیون را تا ۵۰ درصد افزایش داد. استفاده از بیوجار و کمپوست روش کارآمد و پایدار برای بهبود محتویات متابولیت و کاهش استرس اکسیداتیو در *A. zerumbet* هستند. (کلهر منفرد و همکاران، ۱۴۰۱) در پژوهشی به ارزیابی کیفی شلغم علوفه‌ای (*Brassica rapa* var. *rapa*) در کشت مخلوط با گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) تحت تأثیر کاربرد بیوجار (حاصل از مجموعه‌ای از سرشاخه‌ها و چوب درختان جنگلی با ماهیت سلولزی) و ورمی کمپوست پرداختند و کاربرد توأم نسبت کاشت ۷۰ درصد شلغم علوفه‌ای + ۳۰ درصد ریحان در ورمی کمپوست ۱۸/۵ تن در هکتار و بیوجار ۵ تن در هکتار به عنوان بهترین تیمار این پژوهش توصیه نمودند. (کمالی علی آباد و همکاران، ۱۴۰۱) با مقایسه تأثیر برخی کودهای آلی و نانو کود زیستی بر صفات مورفولوژیک و ترکیبات عصاره گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) مشاهده نمودند کود-های بیوجار و ورمی کمپوست به تنهایی و در ترکیب با هم، تأثیر مثبت و حداکثری بر روی بسیاری از خصوصیات مورفولوژیکی گیاه سرخارگل گذاشت و همچنین تیمار ترکیبی ورمی کمپوست - بیوجار بر میزان ترکیبات فنلی عصاره گیاه مذکور تأثیر بهتری داشت که مقدار ۰/۱۲۳ میلی گرم بر لیتر بود. (حضرتی و همکاران، ۱۴۰۱) با ارزیابی کاربرد همزمان قارچ میکوریزا آربوسکولار و بیوجار بر رشد، عملکرد و غلظت آلوتین در گیاه دارویی صبر زرد (*Aloe vera* L.) مشاهده نمودند که کاربرد سطوح کم بیوجار می‌تواند باعث بهبود رشد گیاه شود و مقدار زیاد آن اثر منفی بر رشد و عملکرد گیاه صبر زرد داشته است که می‌تواند بدلیل افزایش pH خاک، نگهداشت آب بیش از نیاز گیاه، وجود گروه‌های آلیفاتیک و آروماتیک در ساختار بیوجار، نسبت C/N بالا و وجود ترکیب‌های فرار در ساختار بیوجار و یا احتمالاً نوع ماده اولیه و غیره باشد و همچنین بیان نمودند که بیشترین میزان کربوهیدرات محلول در تیمار کاربرد ۵۰۰ گرم بیوجار به همراه تلقیح میکوریزا حاصل شد. (زعفریان و همکاران، ۱۴۰۱) با ارزیابی کاربرد بیوجار (حاصل از چوب و بقایای گیاهی) به همراه کودهای آلی و زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.) در کشاورزی اکولوژیک بیان نمودند که بیوجار (مصرف ۱۰ تن در هکتار) می‌تواند



هم در کیفیت و هم در کمیت اسانس نعنا فلفلی مؤثر باشد، بطوری که بیشترین درصد اسانس (افزایش ۵۲/۸۸ درصدی) و اکثر ترکیبات اسانس نعنا فلفلی در تیمار بیوچار و تیمارهای همراه با آن بدست آمد. همچنین کاربرد باکتری ازتوباکتر و سودوموناس همراه بیوچار بیشترین تأثیر را بر کیفیت اسانس نعنا فلفلی به خصوص در ترکیبات متول و منتون داشتند. (لایق حقیقی و عباس زاده، ۱۴۰۱) با ارزیابی ویژگی‌های کمی، کیفی و جذب عناصر گیاه به‌لیمو (*Lippia citriodora* L.) تحت تأثیر بیوچار (حاصل از ضایعات محصولات زراعی و باغی)، ورمی کمپوست و ریزوباکتری‌های محرک رشد (مخلوطی از سه سویه *Azospirillum lipoferum* strain 5، *Azotobacter chroococcum* و *Pseudomonas putida*) گیاه بیان نمودند بیشترین درصد اسانس (۰/۸۶ درصد) از تیمار شاهد و حداکثر عملکرد اسانس (۳/۷۴ کیلو گرم بر هکتار) از تیمار ۱۲ تن ورمی - کمپوست به همراه ۱۰ تن بیوچار و تلقیح کود زیستی بدست آمد. بیشترین آهن (۳۷۷/۰۶ پی‌پی‌ام) در تیمار ۶ تن ورمی کمپوست + ۱۰ تن بیوچار + تلقیح کود زیستی حاصل شد. بطوری کلی کاربرد ۶ تن ورمی کمپوست به همراه ۱۰ تن در هکتار بیوچار و استفاده از باکتری‌های محرک رشد از طریق افزایش رشد و توسعه ریشه موجب جذب بهتر آب و مواد غذایی، افزایش عملکرد و بهبود صفات کمی گیاه به‌لیمو شده است. (Sutanto و همکاران، ۲۰۲۲) با بررسی اثر بیوچار و دوزهای هورمون بر روی گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea* (L)) بیان نمودند تیمار بیوچار زغال پوسته برنج و ۶ میلی لیتر هورمون در بهبود سازگاری این گیاه مؤثر است. (اقلیما و همکاران، ۱۴۰۲) با بررسی اثر کاربرد بیوچار (حاصل از چوب انار) بر شاخص‌های جوانه زنی بذر و پارامترهای رشدی گیاهچه‌های مرزه خوزستانی (*Satureja Khuzistanica* Jamzad) مشاهده نمودند که بیشترین درصد جوانه زنی (۸۸ درصد)، سرعت جوانه زنی (۱۱/۶۶ بذر در روز)، شاخص بنيه (۲۰۲۴/۶۷)، طول شاخساره (۲۳ سانتی متر) و وزن تر (۱/۰۵ گرم) و خشک (۰/۱۲۴ گرم) شاخساره در تیمار ۲ درصد بیوچار انار مشاهده شد. با افزایش درصد بیوچار محتوای رطوبت نسبی نیز افزایش یافته بطوری که بیشترین مقدار آن (۸۰/۳۳ درصد) با کاربرد ۳ درصد بیوچار انار گزارش شد. بالاترین میزان کلروفیل a و b (به ترتیب ۲/۹۱ و ۰/۹۵ میلی گرم بر گرم وزن تر) با کاربرد ۲ درصد بیوچار حاصل شد. (قاسمی گلزانی و رحیم زاده، ۲۰۲۲) در پژوهش خود مشاهده نمودند که نانو کامپوزیت‌های تغذیه‌ای مبتنی بر بیوچار آهن و روی نه تنها می‌تواند اثرات نامطلوب شوری را بر گیاهان شوید کاهش دهند، بلکه می‌توانند مسیرهای متابولیک ثانویه را که منجر به کیفیت بهتر اسانس می‌شوند، بهبود بخشد. (Tavali و همکاران، ۲۰۲۲) اثر بیوچار (حاصل از چوب بلوط) بر بهبود خواص بیولوژیکی خاک آهکی و رشد مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) را مورد بررسی قرار دادند. مشخص شد که تعداد باکتری‌ها و فعالیت‌های آنزیمی (دهیدروژناز، اوره آز، آلکالین فسفاتاز، β -گلیکوزیداز) خاک تنها با کاربرد بیوچار معنی‌دار می‌شود. بیشترین افزایش عملکرد گیاه، وزن تر و خشک مرزنجوش با کاربرد بیوچار همراه با کود شیمیایی حاصل شد. از سوی دیگر، بر خلاف افزودن کودهای شیمیایی، مشخص شد که کاربرد بیوچار به تنهایی باعث افزایش میزان روغن فرار و میزان کارواکرول و تیمول در گیاه می‌شود. (نجار زاده و همکاران، ۱۴۰۲) با بررسی تأثیر سطوح مختلف بیوچار تفاله گل محمدی، پوست سبز گردو و کود گاوی بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و عملکرد گیاه دارویی گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) مشاهده نمودند که بیوچار تفاله گل محمدی و پوست سبز گردو به ترتیب بیشترین و کمترین میزان کربن آلی پایدار را دارا بودند. بیوچار تفاله گل محمدی و کود گاوی موجب افزایش معنی‌دار عملکرد و رنگریزه‌های فتوسنتزی نسبت به شاهد شدند. استفاده از



بیوچار گل محمدی به میزان ۲/۵ درصد وزنی باعث افزایش ۱۱۹ درصدی وزن اندام هوایی نسبت به تیمار عدم کاربرد بیوچار شد. تیمار ۱/۲۵ درصد وزنی از کود گاوی نیز ۲۹/۷ درصد وزن تر اندام هوایی را افزایش داد. بیوچار گردو نه تنها تأثیر مثبتی بر رشد و عملکرد گیاه نداشت، بلکه باعث کاهش رشد و عدم تولید گل در گاوزبان اروپایی شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار ۲/۵ درصد بیوچار تفاله گل محمدی (۰/۴۷ واحد بر گرم پروتئین) و ۱/۲۵ درصد بیوچار کود گاوی (۰/۶۴ واحد بر گرم پروتئین) حداکثر بود، میزان پرولین نیز در تیمار ۰/۷۵ درصد بیوچار پوست گردو (۱۰/۶ میکرومول بر گرم وزن تر) به طور معنی داری افزایش یافت. بیوچار تفاله گل محمدی با نسبت ۲/۵ درصد وزنی مناسب ترین تیمار از نظر بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی و رشدی گاوزبان گزارش شد. (ریحانی تبار و همکاران، ۱۴۰۳) با ارزیابی شاخص های هوموسی شدن و جوانه زنی بذر و غلظت برخی عناصر در کمپوست مشترک کود دامی و مواد آلی جنگلی تحت تأثیر مصرف بیوچار چوبی (حاصل از هرس درختان آلو و انار)، لئوناردیت و زغال سنگ مشاهده نمودند که بالاترین غلظت نیترات و نسبت C/N در تیمار بیوچار ۴ درصد و بالاترین EC در تیمار زغال سنگ دو درصد و بالاترین شاخص جوانه زنی بذر گیاه ترتیزک در تیمار بیوچار حاصل شد که با شاهد تفاوت معنی دار نداشته است. (محمدزاده کاخکی و همکاران، ۱۴۰۳) با بررسی اثر مصرف تلفیقی مقادیر مختلف بیوچار و کاربرد خاکی گوگرد معمولی و محلول پاشی نانو گوگرد بر عملکرد و اجزاء عملکرد و برخی خصوصیات فیتوشیمیایی مرزه (*Satureja hortensis* L.) مشاهده نمودند که در هر دو سال زراعی با افزایش مقادیر مصرفی بیوچار تعداد دانه در بوته، وزن سرشاخه گلدار، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت به طور معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت و بیشترین مقدار صفات یاد شده در هر دو سال زراعی در تیمار ۲۰ تن در هکتار بیوچار گزارش شد. همچنین بیشترین میزان اسانس در تیمار کاربرد همزمان ۱۰ تن در هکتار بیوچار و مصرف خاکی گوگرد معمولی بدست آمد در حالی که میزان فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی تحت تأثیر استفاده همزمان مقادیر بیوچار و تیمارهای تغذیه ای گوگردی کاهش یافت. بطور کلی کاربرد همزمان مقادیر بالای بیچار (سطوح ۱۰ و ۲۰ تن در هکتار) و تیمارهای تغذیه ای گوگرد به ویژه محلول پاشی نانو گوگرد منجر به بهبود عملکرد و اجزاء عملکرد مرزه شد، در حالی که ویژگی های کیفی این گیاه در صورت عدم استفاده از نهاده های خارجی از وضعیت بهتری برخوردار بود. (طالشی و همکاران، ۱۴۰۳) با بررسی پاسخ خصوصیات زراعی و کیفیت اسانس بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) به سطوح مختلف بیوچار (حاصل از چوب درخت انار) و کودهای زیستی (*G. mossea*, *G. interadices*, *Glumus etunicatum*) و باکتری آزوسپیریوم لیپوفروم) مشاهده نمودند که بیوچار موجب افزایش ۱۶/۱ درصدی ارتفاع گیاه نسبت به شاهد و در سطح مصرف ۱۶ تن در هکتار بیوچار بیشترین فلاونوئید کل (۰/۴۳ درصد) و کاروتنوئید (۱/۵۶ میلی گرم بر گرم) مشاهده شد. اثر متقابل بیوچار و کودهای زیستی در تیمار کاربرد ۲۰ تن در هکتار بیوچار و تلخیص دو گانه میکوریزا و آزوسپیریوم لیپوفروم در مقایسه با سایر تیمارهای کودی دارای بالاترین مقادیر عملکرد زیست توده (۱۷۴/۳ گرم در تک بوته) عملکرد اقتصادی (۵۶/۳ گرم در بوته)، درصد اسانس (۰/۴۴٪) و عملکرد اسانس (۲۴/۶ گرم در بوته) بودند. بر اساس نتایج مقالات بررسی شده بیوچار موجب افزایش ارتفاع، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه (گیاه زنیان، مرزه، گلرنگ)، تعداد شاخه اصلی و فرعی (گیاه ریحان)، تعداد ساقه گل دهنده (گیاه گل گاوزبان)، طول ریشه



(گیاه آویشن)، درصد جوانه زنی بذر (گیاه ترتیزک) و همچنین افزایش کلروفیل a، کلروفیل کل (گیاه نعناع فلفلی)، کاروتنوئید، فلاونوئید (بابونه آلمانی)، کارواکرول و تیمول (گیاه مرزنجوش) شده است.

۴. بحث و نتیجه گیری

تحقیقات بیشتر بر روی تأثیر بیوچار بر عناصر غذایی خاک و همچنین تأثیر آن بر روی گیاهان بخصوص گیاهان دارویی صورت گرفته است بر اساس نتایج بیوچار در نگهداری عناصر غذایی خاک و بهبود رشد گیاه موثر بوده که با توجه به نوع و مقدار بیوچار مصرفی اثرات متفاوتی داشته است. بیوچارهای استفاده شده از جنس چوب، نارگیل، کاه و کلش گندم، تفاله شیرین بیان، چوب گردو، کود گاوی، چوب انار، چوب بلوط، کاه ذرت، بقایای کلزا، چوب کاج، ضایعات درخت خرما، درخت زبان گنجشک، شاخ و برگ درخت پسته، تفاله گل محمدی، تفاله نارنج، چوب نرم صنوبر، باگاس نیشکر، لجن فاضلاب، چوب نراد، درخت سیب و پوسته برنج بوده که تأثیرات آن بر روی خاک، گیاهان و متابولیت های ثانویه آنها متفاوت بوده است. استفاده از بیوچار به تنهایی موجب بهبود عملکرد دانه و روغن (در گیاه سیاهدانه)، عملکرد اسانس (در گیاه مرزه) و همچنین استفاده ترکیبی آن با کودهای آلی چون ورمی کمپوست یا کودهای زیستی می تواند بر افزایش متابولیت های ثانویه گیاهان دارویی موثر باشد. بیوچار نیز می تواند اثرات سوء تنش های خشکی و شوری بر روی گیاهان را کاهش دهد.

منابع

اقلیما، ق. محمدی، م. نجفی، م. ۱۴۰۲. اثر کاربرد بیوچار بر شاخص های جوانه زنی بذر و پارامترهای رشدی گیاهچه های مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica Jamzad*). دو فصلنامه علوم سبزی ها. ۷(۲): ۹۳-۱۰۶.

ابوالفضل بیهروز، ب. اوستان، ش. میرسید حسینی، ح. اعتصامی، ح. ۱۴۰۳. سیتیک و همدای جذب کادمیم در یک خاک شالیزاری تیمار شده با بیوچار پوسته برنج اصلاح شده با کلرید منیزیم. آب و خاک. ۳۸(۱): ۱۴۳-۱۶۰.

بیرانوندی، م. اکبری، ن. احمدی، ع. ر. مومیند، ح. نظریان، ف. ۱۳۹۹. برهم کنش بیوچار و سوپر جاذب بر ترکیب های تشکیل دهنده اسانس مرزه رشینگری (*Satureja rechingeri Jamzad*) در شرایط تنش خشکی. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۶(۵): ۷۹۳-۷۸۰.

بیطرفان، ز. اصغری، ح. ر. حسنلو، ط. غلامی، ا. و مرادی، ف. ۱۳۹۸. پاسخ توده های بومی گیاه دارویی شنبلله (*Trigonella foenum-graecum L.*) به کاربرد بیوچار در شرایط کم آبیاری. بوم شناسی کشاورزی، ۱۱(۲): ۴۰۳-۴۱۵.

پیری، ح. میر، ا. ۱۴۰۳. بررسی اثرات بیوچار بر کارایی مصرف آب آبیاری و کارایی مصرف نیتروژن در گیاه کارلا تحت شرایط تنش آبی. مدیریت آب و آبیاری. ۱۴(۲): ۳۵۷-۳۷۳.

تقی زاده طبری، ز. اصغری، ح. ر. عباسدخت، ح. باباخانزاده، ا. ۱۴۰۰. تأثیر کاربرد بیوچار و اسید سالیسیک بر برخی صفات فیزیولوژیکی، زیست-شیمیایی و عملکرد گل گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis L.*) در دوره های آبیاری مختلف. پژوهش های تولید گیاهی (علوم کشاورزی و منابع طبیعی). ۲۸(۱): ۹۳-۱۱۳.



- توراج زاده، ا. پیری، ح. ناصرین، ا. چاری، م. م. ۱۴۰۲. بررسی تأثیر بیوچار بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک تحت کشت کینوا در شرایط تنش آبی و شوری. آب و خاک. ۳۸(۱): ۶۹-۸۵.
- تقفی، ف. قانع بافقی، م. ج. شیرمردی، م. ۱۴۰۱. اثر بیوچار ضایعات درخت خرما بر غلظت عناصر، نسبت جذب سدیم و برخی خصوصیات فیزیکی خاک شور. مهندسی اکوسیستم بیابان. ۱۰(۳۱): ۸۵-۹۴.
- جلیلی، ی. حقایقی سولک، ا. سالک گیلانی، س. ۱۴۰۳. تأثیر کاربرد لجن فاضلاب و بیوچار آن بر برخی خصوصیات شیمیایی و فعالیت‌های آنزیمی خاک. مطالعات علوم محیط زیست. ۹(۲): ۸۶۰۷-۸۶۲۵.
- حضرتی، س. محبی، س. محمدی، ح. ملایی، س. ۱۴۰۱. ارزیابی کاربرد هم‌زمان قارچ میکوریزا آربوسکولار و بیوچار بر رشد، عملکرد و غلظت آلونین در گیاه دارویی صبرزد (*Aloe vera L.*). مجله علوم و فنون باغبانی ایران. ۲۳ (۲): ۳۹۳-۴۰۸.
- رضایی، ب. اشرف امیری نژاد، ع. قبادی، م. ۱۴۰۱. اثرات متقابل سرب نترات، سالیسیلیک اسید و بیوچار بر ویژگی‌های رشدی گیاه آویشن (*Thymus vulgaris L.*). آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی). ۳۶(۱): ۶۷-۷۹.
- رحیمی، ط. معزی، ع. و حجتی، س. ۱۳۹۷. اثر کاربرد سطوح مختلف کود گاوی و بیوچار حاصل از آن بر سینتیک جذب نیکل در یک خاک آهکی. نشریه علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی). ۲۲(۱): ۱۹۹-۲۰۹.
- رنجبر، م. صادق زاده، ف. عمادی، م. قاجار سپانلو، م. احمدپور داشلی‌برون، ع. ۱۴۰۱. تأثیر کاربرد انواع بیوچار و کود شیمیایی بر رشد و غلظت عناصر غذایی نیشکر. به زراعی کشاورزی. ۲۴(۴): ۱۲۳۳-۱۲۴۶.
- زعفریان، ف. اکبرپور، و. کاوه، م. حبیبی، م. ۱۳۹۸. تأثیر بیوچار و کودهای زیستی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، عملکرد و محتوای عناصر غذایی نعنای فلفلی (*Mentha piperita L.*). به زراعی کشاورزی. ۲۱(۴): ۴۰۷-۴۲۲.
- زعفریان، ف. اکبرپور، و. کاوه، م. حبیبی، م. ۱۴۰۱. ارزیابی کاربرد بیوچار به همراه کودهای آلی و زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita L.*) در کشاورزی اکولوژیک. بوم شناسی کشاورزی. ۱۴(۳): ۵۶۱-۵۷۸.
- سوسرائی، ن. بارانی، م. دودی پور، ا. خرمالی، ف. ۱۳۹۸. اثر بیوچار تهیه شده از بقایای کشاورزی در دماهای متفاوت بر برخی ویژگی‌های شیمیایی یک خاک آهکی و غلظت سدیم و پتاسیم در گیاه ذرت (*Zea mays*). تحقیقات کاربردی خاک، ۷(۳): ۱۶۴-۱۷۹.
- سوسرائی، ن. بارانی مطلق، م. موحدی، ع. ر. ۱۴۰۳. اثر محلول پاشی و بیوچار (ذغال زیستی) غنی شده با روی بر برخی ویژگی‌های رشد رویشی، اجزای عملکرد و فراهمی روی در گیاه گندم. مجله مدیریت خاک و تولید پایدار. ۱۴(۳): ۲۷-۵۱.
- صادقی عسکری، ش. موسوی، س. ع. ا. زارعی، م. ۱۴۰۳. اثر سطوح بیوچار کود گاوی بر میزان رس قابل پراکنش خودبه‌خودی و مکانیکی در دو خاک آهکی با بافت متفاوت در زمان‌های مختلف پس از کاربرد. تحقیقات آب و خاک ایران. ۵۵(۸): ۱۲۳۷-۱۲۵۴.
- طالشی، ک. اصولی، ن. خاوری، ه. ۱۴۰۳. پاسخ خصوصیات زراعی و کیفیت اسانس بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla L.*) به سطوح مختلف بیوچار و کودهای زیستی. تحقیقات کاربردی خاک، ۱۲(۱): ۵۶-۶۷.
- عباس پور، ف. اصغری، ح. ر. رضوانی مقدم، پ. عباسدخت، ح. شباهنگ، ج. بیگ بابایی، ع. ۱۳۹۷. اثر بیوچار و کود شیمیایی بر برخی ویژگی‌های خاک و عملکرد و صفات کیفی سیاه‌دانه (*Nigella sativa L.*) در شرایط کمبود آب. پژوهش آب در کشاورزی. ۳۲(۳): ۴۴۱-۴۵۷.
- عرب بافرانی، ز. قانع بافقی، م. ج. شیرمردی، م. ۱۳۹۹. اثر بیوچار ضایعات شاخ و برگ درخت پسته بر خصوصیات رشدی گیاه گلرنگ. مجله مدیریت خاک و تولید پایدار، ۱۰(۳): ۷۳-۹۴.

- غیاث، ش. شیرمردی، م. مفتاحی زاده، ح. دهستانی اردکانی، م. ۱۴۰۱. تأثیر بیوجار و هیدروژل بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) تحت تنش خشکی. تولیدات گیاهی. ۸۰-۶۷: (۱)۴۵.
- فیض عباسی، پ. امیری نژاد، ع. ا. رنجبر، ف. ۱۴۰۳. تأثیر بیوجار و اسید هیومیک بر کاهش تنش قلیائیت در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.). تحقیقات آب و خاک ایران. ۱۱۳-۱۱۲۷: (۷)۵۵.
- فروهر، م. خراسانی، ر. فتوت، ا. شریعتمداری، ح. خاوازی، ک. ۱۳۹۷. تأثیر بیوچارهای مختلف و مواد اولیه آن‌ها بر برخی خصوصیات شیمیایی خاک و عناصر غذایی با گذشت زمان در یک خاک آهکی. آب و خاک. ۲۹۹-۳۱۲: (۲)۳۲.
- کلهرمنفرد، ر. اردکانی، م. ر. پاک نژاد، ف. سراجوقی، م. نقدی بادی، ح. ۱۴۰۱. ارزیابی صفات کیفی شلغم علوفه‌ای (*Brassica rapa* var. *rapa*) در کشت مخلوط با ریحان (*Ocimum basilicum*) تحت تأثیر کاربرد بیوجار و ورمی کمپوست. بوم شناسی کشاورزی. ۱۶: (۱)۱-۱۷.
- کمالی علی آباد، ک. میرعزآبادی م. س. زمانی ا. ۱۴۰۱. مقایسه تأثیر برخی کودهای آلی و نانوکود زیستی بر صفات مورفولوژیک و ترکیبات عصاره گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.). تحقیقات کاربردی خاک. ۱۰-۱: (۴)۱۰.
- کیانی، ه. خالص رو، ش. شریفی، ز. مختصی - بیدگلی، ع. ۱۴۰۳. پاسخ‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی سیاهدانه به بیوجار در رژیم‌های مختلف آبیاری. تنش‌های محیطی در علوم زراعی. ۷۳-۸۶: (۱)۱۷.
- لایق حقیقی، م. عباس زاده، ب. ۱۴۰۱. ارزیابی ویژگی‌های کمی، کیفی و جذب عناصر گیاه به‌لیمو (*Lippia citriodora* L.) تحت تأثیر بیوجار، ورمی کمپوست و ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه. علوم باغبانی ایران. ۶۶۷-۶۷۹: (۳)۵۳.
- محمدزاده کاخکی، و. امینی فرد، م. ح. امیری، م. ب. ۱۴۰۳. اثر مصرف تلفیقی مقادیر مختلف بیوجار و کاربرد خاکی گوگرد معمولی و محلول‌پاشی نانوگوگرد بر عملکرد و اجزاء عملکرد و برخی خصوصیات فیتوشیمیایی مرزه (*Satureja hortensis* L.). بوم شناسی کشاورزی. ۴۲۱-۴۳۸: (۳)۱۶.
- موسوی، ر. رسولی صدقیانی، م. سپهر، ا. برین، م. ۱۴۰۲. تأثیر بیوجار غنی‌شده بر رفتار جذب فسفر در خاک‌های شور و غیر شور حوضه دریاچه ارومیه. علوم آب و خاک. ۲۷: (۱) ۲۱۷-۲۳۰.
- نجاززاده، ا. فرحبخش، ح. ناصر علوی، م. مرادی، ر. ا. نقی زاده، م. ۱۴۰۲. تأثیر سطوح مختلف بیوجار تفاله گل محمدی، پوست سبز گردو و کود گاوی بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و عملکرد گیاه دارویی گاوزبان اروپایی. علوم باغبانی. ۸۷۳: (۳)۳۷-۸۸۶.
- نجفی قیری، م. و بوستانی، ح. ر. ۱۳۹۶. تأثیر کاربرد برخی بقایای گیاهان زراعی و تفاله شیرین بیان و بیوجار حاصل از آن‌ها بر وضعیت پتاسیم یک خاک آهکی. مجله پژوهش‌های حفاظت آب و خاک. ۲۴: (۳)۷۷-۹۳.
- Feng, L., Xu, W., Tang, G., Gu, M., & Geng, Z. 2021. Biochar induced improvement in root system architecture enhances nutrient assimilation by cotton plant seedlings. BMC Plant Biology, 21:1-14.
- Fiaz, K., Malik, S. A, Younis, U., Danish, S., Raza Shah, M. H. and Niaz, S. 2014. Drought impact on Pb/Cd toxicity remediated by biochar in *Brassica campestris*. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 14(4): 845-854.
- Ghassemi-Golezani, K., & Rahimzadeh, S. 2022. The biochar-based nanocomposites influence the quantity, quality and antioxidant activity of essential oil in dill seeds under salt stress. Scientific Reports, 12(1):21903.
- Gravel, V., Dorais, M., & Ménard, C. 2013. Organic potted plants amended with biochar: its effect on growth and *Pythium* colonization. Canadian Journal of Plant Science, 93(6): 1217-1227



- Lehmann, J., & Joseph, S. 2015. Biochar for environmental management: an introduction. In Biochar for environmental management (pp. 1-13). Routledge .
- Mansoor, S., Kour, N., Manhas, S., Zahid, S., Wani, O. A., Sharma, V. and Ahmad, P. 2021. Biochar as a tool for effective management of drought and heavy metal toxicity. Chemosphere, 271: 129458.
- Pandey V., Patel A., and Patra D. D. 2016. Biochar ameliorates crop productivity, soil fertility, essential oil yield and aroma profiling in basil (*Ocimum basilicum* L.). Ecological Engineering, 90: 361-366.
- Sutanto, O. P., Asmanto, B. P., & Yunus, A. 2022. Growth response of *Echinacea purpurea* (L) Moench to biochar types and hormone doses. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 1016, No. 1, p. 012013). IOP Publishing.
- Tavali, I.E. 2022. Short-term effect of biochar on the improvement of calcareous soil biological properties and marjoram (*Origanum majorana* L.) growth under greenhouse conditions in a Mediterranean climate. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 50(2): 12688.
- Widowati, W.H., Asnah, A. and Utomo, W.H. 2014. The use of biochar to reduce nitrogen and potassium leaching from soil cultivated with maize. Journal of Degraded and Mining Lands Management, 211-218.
- Zeelie, A. 2012. Effect of biochar on selected soil physical properties and crop performance of winter wheat pot plants. M.Sc. Thesis. University of Stellenbosch.
- Zulfiqar, F., Chen, J., Younis, A., Abideen, Z., Naveed, M., Koyro, H. W., & Siddique, K. H. 2021. Biochar, compost, and biochar–compost blend applications modulate growth, photosynthesis, osmolytes, and antioxidant system of medicinal plant *Alpinia zerumbet*. Frontiers in Plant Science, 12: 707061.

تأثیر آب مغناطیسی شده و هوادهی ریشه بر جذب مواد غذایی توسط گیاهان

محمد رضا جلالی^۱، مینا امانی^{*}

^۱ گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

(Mina76amani@yahoo.com)

چکیده

کمبود آب و بهره‌وری بیش از حد از منابع آب زیرزمینی، به کاهش کمی و کیفی آب منجر شده است و این چالش‌ها در کشاورزی و مدیریت منابع طبیعی به‌طور فزاینده‌ای احساس می‌شود. در این راستا، استفاده از تکنیک‌های نوین مانند آب مغناطیسی و نانو حباب‌ها به عنوان راهکارهایی مؤثر برای بهبود جذب مواد غذایی توسط گیاهان در حال ظهور است. آب مغناطیسی، که تحت تأثیر میدان‌های مغناطیسی قرار گرفته، می‌تواند ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آب را بهبود بخشد و به افزایش رشد گیاهان کمک کند. این نوع آب با افزایش قابلیت حل شدن مواد مغذی، به گیاهان این امکان را می‌دهد که بهتر و سریع‌تر از مواد غذایی موجود در خاک بهره‌برداری کنند. از سوی دیگر، نانو حباب‌ها که حباب‌های بسیار کوچکی هستند، می‌توانند به عنوان حامل مواد مغذی عمل کرده و دسترسی گیاهان به عناصر ضروری را افزایش دهند. همچنین، این نانو حباب‌ها به بهبود اکسیژن‌پذیری آب و افزایش فعالیت میکروبی خاک کمک می‌کنند که این امر به بهبود جذب مواد غذایی منجر می‌شود. به‌طور کلی، ترکیب این دو فناوری می‌تواند به کاهش تنش‌های محیطی و افزایش بهره‌وری کشاورزی کمک کند. بنابراین، تحقیقات بیشتر در این زمینه ضروری است تا از این روش‌ها به‌طور مؤثر در راستای مدیریت منابع آب و بهبود تولید محصولات کشاورزی بهره‌برداری شود.

واژگان کلیدی: آب مغناطیسی، فیتوشیمیایی، فیزیولوژیک، مورفولوژیک، نانو حباب.



۱. مقدمه

همه گیاهان برای رشد مطلوب نیاز به جذب مواد غذایی از خاک طی فرایند فتوسنتز دارند. عمده مواد غذایی موجود در خاک توسط گیاهان جذب نمی شوند. هنگام آبیاری گیاهان با آب معمولی مقدار کمی از عناصر غذایی در آب حل می شوند، در نتیجه به همین نسبت برای گیاهان قابل دسترس خواهند بود. زمانی که گیاه با آب سخت آبیاری شود، لایه ای سفید و سخت از کربنات ها در سطح خاک تشکیل می شود و تنها بخشی از بی کربنات های کلسیمی توسط آب شسته شده و در خاک نفوذ می کند و سپس روی ریشه گیاه نیز نشست می کند. در نتیجه گیاه مجبور است برای ادامه زندگی خود ریشه های اضافی تولید کند که این روند رشد طبیعی گیاه را به خاطر صرف انرژی اضافی مختل می کند. میدان مغناطیسی بر خواص فیزیکی و شیمیایی آب تأثیر می گذارد که به اثرات خاص آن بر یون های محلول، پیوندهای هیدروژنی، خوشه بندی مولکول های آب، ویسکوزیته و کشش سطحی می توان اشاره نمود (Huo *et al.*, 2011). با این حال، در این موضوع، چندین شکاف مفهومی در مورد مکانیسم هایی که فیزیولوژی گیاهان آبیاری شده با آب مغناطیسی شده را تغییر می دهد، وجود دارد. آبیاری با آب مغناطیسی بر ویژگی های رشد گیاه از جمله تراکم ریشه، جوانه زنی بذر ها، رشد ریشه، تولید مثل، رشد سلول های مرستمی و کلروفیل تأثیر می گذارند. محققان نشان داده اند که میدان مغناطیسی ویژگی های غشای سلولی را تغییر می دهد و باعث برخی تغییرات در متابولیسم سلولی می شود. همچنین روی بیان ژن، بیوسنتز پروتئین و فعالیت های آنزیمی مؤثر بوده و عملکرد آن ها را در سطوح اندام و بافت تغییر می دهد. امروزه چالش بزرگ تولید بیشتر مواد غذایی در زمینه ای با آب مصرفی کمتر، تقاضای روزافزون بشر و انتقال فناوری جدید کشاورزی که سبب افزایش عملکرد و پایداری محیط زیست می شود، وجود دارد. در این رابطه، تیمار مغناطیسی آب آبیاری و بذر ها می تواند یکی از امیدوار کننده ترین راه ها در آینده برای بهبود تولید کشاورزی به دلیل سهولت کاربرد و ایمن و سبز بودن این تیمار ها باشد (Teixeira da Silva & Dobránszki 2014).

بحران فعلی آب، محققان را تشویق می کند تا روش های ایمن، قابل دستیابی و اقتصادی را برای تولید محصولات کشاورزی بیابند. با این حال، استفاده از مواد شیمیایی برای افزایش تولید کشاورزی به دلیل اثرات نامطلوب آن مواد شیمیایی بر محیط زیست و سلامت انسان، باز خورد منفی دریافت کرده است. یافتن راهی برای افزایش خواص مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان با کاهش یا محدود کردن استفاده از مواد شیمیایی با همان مقدار آب یا حتی کمتر، می تواند راهی برای مقابله با بحران آب در سراسر جهان باشد. غنی سازی آب با اکسیژن ممکن است راه حلی کلیدی برای روند رشد بیشتر محصولات کشاورزی با همان مقدار آب باشد. اندام های گیاهی مانند ریشه به منظور تنفس هوازی به اکسیژن نیاز دارد. ریشه می تواند از اکسیژن به صورت نامحلول در آب یا به صورت گاز اکسیژن استفاده کند (Hamamoto *et al.*, 2019). اگر چه باید به صورت نامحلول باشد تا بتواند درون سلول های گیاهی مورد استفاده قرار گیرد. زمانی که مقدار اکسیژن موجود در خاک در دماهای بالا به کمتر از غلظت آن در اتمسفر کاهش یابد، مقدار تنفس ریشه نیز به سرعت کاهش می یابد. در چنین شرایطی فشار جزئی اکسیژن به اندازه ای پایین می رود که تولید آدنوزین تری فسفات توسط میتوکندری محدود شده و ATP تولید شده ناشی از فرایند گلیکولیز و تخمیر است. بنابراین مقدار تولید ATP ریشه از ۳۶ مول به ۲ مول بر مول کاهش می یابد. در نتیجه رشد ریشه متوقف و انرژی لازم برای انتقال یون ها وجود نخواهد داشت. در چنین شرایطی نفوذ پذیری ریشه برای آب کاهش و در نهایت عملکرد گیاه

کاهش می یابد (Takahashi *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2020). تنها کاهش اکسیژن به طور مستقیم بر ریشه اثر گذار نیست، بلکه تولید مواد سمی ناشی از متابولیسم غیرهوازی مانند آهن و منگنز دوظرفیتی، آلومینیوم، سولفیدها و مواد آلی اسیدی مانند (استیک، پروپیونیک و بوتریک اسید) و متان رشد ریشه را تحت تأثیر قرار می دهند. بنابراین فقدان اکسیژن در طولانی مدت، رشد ریشه را به دلیل تجمع مواد متابولیکی سمی و فقدان آب و مواد معدنی محدود می کند (Lyu *et al.*, 2019).

۲. مواد و روش ها

۲-۱. تعریف هدف تحقیق

هدف این تحقیق بررسی تأثیرات آبیاری با آب مغناطیسی و غنی سازی آب با اکسیژن بر ویژگی های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاهان است. این تحقیق به دنبال شناسایی مکانیسم های اثر این روش ها بر رشد گیاهان و بهبود عملکرد کشاورزی در شرایط محدودیت منابع آب می باشد.

در این مرحله، یک مرور جامع از ادبیات موجود در زمینه تأثیر میدان مغناطیسی بر خواص فیزیکی و شیمیایی آب و تأثیر آن بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان انجام خواهد شد. همچنین، تأثیر غنی سازی آب با اکسیژن بر تنفس ریشه و متابولیسم سلولی بررسی خواهد شد.

۲-۲. طراحی آزمایش

۲-۲-۱. انتخاب گونه های گیاهی

انتخاب گونه های گیاهی که به طور گسترده در کشاورزی استفاده می شوند و حساسیت های متفاوتی به شرایط آبیاری دارند.

۲-۲-۲. طراحی آزمایش های کنترل

طراحی آزمایش به صورت تصادفی با گروه های کنترل شامل:
آب معمولی (گروه کنترل)، آب سخت (با غلظت بالا از کربنات ها)، آب مغناطیسی (با استفاده از دستگاه های مغناطیسی برای مغناطیسی کردن آب)، آب غنی شده با اکسیژن (با استفاده از روش های غنی سازی اکسیژن)

۲-۳. روش های آبیاری

۲-۳-۱. آبیاری با آب معمولی

استفاده از آب معمولی به عنوان گروه کنترل برای مقایسه.

۲-۳-۲. آبیاری با آب سخت

شبیه سازی شرایط نامطلوب با استفاده از آب با غلظت بالای کربنات ها.

۲-۳-۳. آبیاری با آب مغناطیسی

استفاده از دستگاه‌های مغناطیسی برای مغناطیسی کردن آب قبل از آبیاری و بررسی اثرات آن.

۴-۳-۲. آبیاری با آب غنی شده با اکسیژن

غنی سازی آب با اکسیژن قبل از آبیاری با استفاده از روش های فیزیکی و شیمیایی مناسب.

۴-۲. جمع آوری داده ها

۱-۴-۲. اندازه گیری ویژگی های رشد

اندازه گیری پارامترهای مورفولوژیکی شامل تراکم ریشه، ارتفاع گیاه، تعداد برگ و وزن خشک.

۲-۴-۲. تحلیل متابولیسم

بررسی تغییرات در بیان ژن های مرتبط با متابولیسم، بیوسنتز پروتئین و فعالیت های آنزیمی با استفاده از تکنیک های مولکولی مانند PCR و الکتروفورز.

۳-۴-۲. اندازه گیری تولید ATP

ارزیابی میزان تولید ATP در ریشه ها با استفاده از روش های بیوشیمیایی استاندارد.

۳. نتایج

در این مقاله مروری، تأثیرات آبیاری با آب مغناطیسی و غنی سازی آب با اکسیژن بر ویژگی های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاهان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از مرور ادبیات و مطالعات پیشین به شرح زیر است:

۱-۳-۳. تأثیر آب مغناطیسی بر رشد گیاهان

مطالعات نشان داده اند که آبیاری با آب مغناطیسی می تواند بهبود قابل توجهی در ویژگی های رشد گیاهان از جمله تراکم ریشه، جوانه زنی بذرها و تولید کلروفیل ایجاد کند. میدان مغناطیسی به طور مثبت بر خواص فیزیکی و شیمیایی آب تأثیر می گذارد و باعث افزایش دسترسی گیاهان به مواد مغذی می شود.

۲-۳-۳. تأثیر غنی سازی آب با اکسیژن

غنی سازی آب با اکسیژن به عنوان یک روش مؤثر در افزایش تنفس ریشه و بهبود متابولیسم سلولی شناخته شده است. این عمل باعث افزایش تولید ATP در ریشه ها می شود که به نوبه خود به رشد بهتر ریشه و افزایش جذب آب و مواد مغذی کمک می کند.

۳-۳. کاهش اثرات منفی آب سخت



آبیاری با آب سخت منجر به تشکیل لایه های کربناتی در سطح خاک و کاهش نفوذپذیری ریشه می شود. استفاده از آب مغناطیسی و غنی شده با اکسیژن می تواند اثرات منفی آب سخت را کاهش دهد و به بهبود عملکرد گیاهان در شرایط نامطلوب کمک کند.

۴-۳. تأثیر بر متابولیسم گیاه

میدان مغناطیسی و غنی سازی با اکسیژن تأثیرات مثبتی بر بیان ژن ها، بیوسنتز پروتئین ها و فعالیت های آنزیمی دارند. این تغییرات متابولیکی می توانند به بهبود عملکرد گیاهان در شرایط کم آبی و تنش های محیطی کمک کنند.

۴. بحث و نتیجه گیری

میدان های مغناطیسی یکی از فاکتورهای فیزیکی است که میتواند روی رشد و نمو و فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان تأثیر داشته باشد (Bakherad *et al.*, 2017; Gilani *et al.*, 2017). میدان های مغناطیسی با افزایش فعالیت رادیکال های آزاد، تغییر جریانات یونی غشای پلاسمایی و فرایندهای نقل و انتقال یون ها روی ارگانسیم های زنده تأثیر دارند (Wang *et al.*, 2018). اثرات میدان مغناطیسی بستگی به شدت و فرکانس میدان، مدت زمان تیماردهی، نوع موجود زنده و سایر عوامل دارد. اخیراً از فاکتورهای فیزیکی نظیر میدان مغناطیسی برای افزایش رشد و تولید متابولیت های ثانویه در گیاهان استفاده می شود. از این رو، تأمین آب مغناطیسی در گیاهان تأثیرات افزایشی بر رشد و توسعه دارد. چندین محقق گزارش کرده اند که قرار گرفتن در معرض میدان مغناطیسی آب آبیاری، سبب افزایش در بهره وری و تغییرات در آب و متابولیسم مواد معدنی گیاه می شود (Maheshwari & Grewal 2009; Hozayn *et al.*, 2013; Mahmood & Usman, 2014). استفاده از سیلیکات آبدار همراه با آب مغناطیسی باعث افزایش ریشه، ساقه، وزن تر ریشه و وزن خشک ساقه در گیاه شاهی می شود (Ahmadee *et al.*, 2014). در پژوهشی از آب مغناطیسی برای آبیاری گیاه همیشه بهار استفاده شد و نتایج نشان داد که اعمال میدان های مغناطیسی (۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ گاوس) بر وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع، تعداد برگ، تعداد گل و قطر گل اثری مثبت و معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد داشته است (Safana, 2017).

تنفس ریشه، نیروی محرکی برای اغلب فعالیت های متابولیک ریشه و رشد اندام هوایی گیاه است. تأمین اکسیژن برای اطمینان از تنفس کافی ریشه، به فرایندهای پخش اکسیژن در محیط ریشه بستگی دارد (Ahmed *et al.*, 2018). غلظت کم اکسیژن در ناحیه ریشه در اثر شوری، تراکم، سدیمی شدن ناحیه ریشه و آبیاری در خاک های مختلف به عنوان تنگناهای بزرگ دستیابی به حداکثر ظرفیت تولید شناخته شده اند (Hamamoto *et al.*, 2019). مطالعات تجربی و نظری به طور مداوم پیشنهاد نموده اند که در شرایط کمبود اکسیژن در محیط ریشه افزایش غلظت اکسیژن به طور معناداری، افزایش عملکرد گیاه را به همراه دارد (Hamamoto *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2020).

اندازه گیری میزان اکسیژن موجود در ناحیه توسعه ریشه گیاه نشان داد که مقدار اکسیژن موجود در خاک همبستگی بالایی با عملکرد گیاه دارد. به طوری که ریشه گیاه نمی تواند در خاکی که میزان اکسیژن آن کمتر از ۱۰ درصد باشد، رشد



کند (Liu et al., 2016). همچنین مطالعات انجام شده نشان داد که در صورتیکه مقدار اکسیژن خاک کمتر از ۱۰ درصد کل حجم خاک باشد، بسته شدن کامل روزنه‌ها و توقف فتوسنتز کاملاً مشهود می‌باشد. به‌طوری که در مطالعه‌ای نشان داده شد که در ساعاتی که خاک غرقاب می‌شود، غلظت اکسیژن در همه اعماق نمونه‌برداری به مقداری کمتر از سطح بحرانی کاهش پیدا می‌کند. در کشاورزی مبتنی بر آبیاری، گیاهان در مراحل مختلف رشد، در معرض اشباع قرار می‌گیرند که به نوع خاک، عمق و دور آبیاری بستگی دارد (Takahashi et al., 2021).

در طول عملیات آبیاری، آب، هوا را به داخل خلل و فرج‌ها هدایت می‌کند و هوای به دام انداخته شده، می‌تواند توسط ریشه‌های تنفس‌کننده زیر ناحیه غرقابی استفاده شود. این درحالی است که مطالعات نشان داد که گیاهان تحت آبیاری شیاری از کمبود اکسیژن بعد از آبیاری، به ویژه در خاک‌های سنگین رنج می‌برند. کمبود اکسیژن خاک، جذب فعال مواد غذایی را نیز کاهش می‌دهد. به‌طوری که میزان جذب نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منگنز با کاهش هوا به شدت کاهش یافت، زیرا تری فسفات آدنوزین سلولی تولید شده از طریق تنفس غیرهوازی نمی‌تواند انرژی لازم برای جذب مواد را تأمین کند (Zhou et al., 2019). در کوتاه‌مدت، کمبود اکسیژن در محیط ریشه سبب محدود شدن رشد برگ و طویل شدن ساقه می‌شود که این امر به دلیل کمبود در جذب نیتروژن است. کاهش جذب مواد غذایی می‌تواند هم به دلیل اثرات مستقیم کمبود اکسیژن روی انتقال و جذب مواد غذایی و همچنین به دلیل تأثیر کمبود اکسیژن روی سایر خصوصیات خاک مانند اسیدیته رخ دهد (Zhou et al., 2020).

مطالعات نشان داده‌اند که سطوح مناسب ROS می‌تواند به‌عنوان مولکول سیگنال‌دهنده در گیاه عمل کند و می‌تواند باعث رشد گیاه در آب تیمار شده با نانوحباب شود (Wang et al., 2020). از تحقیقات قبلی می‌توان دریافت که هوادهی نه تنها اکسیژن محلول را افزایش می‌دهد، بلکه جریان و گردش محلول غذایی را با جریان حباب افزایش می‌دهد. مطالعات قبلی تحقیقات عمیقی را در مورد افزایش اکسیژن محلول ناشی از هوادهی انجام داده‌اند. هوادهی به‌عنوان وسیله‌ای برای کنترل محیط یک محلول مغذی، که می‌تواند غلظت اکسیژن محلول را افزایش دهد و گردش محلول را بهبود بخشد، که نیاز به مطالعه بیشتر دارد.

منابع

- Ahmadee, M., Khashei Siuki, A., and Hashemi, S.R. (2014). The effect of magnetic water and calcic and potasic zeolite on the yield of (*Lepidium Sativum* L.). International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research, 2(6): 2051-2060.
- Ahmed, A.K.A., Sun, C.Z., Hua, L.K., Zhang, Z.B., Zhang, Y.H., Marhaba, T., and Zhang, W. (2018). Colloidal properties of air, oxygen, and nitrogen nanobubbles in water: effects of ionic strength, natural organic matters, and surfactants. Environmental Engineering Science, 35: 720-727.
- Bakherad, M., Doosti, R., Keivanloo, A., Gholizadeh, M., and Jadidi, Kh. (2017). Rapid, green, and catalyst-free one-pot three-component syntheses of 5-substituted 1h-tetrazoles in magnetized water. Journal Iranian Chemical Society, 14(12): 2591-2597.
- Gilani, A., Kermanshahi, H., Gholizadeh, M., and Golian, A. (2017). Agricultural water management through magnetization of irrigation and drinking water: A Review. Journal of Aridland Agriculture, 3: 23-27.



- Hamamoto, S., Sugimoto, T., Takemura, T., Nishimura, T., and Bradford, S.A. (2019). Nanobubble retention in saturated porous media under repulsive van der Waals and electrostatic conditions. *Langmuir*, 35: 6853–6860.
- Hozayn, M., Abd-El Monem, A.A., Abdelraouf, R.E., and Abdalla, M. (2013). Do magnetic water affect water efficiency, quality and yield of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plant under arid regions conditions? *Journal of Agronomy*, 12: 1-10.
- Huo, Z.F., Zhao, Q., and Zhang, Y.H. (2011). Experimental study on effects of magnetization. Ikeura, H., Tsukada, K., Tamaki, M., 2017. Effect of microbubbles in deep flow hydroponic culture on spinach growth. *J. Plant Nutr.* 40, 2358–2364.
- Liu, S., Kawagoe, Y., Makino, Y., and Oshita, S. (2013). Effects of nanobubbles on the physicochemical properties of water: the basis for peculiar properties of water containing nanobubbles. *Chemical Engineering Science*, 93: 250-256.
- Liu, S., Oshita, S., Kawabata, S., Makino, Y., and Yoshimoto, T. (2016). Identification of ROS produced by nanobubbles and their positive and negative effects on vegetable seed germination. *Langmuir*, 32: 11295–11302.
- Lyu, T., Wu, S., Mortimer, R.J.G., and Pan, G. (2019). Nanobubble technology in environmental engineering: revolutionization potential and challenges. *Environmental Science & Technology Journal*, 53: 7175–7176.
- Maheshwari, B.L., and Grewal, H.S. (2009). Magnetic treatment of irrigation water: Its effects on vegetable crop yield and water productivity. *Agricultural Water Management*, 96: 1229-1236.
- Mahmood, S., and Usman, M. (2014). Consequences of magnetized water application on maize seed emergence in sand culture. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 16: 47-55.
- Safana H.S. (2017). Effect of magnetized water and spraying of IBA on the growth and flowering of *Calendula officinalis* L. *Kufa Journal for Agricultural Science*, 9(1): 87-103.
- Takahashi, M., Shirai, Y., and Sugawa, S. (2021). Free-radical generation from bulk nanobubbles in aqueous electrolyte solutions: ESR spin-trap observation of microbubble-treated water. *Langmuir*, 37: 5005-5011.
- Teixeira da Silva, J.A., and Dobranszki, J. (2016). Magnetic fields: how is Plant growth and development impacted? *Protoplasma*, 253: 231-248.
- Wang, S., Liu, Y., Li, P., Wang, Y., Yang, J., and Zhang, W. (2020). Micro-nanobubble aeration promotes senescence of submerged macrophytes with low total antioxidant capacity in urban landscape water. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 6: 523–531.
- Wang, Y., Wei, H., and Li, Z. (2018). Effect of magnetic field on the physical properties of water. *Results in Physics*, 8: 262-267.
- Zhou, Y., Bastida, F., Zhou, B., Sun, Y., Gu, T., Li, S., and Li, Y. (2020). Soil fertility and crop production are fostered by micro-nano bubble irrigation with associated changes in soil bacterial community. *Soil Biology and Biochemistry*, 1411: 107663.
- Zhou, Y., Li, Y., Liu, X., Wang, K., and Muhammad, T. (2019). Synergistic improvement in spring maize yield and quality with micro/nanobubbles water oxygenation. *Scientific Reports*, 9: 5226.

مقایسه عملکرد سیستم آنتی اکسیدانت اکوتیپ های گیاه دارویی *Nepeta Crassifolia* تحت تنش شدت نور بالا و پرتو فرابنفش

زهرا متکی^۱ و قادر حبیبی^{۱*}

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران (ghabibi@pnu.ac.ir)

چکیده

نور و پرتو فرابنفش (UVB) دو عامل مهم و تأثیر گذار بر رشد، بهره‌وری و فتوسنتز گیاهان عالی هستند که تنش‌هایی را در گیاهان القا می‌کنند. در این شرایط، گیاهان برای جلوگیری از اثرات مضر شدت بالای تابش نور، سازگاری‌های دفاعی ایجاد کرده‌اند که به عنوان مکانیسم‌های حفاظت نوری تعریف می‌شوند. در این مطالعه برای اولین بار، نقش تنش نور زیاد و UVB بر تنظیم پاسخ‌های آنتی اکسیدانت در گیاهان دارویی *Nepeta Crassifolia* بررسی شد. گیاهان *Nepeta Crassifolia* ساکن ارتفاعات بالا بویژه تحت تنش + UVB15 و HL نور بالا و UVB، با واسطه ساز و کارهای مانند افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز موفق به حفظ عملکرد فتوشیمیایی شدند یافته‌های حاضر اطلاعات مهمی درباره ساز و کارهای دخیل در حفاظت نوری گیاه *Nepeta Crassifolia* در برابر تنش‌های نوری ارائه می‌کند که آسیب به گیاهان را به حداقل رسانده و منجر به انتخاب اکوتیپ‌های مقاوم به شرایط تنش با ترکیبات مؤثره بیشتر به منظور استفاده‌های علمی، کشاورزی و صنعتی می‌شود.

واژگان کلیدی: آسیب نوری، پرتو فرابنفش، عملکرد سیستم آنتی اکسیدانت، *Nepeta Crassifolia*



۱. مقدمه

جنس *Nepeta* شامل گیاهان علفی چند ساله و یک ساله از خانواده Lamiaceae است که در اروپای مرکزی و جنوبی، آسیای غربی، مرکزی و جنوبی، آفریقا و آمریکای شمالی پراکنش دارد (Dinic et al., 2020). گونه *Nepeta crassifolia* دارای بیشترین رویشگاه و درصد پوشش و فراوانی در استان مازندران است. این گونه در ارتفاعات ۳۳۰۰-۱۵۰۰ متری از سطح دریا در مناطق با اقلیم نیمه مرطوب سرد تا فرا سرد و مدیترانه‌ای سرد تا فرا سرد با متوسط بارندگی ۶۵۰-۳۵۰ میلیمتر می‌روید. کمیت و کیفیت مواد مؤثره یک گیاه در رویشگاههای مختلف متفاوت است و همبستگی بالایی بین منشأ جغرافیایی گیاهان و مواد مؤثره وجود دارد (Rafati et al., 2023). قرار گرفتن بیش از حد در معرض نور، باعث تجمع آنتی اکسیدان‌ها و رنگیزه‌های غیر فتوسنتزی مانند ترکیبات فنلی در برگ‌ها به منظور کاهش آسیب نوری، می‌شود (Shi et al., 2022). به دلیل وجود ساختارهای حلقوی، فلاونوئیدها توانایی جذب الکترون‌های اضافی دارند که آنها را قادر می‌سازد تا به عنوان جاروب کننده‌های غیر آنزیمی ROS عمل کنند و می‌توانند در برابر آسیب نوری، به ویژه ناشی از پرتو فرابنفش، از گیاه محافظت کنند (Shi et al., 2022). به منظور کاهش اثرات منفی تنش UV-B، گیاهان سیستم‌های جاروب ROS آنزیمی را نیز فعال می‌سازند (Singh et al., 2023). در واقع بین فعالیت سیستم آنتی اکسیدان و میزان مقاومت به UV-B ارتباط مستقیمی وجود دارد که می‌توان آن را جزء مکانیسم‌های مهم حفاظت نوری دانست و از طریق بررسی آن به میزان حفاظت گیاه از خود در برابر تنش پی برد (Shi et al., 2022).

هدف اصلی این تحقیق، معرفی سازو کارهای حفاظت نوری در اکوتیپ‌های مختلف گونه نپتا کراسی فولیا است که توسط بررسی فعالیت سیستم آنتی اکسیدانت و آنزیم‌های دخیل در جاروب ROS و بررسی ترکیب شاخص در پراکسیداسیون چربی و میزان آسیب به غشای تیلاکوئیدی و مطالعه نقش آن در حفاظت نوری اکوتیپ‌ها صورت گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

بذرهای جمع آوری شده نپتا کراسی فولیا از ارتفاع پایین (۲۴۰۰ متر) و بالا (۳۵۰۰ متر) (*Nepeta Crassifolia*) در گلدان‌های پلاستیکی به عمق ۴۰ سانتی متر و قطر ۳۰ سانتی متر و حاوی خاک ماسه‌ای پرلیت‌دار به مدت ۱۲ هفته کشت شدند و هر ۷ روز یک بار با آب مقطر آبیاری شدند. گیاهان به شرایط نرمال اتاق رشد شامل دوره نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی و دمای روز ۲۵ و شب ۱۸ درجه سانتی گراد منتقل شدند. گیاهان انتخاب شده به مدت ۱۰ روز با شدت نور ۴۰۰ (اندازه‌گیری شده با کوآنتوم سنسور متصل به دستگاه Leaf Chamber Analyser, ADC, UK) و ۸۰۰ و همچنین با پرتو فرابنفش با دز ۱۵ و ۳۰ کیلوژول بر متر مربع در روز تیمار شدند. سنجش بر روی نمونه‌های تازه برداشت شده و یا نگهداری شده در نیتروژن مایع انجام شد.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) بر اساس درصد ممانعت از احیاء نیتروبلوترازولیوم (NBT) به ترکیب ارغوانی رنگ دیفورمازان بوسیله رادیکال سوپراکسید حاصل از فتولیز ریوفلاوین، توسط آنزیم موجود در عصاره مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Giannopolitis and Ries, 1977). نمونه‌ها بلافاصله پس از برداشت در نیتروژن مایع، پودر شده و



عصاره آنزیمی در بافر 25 mM از هیدروکسی اتیل پیرازین اتان سولفونیک اسید (HEPES) با $\text{pH}=7.8$ و حاوی اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) با غلظت ۰/۱ میلی مولار استخراج شد. عصاره ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و محلول رویی برای سنجش فعالیت مورد استفاده قرار گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به یک میلی لیتر از محلول واکنشی اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در شدت نور ۱۵۰ میکرومول/مترمربع/ثانیه به منظور انجام واکنش قرار گرفت. برای تهیه نمونه های شاهد مخلوط فوق بدون افزودن عصاره آنزیمی تهیه گردید و جذب نمونه ها در ۵۶۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (SPECORD 50 PLUS, Analytikjena, Germany) اندازه گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم بر اساس غلظت پروتئین آنزیمی لازم برای القاء ۵۰ درصد ممانعت از احیاء NBT در مقایسه با نمونه های شاهد بدون عصاره آنزیمی محاسبه شده و به صورت واحد فعالیت بر میلی گرم پروتئین بیان گردید.

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) مطابق روش (Simon و همکاران، ۱۹۷۴)، بر اساس کاهش جذب پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در ۲۴۰ نانومتر مورد اندازه گیری قرار گرفت. عصاره آنزیمی پس از پودر شدن نمونه ها در ازت مایع، در بافر فسفات با غلظت 50 mM و $\text{pH}=7$ استخراج شده و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ (در دستگاه یخچال دار) گردید. برای سنجش فعالیت آنزیم غلظت مناسبی از عصاره به محلول واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار ($\text{pH}=7$) و ۱۰ میلی مولار از H_2O_2 افزوده شده و تغییرات جذب به مدت دو دقیقه توسط اسپکتروفتومتر مورد اندازه گیری قرار گرفت. در نهایت فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول پراکسید هیدروژن بر میلی گرم پروتئین در دقیقه محاسبه گردید.

سنجش محتوای مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان معیاری برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها بر اساس روش (Boominathan و Doran 2002) صورت گرفت. عصاره برگ در محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید (TCA) استخراج شده و به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. نسبت ۱ به ۴ از محلول رویی با محلول ۲۰ درصد از تری کلرواستیک اسید حاوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک اسید در لوله آزمایش با هم مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس لوله ها به سرعت در یخ سرد شده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شدند. هم زمان با عصاره های برگ محلول های استاندارد در محدوده صفر تا ۱۰۰ نانومول از ۱،۳،۳،۱- تترا اتوکسی پروپان تهیه شده و جذب نمونه ها در ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مورد اندازه گیری قرار گرفت. در نهایت غلظت مالون دی آلدئید نمونه ها بر حسب نانومول بر گرم وزن تر محاسبه شد.

غلظت پراکسید هیدروژن (H_2O_2) بر اساس روش (Velikova و همکاران، ۲۰۰۰) به دست آمد. محلول استخراج برگ ها محلول تری کلرواستیک اسید (۰/۱ درصد وزنی به حجمی) بود. عصاره ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و روشناور مورد استفاده قرار گرفت. ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره به یک میلی لیتر از محلول واکنشی شامل ۱۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم ($\text{pH}=7$) و یک مولار یدید پتاسیم اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی به منظور انجام واکنش قرار گرفت. جذب نمونه ها در ۳۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. مقادیر بر اساس منحنی استاندارد H_2O_2 در محدوده صفر تا ۵۰ نانومول محاسبه شد.



۳. نتایج

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در گیاهان جمع آوری شده از مناطق کم ارتفاع، تحت اعمال تیمارهای UVB در مقایسه یا شاهد تغییر نکرد و فقط تحت تأثیر اعمال نور زیاد به تنهایی افزایش معنی داری نشان داد (شکل A۱). در اکوتیپ‌های مناطق مرتفع نیز فعالیت آنزیم SOD فقط تحت تأثیر تیمار UVB30+HL افزایش معنی داری پیدا کرد و در باقی تیمارها از جمله نور کم تغییری نسبت به گیاه شاهد نشان نداد (شکل B۱). بنابراین گیاهان مناطق کم ارتفاع و مرتفع تحت نور کم پاسخی مشابه گیاهان شاهد در میزان فعالیت SOD از خود نشان دادند.

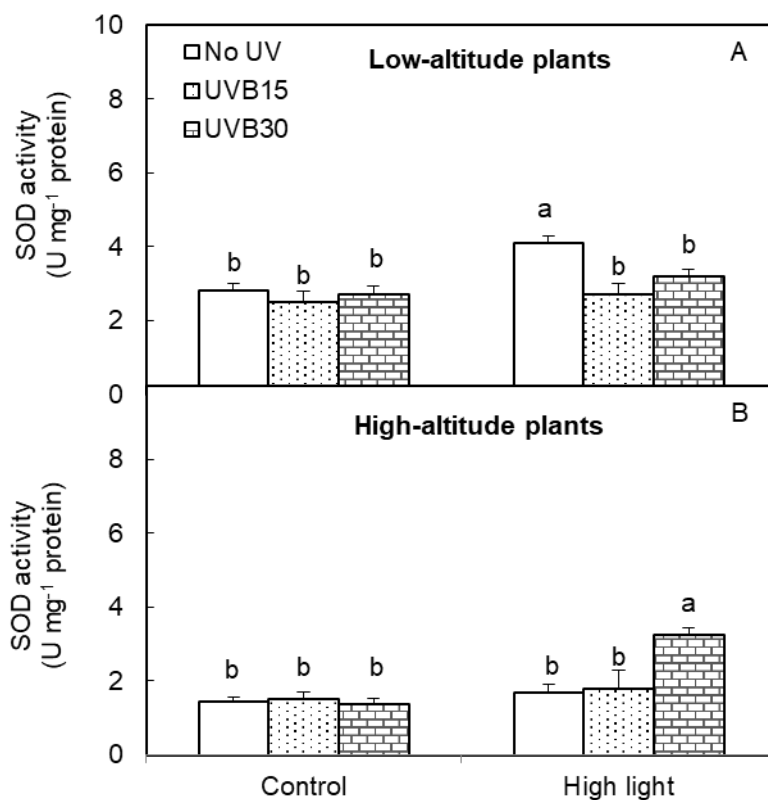
قرار گرفتن گیاهان مناطق مرتفع در معرض تنش UVB30 و تنش ترکیبی UVB+HL، منجر به افزایش معنی دار (در سطح احتمال ۵ درصد) فعالیت کاتالاز (CAT) شد. گیاهان مناطق کم ارتفاع فقط تحت تیمار UVB30 در نور کم و تنش نور زیاد به تنهایی، افزایش فعالیت کاتالاز از خود نشان دادند. می توان گفت الگوی فعالیت کاتالاز تحت تنش ها در گیاهان کم ارتفاع مشابه گیاهان مناطق مرتفع است. به طور کلی فعالیت کاتالاز تحت اعمال تنش ها، در گیاهان مرتفع بیشتر از گیاهان کم ارتفاع است (شکل ۲).

گیاهان جمع آوری شده از مناطق کم ارتفاع فقط در پاسخ به تیمار ترکیبی UVB30+HL میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) خود را افزایش دادند اما فعالیت APX در برگ های گیاهان مرتفع تحت تأثیر تنش های نور زیاد به تنهایی، UVB30 به تنهایی و تنش های ترکیبی UVB+HL، افزایش معنی داری پیدا کرد (شکل ۳).

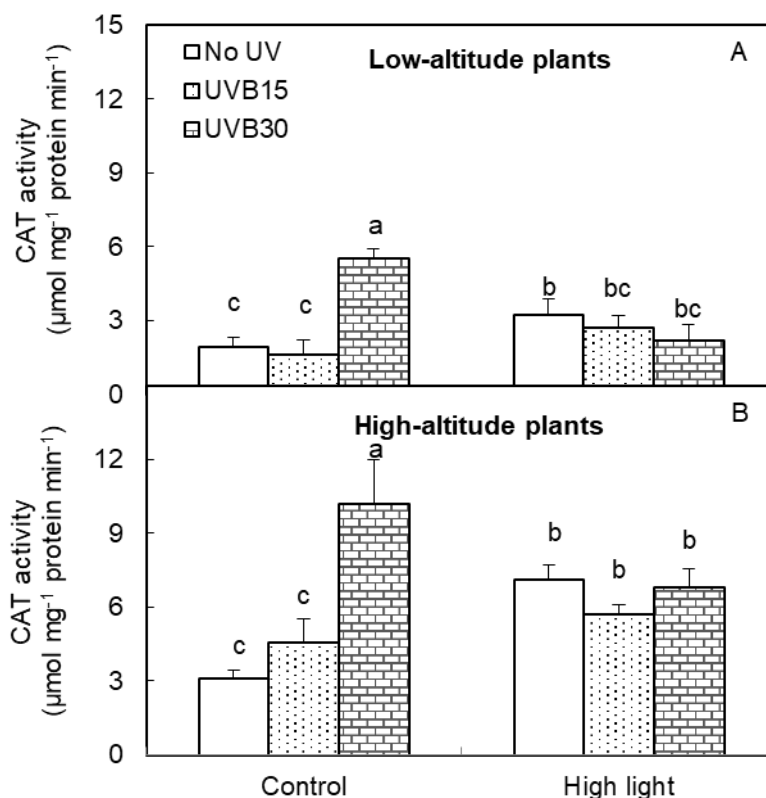
محتوای مالون دی آلدئید (MDA) در گیاهان مناطق کم ارتفاع تحت تأثیر تنش های نور زیاد به تنهایی، UVB30 به تنهایی و تنش UVB30+HL افزایش معنی داری (سطح چند درصد) پیدا کرد اما مقدار MDA در تیمارهای گیاهان مناطق مرتفع بجز افزایش تحت تیمار UVB30+HL، در مقایسه با شاهد تغییری نشان نداد (شکل ۴).

گیاهان مناطق مرتفع تحت تنش های UVB به تنهایی یا تنش ترکیبی UVB+HL، میزان فعالیت آنزیم های CAT و APX را در مقادیر بالا حفظ کردند که منجر به کاهش محتوای مالون دی آلدئید (MDA) شد که تأیید کننده این موضوع است که تنش اکسیداتیو توسط تیماردهی UVB تقویت نشد.

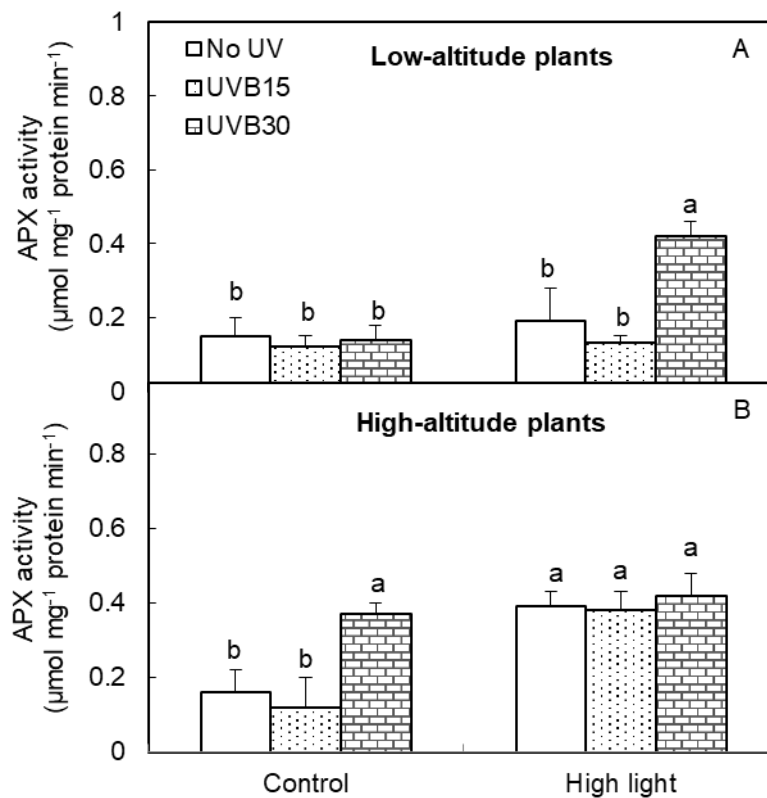
مقدار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در گیاهان کم ارتفاع تحت تأثیر تیمارهای ترکیبی UVB+HL افزایش معنی داری نشان داد اما در باقی تیمارها نسبت به شاهد تغییری نداشت. در گیاهان مناطق مرتفع مقدار H_2O_2 تحت تأثیر اعمال تنش های نور زیاد به تنهایی، UVB30 به تنهایی و تنش های ترکیبی UVB+HL افزایش معنی داری نشان داد (شکل ۵).



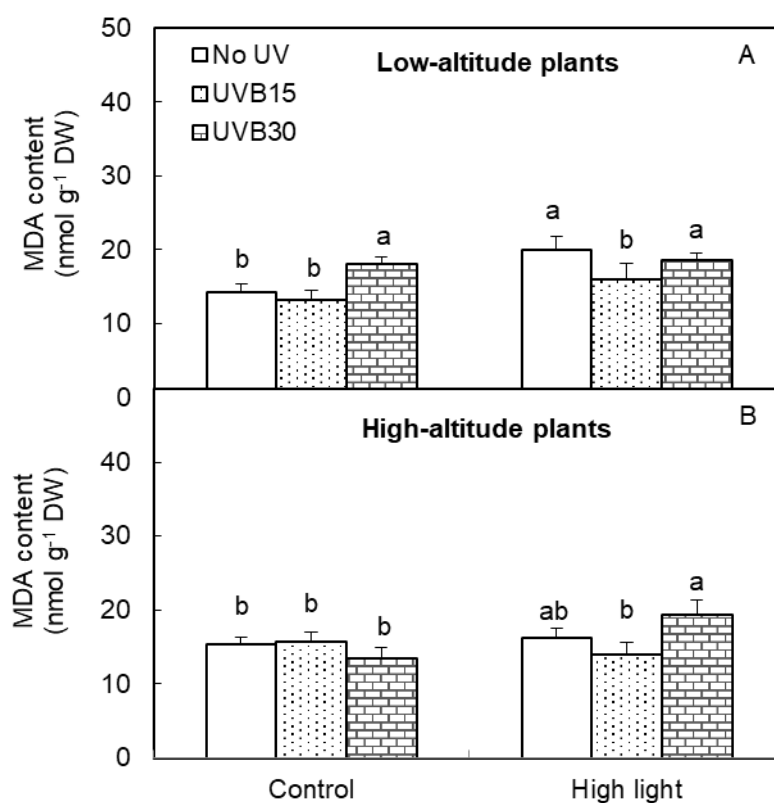
شکل (۱) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB)، نور زیاد (HL) و ترکیبی از نور زیاد و UVB (UVB+HL) بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در برگ‌های اکوتیپ‌های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Nepeta crassifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده‌ها میانگین ۴ تکرار هستند.



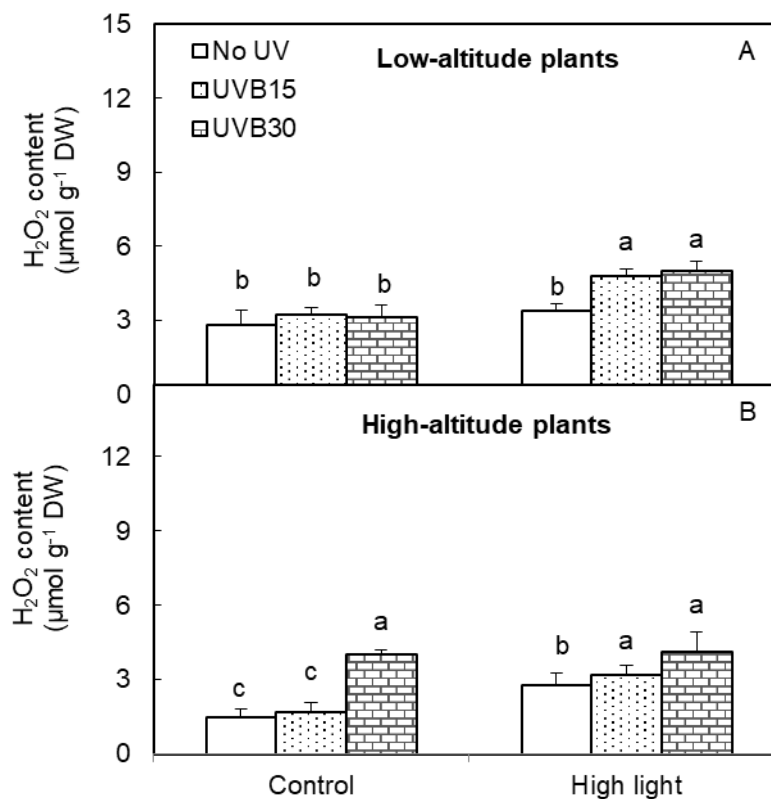
شکل (۲) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB)، نور زیاد (HL) و ترکیبی از نور زیاد و UVB (UVB+HL) بر فعالیت کاتالاز (CAT) در برگ های اکوتیپ های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Nepeta crassifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده ها میانگین ۴ تکرار هستند.



شکل (۳) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB)، نور زیاد (HL) و ترکیبی از نور زیاد و UVB (UVB+HL) بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX) در برگ های اکوتیپ های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Nepeta crassifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده ها میانگین ۴ تکرار هستند.



شکل (۴) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB)، نور زیاد (HL) و ترکیبی از نور زیاد و UVB (UVB+HL) بر محتوای مالون دی آلدئید (MDA) در برگ های اکوتیپ های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Nepeta crassifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده ها میانگین ۴ تکرار هستند.



شکل (۵) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB)، نور زیاد (HL) و ترکیبی از نور زیاد و UVB (UVB+HL) بر محتوای پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در برگ های اکوتیپ های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Nepeta crassifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده ها میانگین ۴ تکرار هستند.

۴. بحث و نتیجه گیری

گیاهان از طریق تجمع و سنتز آنزیم های آنتی اکسیدانی و متابولیت های ثانویه مانند اسید آسکوربیک، بتاکاروتن، فلاونوئیدها و برخی آلکالوئیدها استرس اکسیداتیو را تعدیل می کنند. سیستم دفاعی آنزیمی آنتی اکسیدانی گیاه از مهم ترین و فعال ترین ساز و کارهای جلوگیری از تجمع ROS تحت تنش است. آنزیم های آنتی اکسیدانی می توانند تعیین کننده سطح تنش اکسیداتیو باشند. به همین منظور سطح فعالیت آنزیم های SOD، CAT و APX در تنش های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت و نشان داد که فعالیت آنها بر اساس اکوتیپ و نوع تیمار متفاوت است. به طور کلی مقدار فعالیت CAT و APX در



اکوتیپ های مرتفع بیشتر از اکوتیپ های کم ارتفاع بود که نشان دهنده فعالیت بیشتر این سیستم در جلوگیری از مهار و آسیب نوری در گیاهان مرتفع است. (Wu و همکاران، ۲۰۲۱) در گیاه *Lonicera japonica* همچنین (Peng و همکاران، ۲۰۲۱) در گیاه *Angelica sinensis* نتایج مشابهی را بعد از تیمار UVB با افزایش فعالیت CAT مشاهده کرده اند. در گیاهان مناطق مرتفع فعالیت دو آنزیم CAT و APX در همه تیمارها بجز UV15 در مقایسه با شاهد افزایش معنی داری یافته است که بدنبال افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاهان مرتفع، شاهد عدم افزایش مالون دی آلدئید در همه تیمارها بجز UV30+HL هستیم. بافت ها و سلول های گیاهی در برابر آسیب های ناشی از تنش اکسیداتیو UVB، از طریق تنظیم مثبت آنزیم های آنتی اکسیدانی محافظت می شوند (Peng et al., 2021).

همچنین در گیاهان مناطق مرتفع شاهد افزایش H_2O_2 بودیم که با نقش سیگنال دهنده گی خود در شرایط تنش (Habibi, 2014) می تواند منجر به افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی شده و در نتیجه به حفاظت گیاه از پیامدهای آسیب نوری کمک کند. در این مطالعه نشان داده شد که تحت تابش UVB، افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی روشی برای سازگاری با شرایط تنش است که با اثر هم افزایی به جاروب ROS پرداخته (Peng et al., 2021) و مانع از پراکسیداسیون لیپیدهای غشا شده اند. در واقع، گیاهان مناطق مرتفع، با افزایش قابل توجه سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی (شامل آنزیم های CAT و APX) و غیر آنزیمی (ترکیبات فنلیک مانند فلاونوئیدها، اسید رزمارینیک و ...) تحمل بیشتری نسبت به گیاهان مناطق کم ارتفاع طی تنش ایجاد کرده اند و از پراکسیداسیون لیپید غشایی ممانعت کرده که در نتیجه این فرایندها، شاخص فعالیت فتوشیمیایی در تیمارهای مرتفع یعنی F_v/F_m و F_v/F_o (Kamran et al., 2020) حفظ شده و عملکرد فتوسیستم ها در این گیاهان بهبود یافته است. تنها تیماری که در گیاهان مرتفع دچار افزایش MDA و در نتیجه آسیب نوری شده و عملکرد فتوسیستم ها در آن کاهش یافته است، UVB30+HL بود که با وجود تلاش گیاه برای حفظ عملکرد خود از طریق افزایش H_2O_2 (Yang et al., 2020; Campos et al., 2023) و پرولین و آنزیم های آنتی اکسیدانی SOD، CAT و APX و همچنین افزایش فعالیت آنزیم PAL و در نتیجه افزایش فلاونوئیدها بعنوان آنتی اکسیدان غیر آنزیمی، موفق نشده است. این امر نشان می دهد گیاه *Nepeta crassifolia* در مناطق مرتفع تحت تنش ترکیبی شدت نور بالا و UVB30، بدلیل بالا بودن دوز ۳۰ پرتو فرابنفش ایجاد تنش نموده و با وجود افزایش فعالیت ساز و کارهای حفاظت نوری، گیاه نهایتاً دچار مهار نوری می شود. در مقابل در گیاهان مرتفعی که تحت تنش UVB30+HL بودند به دلیل کمتر بودن شدت پرتو فرابنفش با دوز ۱۵، گیاه با ساز و کارهای دخیل برای حفاظت نوری توانسته است تنش را مدیریت و از مهار نوری جلوگیری کند.

در گیاهان جمع آوری شده از مناطق کم ارتفاع آنزیم های آنتی اکسیدانی افزایش قابل توجهی نداشتند، با وجود افزایش فعالیت آنزیم PAL و در نتیجه افزایش فلاونوئیدها بعنوان آنتی اکسیدان غیر آنزیمی، دچار کاهش شاخص های عملکرد فتوشیمیایی یعنی F_v/F_m که از شاخص های مهم جهت تعیین مقاومت به انواع تنش است و کاهش F_v/F_o و کاهش عملکرد فتوسیستم ها و افزایش H_2O_2 در تیمارهای ترکیبی شدند که در نهایت منجر به افزایش MDA و در نتیجه مهار نوری PSII شده است.

منابع



- Boominathan, R., Doran, P.M. (2002) Ni induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertoloni*. New Phytologist, 156: 202-205.
- Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.
- Campos, F. G., Dantas, M. O., Santos, J. P., Froes, S. S., Gama, J. P., Boaro, C. S. (2023). UV-B Radiation in the Acclimatization Mechanism of *Psidium guajava* in Sunlight. Horticulturae, 9(12): 1291.
- Dinić, J., Novaković, M., Pešić, M. (2020). Potential for cancer treatment: natural products from the Balkans. In *Biodiversity and Biomedicine* (pp. 137-159). Academic Press.
- Giannopolitis, C.N., Ries, S.K. (1977) Superoxide dismutase: occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.
- Habibi, G. (2014). Hydrogen peroxide (H₂O₂) generation, scavenging and signaling in plants. In *Oxidative damage to plants* (pp. 557-584). Academic Press.
- Johnson, C.M., Stout, P.R., Broyer, T.C. and Carlton, A.B. (1957) Comparative chlorine requirements of different plant species. Plant Soil 8: 337-353.
- Kamran, M., Xie, K., Sun, J., Wang, D., Shi, C., Lu, Y., ..., Xu, P. (2020). Modulation of growth performance and coordinated induction of ascorbate-glutathione and methylglyoxal detoxification systems by salicylic acid mitigates salt toxicity in choysum (*Brassica parachinensis* L.). *Ecotoxicology and environmental safety*, 188, 109877.
- Lee, J. H., Tanaka, S., Goto, E. (2022). Growth and Biosynthesis of Phenolic Compounds of Canola (*Brassica napus* L.) to Different Ultraviolet (UV)-B Wavelengths in a Plant Factory with Artificial Light. *Plants*, 11(13): 1732.
- Peng, T., Wang, Y., Yang, T., Wang, F., Luo, J., & Zhang, Y. (2021). Physiological and biochemical responses, and comparative transcriptome profiling of two Angelica sinensis cultivars under enhanced ultraviolet-B radiation. *Frontiers in Plant Science*, 12, 805407.
- Rafati, A., Valizadeh, N., Sefidkon, F., Imani, Y., Noormand Moaied, F. (2023). Essential oil content and composition of *Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse under natural habitats and cultivated conditions in East Azarbaijan province. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 39(2): 175-187.
- Shi, Y., Ren, J., Zhao, B., Zhu, T., Qi, H. (2022). Photoprotective Mechanism of Fucoxanthin in Ultraviolet B Irradiation-Induced Retinal Müller Cells Based on Lipidomics Analysis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 70(10): 3181–3193.
- Simon, L. M., Fatrai, Z., Jonas, D. E., Matkovics, B. (1974). Study of peroxide metabolism enzymes during the development of *Phaseolus vulgaris*. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 166(5-6), 387-392.
- Singh, P., Singh, A., Choudhary, K. K. (2023) Revisiting the role of phenylpropanoids in plant defense against UV-B stress. *Plant Stress*, 7, 100143.
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A. J. P. S. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant science*, 151(1): 59-66.
- Wu, X., Zhang, S., Li, X., Zhang, F., Fan, Y., Liu, Q., Wan, X., Lin, T., (2021) Postharvest UV-B radiation increases enzyme activity, polysaccharide and secondary metabolites in honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.). *Industrial Crops and Products*, 171, 113907.
- Yang, J., Li, C., Kong, D., Guo, F., Wei, H. (2020). Light-mediated signaling and metabolic changes coordinate stomatal opening and closure. *Frontiers in plant science*, 11, 601478.

بهینه سازی استخراج وزیکول های خارج سلولی پوست برگ گیاه آلوئه ورا

عبداله رمضانی قرا^{۱*}، فرشته عزتی قادی^۱

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه جیرفت، جیرفت (a.ramzani@ujiroft.ac.ir)

چکیده

وزیکول های خارج سلولی و یا نانوزیکول ها توسط سلول ها به محیط خارج از سلول ترشح می شوند. این وزیکول ها در گیاهان نیز نقش مهمی ایفا می کنند. در گیاهان عمدتاً به عنوان ناقلان مولکول های مختلف نظیر پروتئین ها، لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و متابولیت ها عمل می کنند. هدف از انجام این تحقیق بهینه سازی استخراج وزیکول های خارج سلولی در گیاه آلوئه ورا می باشد. به همین منظور در این روش جهت بهینه سازی، از تغییرات سرعت سانتریفیوژ و فیلتراسیون استفاده شد. روش نانو درآپ جهت اندازه گیری غلظت پروتئین استفاده گردید. نتایج حاصل نشان داد که فیلتر کردن و سانتریفیوژ با دور بالا باعث خلوص بیشتر و بهبود وزیکول های سلولی می شود. با بهینه سازی در استخراج وزیکول های خارج سلولی گیاه، می توان اثر بخشی بیشتر و استفاده آن در علم پزشکی، درمان بیماری های مختلف با توجه به دارا بودن ترکیباتی چون آنتی اکسیدانها و ترکیبات موثره دیگر بهره برد.

واژگان کلیدی: آلوئه ورا، بهینه سازی استخراج، وزیکول خارج سلولی.



۱. مقدمه

امروزه مطالعات بسیار زیادی در خصوص وزیکول‌های خارج سلولی انجام شده است. از آنجاییکه این وزیکول‌ها دارای اندازه بسیار کوچک در حد نانو می‌باشند به نانووزیکول معروفند. همچنین بدلیل شباهت بسیار زیاد آنها با اگزوزوم‌های سلول‌های جانوری به اگزوزوم‌های گیاهی هم شهرت دارند. وزیکول‌های خارج سلولی دارای نقش‌های متعددی می‌باشند. وزیکول‌ها بعنوان انتقال دهنده‌های مولکولی و مواد غذایی بین سلولی می‌باشند که در رشد و نمو گیاهان نقش دارد. در انتقال مولکول‌هایی شرکت دارند که می‌توانند به تقویت پاسخ‌های دفاعی در برابر حملات میکروبی و ویروسی کمک کنند (Li et al., 2020). با حمل مولکول‌های تنظیم‌کننده به سلول‌های هدف، می‌توانند نقش مهمی در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی نظیر پاسخ به استرس‌های محیطی و تنظیم هورمونی داشته باشند. وزیکول‌ها از طریق حمل RNA ها، قادرند اطلاعات ژنتیکی را بین سلول‌ها منتقل کرده و بر بیان ژن‌ها تأثیر بگذارند (Urz et al., 2021).

وزیکول‌های خارج سلولی گیاهان می‌توانند به عنوان ناقل‌های طبیعی برای انتقال داروها و مولکول‌های درمانی به سلول‌های هدف استفاده شوند. میزان ترشح وزیکول‌های گیاهی در شرایط استرس‌های محیطی افزایش می‌یابد. این روش بعنوان مکانیسم دفاعی گیاه در برابر استرس‌ها، عفونت‌ها و تنش‌های محیطی می‌باشد (Liu et al., 2021). وزیکول‌ها به دلیل زیست‌سازگاری بالا در درمان بیماری‌های مختلف مثل سرطان‌ها و بیماری‌های التهابی مورد توجه قرار گرفته‌اند. همچنین وزیکول‌ها می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی برای تشخیص بیماری‌ها عمل کنند، زیرا حاوی مولکول‌های منحصر به فردی هستند که می‌توانند حضور یا پیشرفت یک بیماری را نشان دهند (Sulistyowati et al., 2018). بررسی پروتئین‌های استخراج شده از وزیکول‌های زیتون نشان داده است که بسیاری از این ترکیبات در فرایند سنتز پروتئین، گسترش دیواره سلولی، اسکلت سلولی، مسیرهای سیگنالینگ و نقل و انتقالات نقش دارند. امروزه مطالعات نشان داده وزیکول‌های خارج سلول گیاهی در درمان التهاب روده موثر است (Ju, 2013). مطالعات نشان داده وزیکول‌های خارج سلولی لیمو، کلم خواص ضدالتهابی و همچنین خواص ضدسرطان را نشان می‌دهند (Raimondo et al., 2022, Rome et al., 2019).

وزیکول‌های گیاهی را می‌توان از آب میوه و گیاهان یا دانه‌های آنها بدست آورد. وزیکول‌های خارج سلولی از گیاهان مختلف استخراج شده که پروتئین‌های موجود در آنها با اگزوزوم پستانداران همپوشانی دارد. وزیکول‌های گیاهی بدلیل زیست سازگاری و زیست تخریب پذیر بودن آنها و همچنین بدلیل قابلیت تجمع در سلول‌های پستانداران می‌توان بعنوان گزینه مناسب در درمان بیماری‌ها استفاده برد. تجمع وزیکول‌های گیاه لیموترش و انگور در سلول‌های سرطانی مشاهده شده است. همچنین وزیکول‌های گیاه گریپ فروت، زنجبیل و هویج در سلول‌های بنیادی روده و کلم بر کلی در دندریتیک‌های سل‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

گیاه آلوئه‌ورا از خانواده لیلیاسه دارای برگ‌های کشیده و حاوی ژل می‌باشد. گیاه دارویی آلوئه‌ورا کاربرد پزشکی داشته و به دلیل زیست سازگاری و سمیت کم آن در مهندسی بافت استفاده می‌گردد. گیاه آلوئه‌ورا دارای خواص ضدالتهابی، ضد باکتری و قارچ و هیپوگلیسمی می‌باشد. با توجه به خواص درمانی این گیاه هدف از انجام این پژوهش بهینه‌سازی در



استخراج وزیکول‌های خارج سلولی می‌باشد. با بهینه‌سازی می‌توان به غلظت بیشتر و کیفیت بالاتری از وزیکول‌ها بمنظور استفاده در علم پزشکی دست یافت.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. روش تحقیق

بمنظور جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی از محلول ۸ درصد پلی اتیلن گلیکول (PEG) در سدیم کلرید ۱ مولار استفاده شد. برای انحلال یکنواخت PEG از محلول ۳۷ تا ۴۰ درجه سانتیگراد سدیم کلرید و همزن مغناطیسی برای سریعتر حل شدن PEG استفاده گردید.

برگ‌های گیاه آلئوئه‌ورا جمع‌آوری و با آب مقطر بدقت شسته شد. برگ‌ها از وسط نصف شده و مواد ژله‌ای داخل برگ بمنظور خالص‌سازی بهتر وزیکول بطور کامل جدا شد. ۱۰۰ گرم پوست خرد شده با بافر فسفات سرد (PBS) به نسبت ۱:۳ مخلوط گردید و به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق انکوبه شد. مخلوط بدست آمده با استفاده از مخلوط کن همگن‌سازی گردید. مخلوط همگن بدست آمده به طور متوالی در چند مرحله در $1000 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه، $3000 \times g$ به مدت ۳۰ دقیقه و $10000 \times g$ به مدت ۶۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. جهت بهینه‌سازی عمل استخراج محلول رویی به دو گروه تقسیم گردید. گروه اول از صافی ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد و گروه دوم بدون فیلتراسیون در مراحل بعدی استفاده شد. نمونه‌ها با حجم مساوی PEG مخلوط شد و در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۶ ساعت انکوبه گردید. در آخرین مرحله عمل سانتریفیوژ برای هر گروه بصورت مجزا در شرایط متفاوت $1500 \times g$ به مدت ۳۰ دقیقه و $10000 \times g$ بمدت ۶۰ دقیقه انجام شد و رسوب جمع‌آوری و مایع رویی دور ریخته شد. نمونه‌ها با توجه به بررسی شرایط فیلتراسیون و سانتریفیوژ به چهار گروه زیر تقسیم گردید.

گروه اول: نمونه‌های فیلتر شده و سانتریفیوژ در $10000 \times g$

گروه دوم: نمونه‌های فیلتر شده و سانتریفیوژ در $1500 \times g$

گروه سوم: نمونه‌های فیلتر نشده و سانتریفیوژ با $10000 \times g$

گروه چهارم: نمونه‌های فیلتر نشده و سانتریفیوژ با $1500 \times g$

برای حذف PEG اضافی، لوله‌های مخروطی به مدت ۳ تا ۵ دقیقه وارونه و به آرامی با PBS شستشو گردید. رسوب حاوی وزیکول در PBS مخلوط و تا زمان استفاده در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. میزان خلوص پروتئین (نسبت A260/280) با استفاده از اسپکتروفتومتر Nanodrop، و PBS به عنوان شاهد اندازه‌گیری شد.

۳. نتایج

۳-۱. فیلتراسیون

براساس نتایج جدول شماره ۱ نمونه‌های فیلتر شده (۲ غلظت پروتئین کمتری (۰/۳۷ و ۰/۵۳ میلی گرم/میلی لیتر) را در مقایسه با نمونه‌های فیلتر نشده ۳ و ۴ (۰/۹۹ و ۱/۱۴۵ میلی گرم/میلی لیتر) نشان دادند. که فیلتراسیون به طور موثر قطعات بزرگ‌تر



را حذف می کند و در نتیجه نمونه های با غلظت کمتر را سبب می گردد. خلوص وزیکول ها، همانطور که با نسبت A260/280 نشان داده شد، در نمونه های فیلتر شده (۱/۵۴ و ۱/۴۶) نسبت به نمونه های فیلتر نشده (۱/۵۳ و ۱/۶۱) بیشتر می باشد، که بیانگر کاهش اسید نوکلئیک است. نتایج بدست آمده میزان خلوص بیشتر را هنگام استفاده از فیلتراسیون نشان می دهد.

۳-۲. تاثیر نیروی سانتریفیوژ در جداسازی

سانتریفیوژ با سرعت بالا ($10000 \times g$) افزایش غلظت پروتئین در نمونه های فیلتر شده ۱ و ۲ و کاهش غلظت در نمونه های فیلتر نشده ۳ و ۴ را به همراه داشت. نتایج نشان می دهد که سرعت بالا سانتریفیوژ باعث افزایش غلظت پروتئین و استخراج بیشتر وزیکول های خارج سلولی در نمونه های فیلتر شده می شود. ولی در نمونه های فیلتر نشده افزایش سرعت سانتریفیوژ باعث کاهش غلظت پروتئین و در نتیجه کاهش بازیابی وزیکول های خارج سلولی می شود.

جدول ۱. بررسی تاثیر فیلتراسیون و سانتریفیوژ در استخراج وزیکول های خارج سلولی

عنوان	غلظت پروتئین (میلی گرم/میلی لیتر)	خلوص
مورد ۱	۰/۳۷	۱/۵۴
مورد ۲	۰/۵۳	۱/۴۶
مورد ۳	۰/۹۹	۱/۶۱
مورد ۴	۱/۱۴	۱/۵۳

۴. بحث و نتیجه گیری

گیاه آلوئه ورا با توجه به خواص درمانی متعدد آن امروزه در درمان بیماری های مختلف استفاده می گردد. امروزه وزیکول های خارج سلولی توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است. نانوزیکول ها به خارج سلول ترشح می گردند و حامل ترکیبات مهم زیستی می باشند. از این جهت امروز بعنوان یک روش درمانی مناسب در درمان بیماری های مختلف مورد توجه و استفاده قرار می گیرد. با توجه به اهمیت موضوع و همچنین دست یابی به روش های مناسب جهت افزایش راندمان جداسازی وزیکول های گیاهی، استفاده از روش مناسب تخلیص بسیار ضروری می باشد.

گیاه آلوئه ورا یکی از مهمترین گیاهانی است که وزیکول های خارج سلولی آن دارای پتانسیل بیولوژیکی و درمانی قابل توجهی می باشد و نیازمند به روش هایی بهینه برای جداسازی آنهاست. هدف از انجام این تحقیق بهینه سازی جداسازی وزیکول های خارج سلولی در گیاه آلوئه ورا است. روش های مختلفی برای جداسازی وزیکول های خارج سلولی از گیاه آلوئه ورا وجود دارد که بر اساس نوع گیاه و اهداف مطالعه بهینه سازی می شود. یکی از روش های سریع، ساده و مقرون به صرفه که نیاز به تجهیزات پیشرفته نیست روش بر پایه ته نشینی وزیکول های خارج سلولی می باشد. به همین منظور در این روش جهت بهینه سازی از تغییرات سرعت سانتریفیوژ و فیلتراسیون استفاده شد



یکی از مهمترین مراحل در جداسازی وزیکول‌های گیاهی استفاده از روش سانتریفیوژ می‌باشد. استفاده از چند مرحله سانتریفیوژ کمک به تخلیص بهتر وزیکول گیاهی می‌کند. سانتریفیوژ با دور کند منجر به استخراج وزیکول‌های درشت و قطعات درشت سلولی می‌گردد در صورتیکه سانتریفیوژ با دور بالا باعث خالص‌سازی نانوزیکول‌های گیاهی می‌شود. نتایج بدست آمده در این تحقیق بیانگر این موضوع می‌باشد.

استفاده از روش فیلتراسیون بعنوان یکی از روش‌ها در بهبود و بهینه‌سازی استخراج نانوزیکول مطرح می‌باشد (Rutter and Innes, 2017) به طور موثر قطعات بزرگ‌تر را حذف می‌کند و در نتیجه نمونه‌های با غلظت کمتر را سبب می‌گردد. سانتریفیوژ با سرعت بالاتر با تجمع مؤثر وزیکول‌ها و رسوب پروتئینی بزرگ‌تر، بازیابی وزیکول خارج سلولی را افزایش می‌دهند. سانتریفیوژ با سرعت پایین به طور قابل توجهی منجر به کاهش میزان پروتئین در نمونه‌های فیلتر شده می‌گردد. اما باعث بازده بیشتری در نمونه‌های فیلتر نشده، می‌شود. نتایج حاصل نشان داد که فیلتر کردن و سانتریفیوژ با دور بالا باعث خلوص و بهبود وزیکول‌های سلولی می‌شود.

منابع

- Ju, S., Mu, J., Dokland, T., Zhuang, X., Wang, Q., Jiang, H., ... & Zhang, H. G. (2013). Grape exosome-like nanoparticles induce intestinal stem cells and protect mice from DSS-induced colitis. *Molecular Therapy*, 21(7): 1345-1357.
- Lee, R., Ko, H. J., Kim, K., Sohn, Y., Min, S. Y., Kim, J. A., ... & Yeon, J. H. (2020). Anti-melanogenic effects of extracellular vesicles derived from plant leaves and stems in mouse melanoma cells and human healthy skin. *Journal of extracellular vesicles*, 9(1): 1703480.
- Liu, G., Kang, G., Wang, S., Huang, Y., & Cai, Q. (2021). Extracellular vesicles: emerging players in plant defense against pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 12: 757925
- Raimondo, S., Urzì, O., Meraviglia, S., Di Simone, M., Corsale, A. M., Rabienezhad Ganji, N., ... & Alessandro, R. (2022). Anti-inflammatory properties of lemon-derived extracellular vesicles are achieved through the inhibition of ERK/NF- κ B signalling pathways. *Journal of cellular and molecular medicine*, 26(15): 4195-4209.
- Rome, S. (2019). Biological properties of plant-derived extracellular vesicles. *Food & function*, 10(2), 529-538.
- Sulistyowati, E., Lee, M. Y., Wu, L. C., Hsu, J. H., Dai, Z. K., Wu, B. N., ... & Yeh, J. L. (2018). Exogenous heat shock cognate protein 70 suppresses LPS-induced inflammation by down-regulating NF- κ B through MAPK and MMP-2/-9 pathways in macrophages. *Molecules*, 23(9): 2124.
- Urzì, O., Raimondo, S., & Alessandro, R. (2021). Extracellular vesicles from plants: current knowledge and open questions. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(10): 5366.

مطالعه مروری پرتو یونیزه کننده گاما و کاربرد آن در نگهداری محصولات پس از برداشت

عبداله رمضانی قرا^{۱*}، فرشته عزتی قادی^۱

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه جیرفت، جیرفت (a.ramzani@ujiroft.ac.ir)

چکیده

پرتوهای گاما بعنوان پرتوهای یونیزان قادرند اثرات بیولوژیکی زیستی متفاوتی بر روی گیاهان ایجاد کنند. استفاده از پرتو گاما بعنوان روشی مناسب برای ایجاد تغییراتی فیزیولوژیکی و ژنتیکی مفید همواره مورد توجه محققین بوده است. اشعه‌های گاما بر رشد و فعالیت‌های حیاتی گیاهان تأثیر می‌گذارند و از طریق تولید رادیکال‌های آزاد تغییرات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و سیتولوژیکی در بافت‌های سلولی ایجاد می‌کنند. رادیکال‌های آزاد به عنوان سیگنال‌های استرس عمل می‌کنند و پاسخ‌های استرسی را تحریک می‌کنند که ممکن است محتوای اسید پلی فنول را که دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی است افزایش دهد. با توجه به کاربرد تابش گاما در صنایع غذایی، داروسازی و آرایشی به عنوان یک فناوری غیر حرارتی برای حذف آلودگی‌های میکروبی. هدف از انجام این مطالعه مروری بررسی تأثیرات تابش بر فعالیت آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و اجزای پلی فنولی در گیاهان در مرحله پس از برداشت می‌باشد.

واژگان کلیدی: اشعه گاما، پرتودهی، ضد باکتری



۱. مقدمه

یکی از مهمترین مشکلات در حیطه نگهداری و صادرات گیاهان دارویی بحث آلودگی های میکروبی آنها می باشد. گیاهان دارویی به سبب محیطی که در آن پرورش می یابند و همچنین طی عملیات برداشت، دست ورزی، انبارداری و حتی فرآوری آن دچار آلودگی های میکروبی می شوند که نه تنها زمان انبارمانی آنها کاهش می یابد بلکه سلامت مصرف کنندگان را به خطر می اندازد. امروزه روش های متعددی جهت گندزدایی گیاهان دارویی استفاده می گردد که شامل: استفاده از متیل برماید، اتیلن اکسید، تیمار حرارتی و پرتو دهی است. استفاده از روش های ضد عفونی کننده بر پایه مواد شیمیایی مانند اتیلن اکسید و متیل برماید بدلیل آزاد کردن ترکیبات سمی پایدار و تغییر خواص گیاهان، خطرناک و حتی در کشورهای اروپایی ممنوع می باشد از طرف دیگر روش های حرارتی باعث تخریب ترکیبات موثره گیاه می گردد. بنابراین پرتو دهی به عنوان یکی از روش های مناسب جهت ضد عفونی گیاهان دارویی پس از برداشت می باشد (Khattak et al., 2010). اشعه های گاما با برخی از اتم ها و مولکول ها در سلول، به ویژه مولکول های آب، واکنش می دهند و رادیکال های آزاد تولید می کنند که می توانند اجزای حیاتی سلول های گیاهی را بسته به دوز تشعشع تغییر دهند. گیاه برای جبران خسارات ناشی از گونه های اکسیژن فعال، دارای سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی پیشرفته ای شامل جمع کننده های آنزیمی و غیر آنزیمی هستند که نقش مؤثری در برابر استرس تشعشع ایفا می کنند. میزان تغییرات گیاهان در معرض اشعه گاما بستگی به شدت دوز آن دارد (Hosseini et al., 2023).

۲. مواد و روش ها

۲-۱. روش تحقیق

پژوهش حاضر بر اساس تحقیق و مطالعات در مقالات متعددی از پایگاه های اطلاعاتی و علمی Science direct، PubMed، Google scholar و مجلات جهاد دانشگاهی و علمی پژوهشی می باشد.

۳. نتایج

۳-۱. پرتو دهی

پرتوها به دودسته یونیزه کننده و غیر یونیزه کننده تقسیم می گردند. پرتو های یونیزه کننده شامل گاما، ایکس و الکترون و روش غیر یونیزه مانند: ماورا بنفش، مادون قرمز و امواج رادیویی است. پرتو های یونیزه کننده بدلیل قدرت نفوذ بالا که به دلیل کوتاه بودن طول موج آنها می باشد دارای قدرت نفوذ بالا و در نهایت توانایی ضد عفونی و قابلیت بکار گیری در سطوح تجاری می باشند.

۳-۲. پرتو گاما

پرتو گاما باعث حذف میکروارگانیسم ها و همچنین باعث کیفیت برخی از ترکیبات موثره این گیاهان می گردد. پرتو یونیزه کننده گاما تشعشعات الکترومغناطیسی است که از هسته برنگیخته شده مانند کبالت ۶۰ و یا سزیم ۱۳۷ منشع می گیرند. میزان پرتو دهی در محدوده ۰ تا ۱۰ و حتی تا ۲۵ کیلوگری هم گزارش شده است (Khalifa et al., 2022). پرتو گاما با قدرت نفوذ بالا باعث تولید زوج های یونی و همچنین رادیکال های آزاد می گردد که باعث ایجاد تغییرات در گیاه می شود. در سال



۱۹۶۹، سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد (FAO) و آژانس بین‌المللی انرژی اتمی (IAEA) به توافق رسیدند که از تکنولوژی هسته‌ای در کشاورزی استفاده کنند و این توافق نقطه عطفی در توسعه کشاورزی از طریق فناوری هسته‌ای بود (Pajohesh, 2007). شدت تابش معمولاً به سه دسته تقسیم می‌شود: دوز پایین: کمتر از ۳ کیلوگری، متوسط: بین ۳ تا ۱۰ کیلوگری، بالا: بالای ۱۰ کیلوگری (Ibrahim et al., 2018). تابش گاما یکی از انواع استرس‌های محیطی است که به عنوان روشی سریع و جدید برای تغییر ویژگی‌های کیفی و کمی گیاهان در چندین سال اخیر در نظر گرفته شده و به طور گسترده در زیست‌شناسی و پزشکی به کار رفته است. تابش یونیزان با دوز پایین می‌تواند بر رشد سلول، تکثیر، درصد جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم‌ها و مقاومت به استرس تأثیر بگذارد. تابش گاما با تولید گونه‌های اکسیژن فعال باعث استرس اکسیداتیو می‌شود، که قادر به تغییر اجزای مهم سلول‌های گیاهان دارویی هستند. ترکیبات موثره نیز تحت دوز مناسب تابش می‌توانند ارتقا یابند. ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدها دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های زیستی مانند آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد پیری، ضد باکتری و ضد تومور هستند و ارزش اقتصادی و دارویی بالایی دارند. این ترکیبات اغلب به مقدار کم و گاهی در سلول‌های خاص تجمع می‌یابند. تابش گاما با دوز ۲۰ کیلوگری تجمع کل فنولیک و فلاونوئیدها را در کشت کالوس رزماری افزایش داد (Khalifa et al., 2022).

۳-۳. ضد عفونی کننده

پرتو دهی در محدوده ۳ کیلوگری نشان داد که باعث حذف میکروارگانیسم‌های گیاهی می‌گردد. بطور مثال پودر سیر، فلفل قرمز، پیاز، آویشن و مرزنجوش در دوز ۳ کیلوگری باعث حذف میکروارگانیسم‌ها گردید (Oh et al., 2003). همچنین استفاده از دوزهای بالا در حذف قارچ‌ها و باکتریهای هوازی در گیاهان دارویی موثر بود. بطور مثال قارچ‌ها و انتروباکتریاسه در دوز ۱۷/۸ از گیاهان دارویی ژینکو و گوارانا گزارش گردید (Soriani et al., 2003).

۳-۴. تغییرات در ترکیبات موثره

با توجه به اهمیت ترکیبات موثره گیاهان دارویی و کاربرد آنها در علوم زیستی و پزشکی، افزایش کیفیت این ترکیبات حائز اهمیت است. مطالعات نشان داده پرتو دهی گیاهان دارویی پس از برداشت توسط پرتو گاما منجر به افزایش ترکیبات مهمی همچون فلاونوئیدها گردید. افزایش میزان فلاونوئیدهای زیره سیاه در دوز ۱۰ و ۲۵ کیلوگری گزارش شده است. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که فناوری‌های هسته‌ای به‌طور قابل توجهی بر مورفولوژی و فیتوشیمی گیاهان تأثیر می‌گذارند تا تولیدات کشاورزی را افزایش داده و کیفیت را بهبود بخشند. چندین پژوهشگر، اجزای فعال گیاهان دارویی تابش‌یافته را با نمونه‌های کنترل مقایسه کرده‌اند، اما تعداد کمی از این پژوهش‌ها از شدت‌های بالا برای تشخیص تغییرات در ترکیبات اصلی گیاهان تیمار شده استفاده کرده‌اند. تابش گاما اغلب به عنوان یک فرآیند سرد شناخته می‌شود که در آن دمای مواد پردازش شده به‌طور قابل توجهی افزایش نمی‌یابد. بنابراین، این روش برای مواد حساس به گرما مانند گیاهان دارویی مناسب است. تابش گاما با دوزهای پایین به طور مثبت بر درصد و ترکیب اسانس‌های گیاهان دارویی مانند آویشن، اسطوخودوس و اکالیپتوس تأثیر می‌گذارد. تولید فنول در شرایط استرس افزایش می‌یابد، اما با افزایش شدت استرس، مسیر دیگری فعال شده و



تولید فنول کاهش می‌یابد (Haddad et al., 2007). طبق گزارش عباس‌زاده و همکاران، نسبت اسانس‌ها و برخی ترکیبات فیزیولوژیکی تحت استرس خفیف افزایش می‌یابد. با افزایش شدت استرس، مسیرهای جدیدی فعال می‌شوند و تعداد ترکیبات جدید در گیاه افزایش می‌یابد. کاهش غلظت فنول در تابش بالا همین مشکل را نشان می‌دهد (Abbaszadeh et al., 2020). همچنین در گزارشی هیچ تفاوت قابل توجهی در میزان فنول‌ها و ترکیبات اصلی رزماری، علف فنی آریشو و ریحان با استفاده از شدت‌های مختلف تابش گاما پیدا نکردند (Kosalec et al., 2009).

۳-۵. تاثیر تابش گاما بر محتوای فنولیک

محتوای فنولیک با تابش گاما افزایش می‌یابد. افزایش کل فنول‌ها و فلاونوئیدها در گیاهان تحت تابش رزماری گزارش شده است (El-Beltagi et al., 2011). تابش گاما می‌تواند ترشح ترکیبات فنولیک از اجزای گل‌یکوزیدی را تحریک کرده و ترکیبات فنولیک بزرگتر را به ترکیبات کوچکتر تجزیه کند و در نهایت می‌تواند محتوای کل فنولیک را افزایش دهد. تابش باعث رادیولیز آب و تولید رادیکال‌های آزاد مانند رادیکال‌های هیدروکسیل، رادیکال‌های هیدروپروکسید و الکترون‌های هیدراته می‌شود. این رادیکال‌ها می‌توانند پیوندهای گل‌یکوزیدی پروسیانیدین تریمر، تترامر و هگزامر موجود در گیاهان را بشکنند که باعث افزایش محتوای کل فنولیک و فلاونوئیدها در گیاهان تحت تابش می‌شود (Jeong et al., 2024).

از سوی دیگر، گزارش شده که افزایش غلظت و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز در نهال‌های *Triticum aestivum* L. با افزایش دوزهای تابش گاما رخ داده است (Abou-Zeid et al., 2014). فنیل آلانین آمونیا لیاز یک آنزیم کلیدی در اولین مرحله مسیر فنیل پروپانوئید است که مسئول سنتز فنیل پروپانوئیدهای گیاهی یا فنولیک‌ها می‌باشد. افزایش محتوای فنولیک تحت تابش گاما می‌تواند به تغییر فعالیت آنزیم مسیر بیوسنتز فنولیک مرتبط باشد (Dog et al., 2010).

تابش گاما باعث افزایش محتوای DPPH و کاهش IC50 به طور قابل توجهی در کالوس *F. gummosa* شد. DPPH یک رادیکال پایدار با حداکثر جذب در ۵۱۷ نانومتر است که به راحتی توسط یک آنتی اکسیدان پاکسازی می‌شود. کاهش IC50 نشان‌دهنده افزایش فعالیت پاکسازی رادیکال آزاد DPPH است. به نظر می‌رسد که کاهش IC50 توسط تابش گاما، به‌ویژه در دوزهای ۲۰ و ۲۵ کیلوگری، می‌تواند به دلیل القای ترکیبات پلی فنولیک تحت تابش گاما باشد (Lu and Yeap, 2001).

تولید گونه‌های اکسیژن فعال، به ویژه هیدروژن پراکسید، به عنوان بخشی از مسیرهای سیگنال‌دهی که منجر به حفاظت از استرس‌ها می‌شود، پیشنهاد شده است (Aly et al., 2022). القای فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی به عنوان یک استراتژی عمومی توسط گیاهان برای غلبه بر استرس‌های اکسیداتیو گزارش شده است. بسیاری از ترکیبات فنولیک آنتی اکسیدان‌های بالقوه هستند: فلاونوئیدها، تانن‌ها و پیش‌سازهای لیگنین ممکن است به عنوان ترکیبات پاکسازی کننده گونه‌های اکسیژن فعال عمل کنند. بیان بیش از حد تولید آنتی اکسیدان‌ها تحت تابش می‌تواند نشان‌دهنده تقویت دفاع آنتی اکسیدانی باشد (Blokina et al., 2003).



تأثیر تابش گاما بر ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی به دوز تابش بستگی دارد. قبل از تعیین دوز مناسب تابش برای یک گیاه خاص، بررسی ویژگی های خاص محصول و حساسیت هر ترکیب فیتوشیمیایی به تابش بسیار حائز اهمیت است. بسیاری از محققان اثر تابش گاما بر ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی مواد غذایی و گیاهان دارویی را مورد مطالعه قرار داده اند. برخی از مطالعات نشان داده اند که تابش گاما اثرات مثبتی دارد، در صورتیکه برخی دیگر نتایج ناچیز یا حتی منفی مشاهده کرده اند. به عنوان مثال، تحقیق نشان دادند که تابش گاما در دوزهای ۰/۵ و ۱ کیلوگری در هویج های خرد شده، به ترتیب باعث کاهش ۱۰٪ و ۲۰٪ محتوای فنلی کل می شود (Hirashima et al., 2013). همچنین، در گزارشی دیگر دوز ۱ کیلوگری محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی پودر پوست سیب را به طور مؤثرتری نسبت به دوز ۲ کیلوگری حفظ می کند (Ito et al., 2016). در مقابل، مطالعه دیگر نشان دادند که دوزهای ۰/۲۵ تا ۱/۵ کیلوگری، ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی شنبلیله و اسفناج را افزایش می دهد (Hussain et al., 2016).

علاوه بر این، دوزهای ۱ و ۱۰ کیلوگری ترکیبات فنلی موجود در برگ های *Aloysia citrodora* Palau را حفظ می کنند و سطح ترکیبات فنلی، به ویژه اسید لیتوسپرمیک در *Melissa officinalis* L. و اسید O-۵-کافنولیکینیک در *Melittis melissophyllum* L. را افزایش می دهند. گزارشی دیگر تابش گاما در دوزهای ۳ تا ۱۳ کیلوگری، محتوای فنلی کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی برگ های *Gnetum gnemon*، *Euodia malayana* و *Khaya senegalensis* را افزایش می دهد (Perira et al., 2017; Perira et al 2018; khawory et al., 2020).

۴. بحث و نتیجه گیری

امروزه صادرات محصولات غیر نفتی یکی از مهمترین مسائل اقتصادی کشور می باشد. باتوجه به اینکه ایران دارای محصولات کشاورزی و همچنین گیاهان دارویی بسیار مهمی می باشد، بحث صادرات این محصولات توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است. با توجه به اهمیت سلامت محصولات از نظری کیفی و کمی امروزه جهت کاهش آلودگی های پس از برداشت محصولات و حتی افزایش ترکیبات موثره این دسته از محصولات محققین به روش های نوین غیر حرارتی رو آورده اند. یکی از این روش های موثر، پرتو دهی با اشعه گاما می باشد. پرتو دهی با جلوگیری از رشد قارچ و عوامل بیماری زا باعث افزایش مدت زمان نگهداری این محصولات می گردد. همچنین با افزایش ترکیبات موثره این گیاهان منجر به افزایش کیفیت آنها می گردد. بنابراین استفاده از این فناوری نوین با توجه به مقرون به صرفه بودن و روشی ایمن در مقایسه با روش های ضد عفونی کننده موجود، بعنوان یکی از روش های بسیار مفید در نگهداری محصولات پس از برداشت می باشد که نیاز به انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه است.

منابع

- Abbaszadeh, B., Layeghhaghighi, M., Azimi, R., & Hadi, N. (2020). Improving water use efficiency through drought stress and using salicylic acid for proper production of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 144: 111893.
- Abou-Zeid, H. M., & Abdel-Latif, S. A. (2014). Effects of gamma irradiation on biochemical and antioxidant defense system in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Int J Adv Res*, 2(8): 287-300.



- Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, 91(2), 179-194.
- Khattak, K. F., & Simpson, T. J. (2010). Effect of gamma irradiation on the antimicrobial and free radical scavenging activities of *Glycyrrhiza glabra* root. *Radiation Physics and Chemistry*, 79(4): 507-512.
- Dong, J., Wan, G., & Liang, Z. (2010). Accumulation of salicylic acid-induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidative enzymes in *Salvia miltiorrhiza* cell culture. *Journal of biotechnology*, 148(2-3): 99-104.
- El-Beltagi, H. S., Ahmed, O. K., & El-Desouky, W. (2011). Effect of low doses γ -irradiation on oxidative stress and secondary metabolites production of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) callus culture. *Radiation Physics and chemistry*, 80(9): 968-976.
- Haddad, M., Herent, M. F., Tilquin, B., & Quetin-Leclercq, J. (2007). Effect of gamma and e-beam radiation on the essential oils of *Thymus vulgaris* thymoliferum, *Eucalyptus radiata*, and *Lavandula angustifolia*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(15): 6082-6086.
- Hirashima, F. K., Fabbri, A. D., Sagretti, J., Nunes, T. C., Sabato, S. F., Galvao, N. S., & Lanfer-Marquez, U. M. (2013). Influence of gamma irradiation on phenolic compounds of minimally processed baby carrots.
- Hosseini, R., Mahdian, N., & Yousefi, Z. (2023). The potential of gamma irradiation on antioxidant capacity and genomic alterations in *Calendula officinalis*. *Applied Radiation and Isotopes*, 202: 111034.
- Hussain, P. R., Suradkar, P., Javaid, S., Akram, H., & Parvez, S. (2016). Influence of postharvest gamma irradiation treatment on the content of bioactive compounds and antioxidant activity of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) and spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33: 268-281.
- Ibrahim, A. M. M., Martinez-Swatson, K. A., Benkaci-Ali, F., Cozzi, F., Zoulikha, F., & Simonsen, H. T. (2018). Effects of gamma irradiation and comparison of different extraction methods on sesquiterpene lactone yields from the medicinal plant *Thapsia garganica* L.(Apiaceae). *Journal of applied research on medicinal and aromatic plants*, 8: 26-32.
- Ito, V. C., Alberti, A., Avila, S., Spoto, M., Nogueira, A., & Wosiacki, G. (2016). Effects of gamma radiation on the phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of apple pomace flour during storage using multivariate statistical techniques. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33:251-259.
- Jeong, G. H., Kaur, S., Yoo, Y., Ryu, Y. B., Lee, S. J., Jung, K. W., ... & Lee, S. S. (2024). Effects of gamma irradiation on changes in chemical composition and antioxidant activity of *Euphorbia maculata* callus. *Plants*, 13(16), 2306.
- Khalifa, A. M., Abd-ElShafy, E., Abu-Khudir, R., & Gaafar, R. M. (2022). Influence of gamma radiation and phenylalanine on secondary metabolites in callus cultures of milk thistle (*Silybum marianum* L.). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 20(1): 166.
- Khawory, M. H., Sain, A. A., Rosli, M. A. A., Ishak, M. S., Noordin, M. I., & Wahab, H. A. (2020). Effects of gamma radiation treatment on three different medicinal plants: Microbial limit test, total phenolic content, in vitro cytotoxicity effect and antioxidant assay. *Applied Radiation and Isotopes*, 157: 109013.
- Kosalec, I., Cvek, J., & Tomić, S. (2009). Contaminants of medicinal herbs and herbal products. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 60(4): 485-501.
- Lu, Y., & Foo, L. Y. (2001). Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food chemistry*, 75(2): 197-202.
- Mahdi Navehsi, F., Abdossi, V., Abbaszadeh, B., Azimi, R., & Dianat, M. (2024). Effect of gamma rays on the essential oil and biochemical characteristics of the *Satureja mutica* Fisch & CA Mey. *Scientific Reports*, 14(1): 7581.
- Oh, K. N., Lee, S. Y., Lee, H. J., Kim, K. E., & Yang, J. S. (2003). Screening of gamma irradiated spices in Korea by using a microbiological method (DEFT/APC). *Food Control*, 14(7): 489-494.
- Pereira, E., Antonio, A., Barreira, J. C., Santos-Buelga, C., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2018). How gamma and electron-beam irradiations modulate phenolic profile expression in *Melissa officinalis* L. and *Melissophyllum* L. *Food chemistry*, 240: 253-258.
- Soriani, R. R., Satomi, L. C., & Terezinha de Jesus, A. P. (2005). Effects of ionizing radiation in ginkgo and guarana. *Radiation Physics and Chemistry*, 73(4): 239-242.

بررسی اکوفیزیولوژی، ترکیبات دارویی و مصارف صنعتی گیاه هلپه (*Teucrium polium* L.)

طهماسب آسمانه^{*۱}

^{*۱} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یاسوج، یاسوج (asemaneh@yu.ac.ir)

چکیده

گیاه هلپه یا کلپوره (*Teucrium polium*)، یک گیاه دارویی با کاربردهای متنوع در طب سنتی و مدرن است. این گیاه از خانواده نعناع (Lamiaceae) بوده و در مناطق خشک و سنگلاخی تپه ها و بیابان های مدیترانه ای و آسیای غربی یافت می شود. ویژگی های فیزیولوژیکی این گیاه آن را قادر می سازد که در شرایط سخت محیطی مانند خشکی، شوری، دماهای بالا و کمبود مواد مغذی رشد کند. در این مقاله، به بررسی و تحلیل اکولوژی، فیزیولوژی، فنولوژی و ترکیبات شیمیایی و دارویی این گیاه پرداخته شده است. همچنین، کاربردهای مختلف آن در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی، و غذایی بررسی شده و به تهدیدهای حفاظتی و پیشنهادهای پژوهشی در مورد این گیاه اشاره شده است.

واژگان کلیدی: اکولوژی، فیزیولوژی، گیاه دارویی، هلپه



۱. مقدمه

گیاه هلپه با نام علمی *Teucrium polium*، یکی از گیاهان دارویی ارزشمند متعلق به تیره ی نعناع است که در مناطق خشک، نیمه خشک، سنگلاخی، بیابانی و کوهستانی رشد می کند. این گیاه به دلیل ترکیبات شیمیایی فعال خود مانند فلاونوئیدها، ترپن ها و اسیدهای فنلی، خواص درمانی فراوانی دارد. از جمله خواص آن می توان به اثرات ضد التهابی، آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد سرطانی اشاره کرد (Bahramikia et al., 2022). علاوه بر این، این گیاه از توانایی های فیزیولوژیکی خاصی برای مقابله با تنش های محیطی برخوردار است که آن را به یک مدل جالب برای مطالعه در زمینه های مختلف اکولوژی و فیزیولوژی تبدیل کرده است. در این مقاله، بررسی های جدید در مورد اکولوژی، فیزیولوژی، فنولوژی و مصارف دارویی و صنعتی این گیاه ارائه و تحلیل خواهد شد.

۲. مواد و روش ها

در این پژوهش، ضمن بررسی و تحلیل منابع معتبر علمی از جمله مقالات علمی، پایان نامه ها و کتب علمی در مورد گیاه هلپه، از برخی رویشگاه های طبیعی این گیاه در طی مراحل رویشی و گلدهی آن در فصول بهار و تابستان به روش پیمایشی بازدید نموده و با پرسش از افراد بومی باتجربه، در خصوص استفاده این گیاه در طب سنتی، اطلاعاتی در زمینه اتنوبوتانی این گیاه، جمع آوری شد. پس از دسته بندی، تحلیل و ارایه مطالب علمی، به چشم انداز آتی و پیشنهادات پژوهشی در این زمینه پرداخته شده است.

۳. نتایج

۳-۱. اکولوژی گیاه هلپه

گیاه هلپه که در مناطق خشک و نیمه خشک مدیترانه ای، اروپا، آسیای غربی و آفریقای شمالی یافت می شود، گیاهی علفی چندساله به ارتفاع ۲۰ تا ۵۰ سانتی متر می باشد. این گیاه در خاک های سنگی، آهکی و شنی با زهکشی مناسب و pH بالا رشد می کند. معمولاً در ارتفاعات بین ۵۰۰ تا ۲۵۰۰ متر از سطح دریا دیده می شود (Bahramikia et al., 2022). تغییرات اقلیمی مانند افزایش دما و کاهش بارندگی می تواند تأثیرات منفی بر پراکنش این گیاه در برخی مناطق داشته باشد (Youssefi et al., 2018). گیاه هلپه به عنوان یک گیاه مقاوم به خشکی، می تواند به عنوان یک گزینه مناسب برای مدیریت اکوسیستم های آسیب دیده در نظر گرفته شود.

این گیاه دارای روابط همزیستی با میکروارگانیسم های خاک مانند قارچ های میکوریزایی است که موجب بهبود جذب مواد مغذی و افزایش مقاومت به تنش های محیطی می شود (Zengin et al., 2015). در برخی از مطالعات، نشان داده شده است که گیاه هلپه می تواند به عنوان یک گیاه آلوپاتیک عمل کند و رشد سایر گیاهان را مهار کند (Vural et al., 2012). همچنین، پژوهش هایی در زمینه تأثیر فعالیت های انسانی مانند چرای بیش از حد دام ها و برداشت بی رویه گیاهان دارویی انجام شده است. طبق این تحقیقات، برداشت های بی رویه و تخریب زیستگاه ها تهدیدات جدی برای بقای گیاه هلپه در برخی



مناطق به شمار می روند. این پژوهش بر لزوم حفاظت از این گیاه و مدیریت پایدار منابع طبیعی تأکید می کند (Zengin et al., 2015).

۳-۲. فنولوژی گیاه هلپه

گیاه هلپه، یک گونه گیاهی چندساله است که جوانه زنی آن در بهار آغاز می شود و در تابستان به مرحله گلدهی می رسد. گل ها به طور معمول سفید یا بنفش هستند و معمولاً در اوایل تابستان ظاهر می شوند. پس از گلدهی، بذرها رسیده و گیاه وارد دوره استراحت می شود (Nawaz et al., 2020).

عوامل محیطی مانند دما، میزان بارندگی، شدت نور و ویژگی های خاک تأثیر مستقیم بر مراحل رشد و گلدهی گیاه هلپه دارند. در مناطق خشک و نیمه خشک، این گیاه معمولاً دوره رشد کوتاه تری دارد و به طور عمده در فصل های مرطوب تر رشد می کند. به علاوه، دماهای بالاتر می توانند سرعت رشد گیاه را کاهش دهند، اما این گیاه از طریق مکانیسم های خاص خود مانند تنظیم اسمزی و تغییرات در متابولیسم آنتی اکسیدانی، قادر به تحمل شرایط دمایی بالاتر است (Youssefi et al., 2018).

۳-۳. فیزیولوژی گیاه هلپه

حدود ۸۰ درصد بذره های تازه برداشت شده ی گیاه هلپه دارای نوعی خواب می باشند. خواب بذر این گیاه از نوع مکانیکی و ناشی از پوسته غیر قابل نفوذ بذر به آب و گازهاست و سوراخ کردن پوشش بذر، روشی موثر برای برطرف کردن خواب آن می باشد (شاکری و همکاران، ۱۳۸۸).

در سال های اخیر، چندین تحقیق به بررسی فیزیولوژیکی گیاه هلپه در مواجهه با تنش های محیطی مختلف پرداخته اند. به عنوان مثال، نتایج حاصل از پژوهشی در مورد اکوتیپ های مختلف این گیاه نشان داد که مقاومت نسبی این گیاه به تنش خشکی بالا می باشد. لذا به عنوان گیاه دارویی مناسبی برای کاشت در مناطق خشک و کم آب ایران معرفی گردید (توحیدی و همکاران، ۱۴۰۰). در پژوهشی دیگر، اذعان شد که این گیاه از طریق تولید ترکیبات اسمزی مانند پرولین و گلیسرول، که نقش حیاتی در حفظ تعادل آب سلولی دارند، به خوبی قادر به مقابله با شرایط خشکی و تنش های آبی است. در این مطالعه مشخص گردید که گیاه هلپه در شرایط کم آبی با افزایش تولید پرولین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی همچون سوپر اکسید دسموتاز و کاتالاز، مقاومت قابل توجهی نسبت به تنش خشکی از خود نشان می دهد. این گیاه همچنین به طور مؤثری می تواند در برابر شرایط دمایی بالا و تابش مستقیم خورشید از خود دفاع کرده و در شرایط بیابانی و نیمه خشک رشد کند. علاوه بر این، گیاه با تغییرات ساختاری در برگ ها و دیگر بافت های گیاهی، میزان تبخیر و تعرق را کنترل می کند (Kazemi et al., 2017).

ترکیبات شیمیایی اصلی گیاه هلپه شامل فلاونوئیدها، ترپن ها، گلیکوزیدها و اسیدهای فنلی هستند. این ترکیبات به ویژه در برابر تنش های محیطی و حملات میکروبی عملکرد مؤثری دارند (Vural et al., 2012).



۴-۳. ترکیبات و خواص دارویی گیاه هلپه

گیاه هلپه به دلیل ترکیبات شیمیایی فعالی که دارد، خواص دارویی فراوانی را از خود نشان می‌دهد. این ترکیبات شامل فلاونوئیدها، ترپن‌ها، اسیدهای فنلی و ترکیبات گلیکوزیدی می‌باشند که در درمان انواع بیماری‌ها مؤثر هستند. گیاه هلپه منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است که می‌توانند در پیشگیری از بیماری‌های مزمن و آسیب‌های سلولی ناشی از تنش‌های اکسیداتیو نقش داشته باشند. روغن اسانس حاصل از برگ‌های گیاه هلپه حاوی ترکیبات ترپنی مانند α -pinene، β -caryophyllene و camphene است که خواص ضد میکروبی و ضد التهابی برجسته‌ای دارند. این ترکیبات می‌توانند در درمان عفونت‌های باکتریایی و قارچی مؤثر واقع شوند و به‌ویژه در درمان بیماری‌های گوارشی و التهاب‌های مزمن مفید باشند. این گیاه دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی است که به‌ویژه در کاهش آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد مؤثر می‌باشد. به‌طور خاص، ترکیبات پلی‌فنلی موجود در آن باعث مهار فعالیت رادیکال‌های آزاد و پیشگیری از آسیب‌های سلولی می‌شود (Vural et al., 2012). ترکیبات موجود در گیاه هلپه از جمله فلاونوئیدها و ترپن‌ها باعث کاهش التهاب و درد در بیماری‌های مختلف مانند آرتروز و التهاب‌های روده‌ای می‌شوند. عصاره‌های این گیاه می‌توانند سطح گلوکز خون را کاهش دهند و به‌عنوان یک داروی کمکی در درمان دیابت نوع ۲ استفاده شوند (Nawaz et al., 2020). گیاه هلپه در برابر باکتری‌ها و قارچ‌های مختلف اثرات ضد میکروبی نشان داده است. این خاصیت باعث استفاده از گیاه در درمان عفونت‌ها و بیماری‌های میکروبی مختلف می‌شود. ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه هلپه می‌توانند به مهار رشد سلول‌های سرطانی و کاهش متاستاز در برخی از انواع سرطان‌ها کمک کنند. عصاره‌های این گیاه در درمان سرطان‌های پوست و روده بزرگ مؤثر بوده و با مهار برخی از مسیرهای سیگنالی و آنزیم‌های مرتبط با رشد سلولی، توانسته‌اند به‌طور معناداری از تکثیر سلول‌های سرطانی جلوگیری کنند (Zengin et al., 2015). گونه‌ی هلپه، به طرق مختلف جوشانده، بخور، خیسانده، کوبیده و غیره به عنوان ضد عفونی کننده، مسکن درد و ضد التهاب، یرقان، التیام جوش‌های چرکین ناحیه سر، درمان دیابت، تسکین گرفتگی ماهیچه ... استفاده می‌شود. در طب سنتی، گیاه هلپه به‌عنوان دارویی برای درمان مشکلات گوارشی مانند سوء هاضمه، دردهای معده، و بیماری‌های التهاب روده به‌کار می‌رود. علاوه بر این، در برخی مناطق به‌عنوان داروی تب‌بر، ضد درد، و تقویت کننده سیستم ایمنی استفاده می‌شود (Kazemi et al., 2017).

۵-۳. مصارف صنعتی گیاه هلپه

ترکیبات فعال گیاه هلپه به دلیل خواص درمانی برجسته‌اش در صنعت داروسازی کاربرد گسترده‌ای دارند. عصاره‌های گیاهی و ترکیبات شیمیایی استخراج شده از این گیاه به‌عنوان پایه برای تولید داروهای گیاهی و مکمل‌های غذایی استفاده می‌شوند. این داروها به‌ویژه برای درمان بیماری‌های التهابی، دیابت، و مشکلات گوارشی مؤثر هستند. همچنین، از این گیاه در تهیه برخی داروهای ضد باکتری و ضد قارچ نیز استفاده می‌شود (Vural et al., 2012).



در صنعت آرایشی و بهداشتی، عصاره گیاه هلپه به دلیل خاصیت ضد التهابی و آنتی اکسیدانی آن به عنوان یکی از مواد فعال در تولید کرم ها و لوسیون های پوستی مورد استفاده قرار می گیرد. این گیاه قادر است به عنوان یک عامل ضد پیری و ترمیم کننده پوست عمل کند و به کاهش چین و چروک ها و التهاب های پوستی کمک نماید (Zengin et al., 2015). گیاه هلپه در صنعت غذایی به عنوان طعم دهنده و نگهدارنده طبیعی در برخی محصولات استفاده می شود. ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در این گیاه می توانند به حفظ طعم و کیفیت مواد غذایی کمک کنند و از فساد آن ها جلوگیری نمایند. علاوه بر این، عصاره های آن در برخی نوشیدنی ها به عنوان یک افزودنی طبیعی برای بهبود طعم و خواص تغذیه ای استفاده می شود.

۳-۶. تهدیدها و حفاظت منابع طبیعی گیاه هلپه

با توجه به شرایط زیستگاهی خاص گیاه هلپه، این گیاه به راحتی در معرض تهدیداتی چون تغییرات اقلیمی، خشکسالی های طولانی مدت و برداشت های بی رویه برای مصارف دارویی قرار می گیرد. تخریب زیستگاه ها، چرای بیش از حد دام ها و آتش سوزی های جنگلی از دیگر تهدیدات این گیاه هستند. به ویژه در مناطقی که منابع طبیعی در حال کاهش هستند، جمعیت های گیاه هلپه در معرض خطر قرار دارند (Youssefi et al., 2018). برای حفاظت از گیاه هلپه، اقدامات مختلفی باید انجام شود. از جمله این اقدامات می توان به کشت در مناطق محافظت شده، پرورش این گیاه در مزارع و انجام تحقیقات برای توسعه روش های پایدار برداشت اشاره کرد. همچنین، آموزش جوامع محلی برای حفظ این گیاه و جلوگیری از برداشت های بی رویه می تواند تأثیر زیادی در حفظ منابع آن داشته باشد.

۳-۷. چالش ها و محدودیت ها در تحقیق و استفاده از گیاه هلپه

گرچه پژوهش هایی در زمینه فیزیولوژی و خواص دارویی گیاه هلپه انجام شده است، هنوز سوالات زیادی در زمینه سازگاری های دقیق آن با شرایط محیطی مختلف، خصوصیات ژنتیکی و نحوه تکثیر آن در شرایط کشاورزی مناسب، باقی مانده است. از آنجایی که این گیاه بیشتر در شرایط طبیعی و زیستگاه های خاص رشد می کند، کشت آن در مزارع به طور پایدار نیاز به تحقیق و توسعه بیشتری دارد. همچنین، مطالعات بیشتری برای شناسایی ترکیبات شیمیایی و اثربخشی آن ها در درمان بیماری های مختلف ضروری است. علاوه بر این، نیاز به مدیریت دقیق منابع و حفظ اکوسیستم های طبیعی این گیاه برای جلوگیری از برداشت های بی رویه و تخریب زیستگاه ها ضروری است.

۳-۸. پیشنهادها برای پژوهش های آینده در مورد گیاه هلپه

با توجه به شواهد علمی موجود، هنوز نیاز به انجام مطالعات بیشتر در زمینه های مختلف گیاه هلپه وجود دارد. این گیاه با خواص دارویی و فیزیولوژیکی منحصر به فرد خود می تواند به یکی از منابع معتبر دارویی و صنعتی تبدیل شود. اما برخی از چالش ها و محدودیت ها از جمله تکثیر، کاشت و مدیریت پایدار آن در مقیاس های وسیع همچنان باقی مانده است.



یکی از زمینه‌های مهم پژوهشی، بررسی تنوع ژنتیکی گیاه هلپه است. مطالعات ژنتیکی می‌توانند به شناسایی گونه‌ها و واریته‌های مقاوم‌تر کمک کنند که قابلیت رشد بهتر در شرایط مختلف محیطی را دارند. به‌ویژه در شرایط تغییرات اقلیمی، تعیین ویژگی‌های ژنتیکی و به‌کارگیری روش‌های اصلاح نباتات می‌تواند به حفظ این گیاه در مناطق مختلف کمک کند. مطالعه در زمینه روش‌های تکثیر و کشت گیاه هلپه به‌ویژه در شرایط کشاورزی می‌تواند به تولید این گیاه در مقیاس‌های بزرگتر کمک کند. بررسی شرایط بهینه رشد این گیاه و شناسایی راهکارهای مناسب برای کاهش مشکلات مربوط به کمبود منابع آبی و خاکی از جمله موضوعات مهمی است که باید بیشتر مورد توجه قرار گیرد. با توجه به اثرات گسترده دارویی گیاه هلپه، انجام تحقیقات بیشتر در زمینه فرمولاسیون‌های دارویی و مکمل‌های غذایی می‌تواند به تجاری‌سازی و افزایش دسترسی به این گیاه در بازارهای جهانی کمک کند. به‌ویژه نیاز به توسعه محصولات استاندارد شده که حاوی عصاره‌های این گیاه باشند، برای استفاده در صنایع دارویی و آرایشی بسیار ضروری است. تحقیقات بیشتری در زمینه اثرات زیست محیطی و اکولوژیکی گیاه هلپه در اکوسیستم‌های مختلف نیاز است. در این زمینه، شبیه‌سازی اثرات تغییرات اقلیمی و بررسی سازگاری گیاه با محیط‌های خشک و نیمه‌خشک، می‌تواند به بهبود مدیریت منابع طبیعی و استفاده پایدار از این گیاه کمک کند. همچنین، تحقیقات در زمینه تأثیرات آن بر تنوع زیستی و تعاملات اکولوژیکی با سایر گیاهان و موجودات زنده در زیستگاه‌های طبیعی می‌تواند به درک بهتری از نقشش در اکوسیستم‌ها بیانجامد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

هلپه (*Teucrium polium*)، گیاهی است با خواص دارویی و فیزیولوژیکی منحصر به فرد که توانایی مقابله با تنش‌های محیطی مختلف، به‌ویژه خشکی و دماهای بالا، را دارد. این گیاه در صنعت داروسازی و صنایع آرایشی و بهداشتی کاربردهای زیادی دارد و ترکیبات شیمیایی فعال آن، مانند فلاونوئیدها، ترپن‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، برای درمان بیماری‌های مختلف از جمله التهاب، دیابت، و عفونت‌ها مؤثر هستند. با این حال، چالش‌هایی همچون تهدیدات زیست محیطی، تغییرات اقلیمی و برداشت‌های بی‌رویه هنوز وجود دارند که نیاز به تحقیق و مدیریت دقیق منابع این گیاه را ضروری می‌سازد. پژوهش‌های بیشتر در زمینه تکثیر، کشت، و خواص دارویی این گیاه می‌تواند به بهره‌برداری مؤثرتر و پایدارتر از آن در آینده کمک کند.

منابع

- توحیدی، ز.، سبحانیان، ح.، و باقی زاده، ا. ۱۴۰۰. ارزیابی و مقایسه ده اکوتیپ از گیاه دارویی کلپوره (*Teucrium polium* L.) در تحمل به تنش خشکی. نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، ۱۶(۶۲): ۱۲۳-۱۲۸.
- شاکری، م.، میان آبادی، م.، و یزدانپرست، ر. ۱۳۸۸. اثر تیمارهای مختلف در شکست ن خواب بذر گیاه مریم نخودی (*Teucrium polium*) دو فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۷(۱): ۱۱۱-۱۰۰.
- Bahramikia, S., Hemmati Hassan Gavyar P., and Yazdanparast R. (2022). *Teucrium polium* L.: An updated review of phytochemicals and biological activities. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 12(3): 224-240.
- Kazemi, M., Zeynizadeh, B., and Alizadeh, M. (2017). Physiological responses of *Teucrium polium* to drought stress. *Journal of Medicinal Plants*, 16(2): 50-58.



- Nawaz, M., Iqbal, Z., and Shabbir, M. (2020). Antidiabetic potential of *Teucrium polium*: A review of pharmacological and clinical evidence. *Phytotherapy Research*, 34(1): 10-26.
- Vural, M., Cevik, U., and Ozdemir, C. (2012). Chemical composition and biological activities of *Teucrium polium* L. essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 24(5): 388-394.
- Youssefi, M., Naderi, R., and Khosravi, A. (2018). Ecological and environmental factors influencing the distribution of *Teucrium polium* in arid and semi-arid regions. *Environmental and Experimental Botany*, 148: 123-130.
- Zengin, G., Uysal, S., and Mahomoodally, M. F. (2015). Chemical composition, antibacterial and antioxidant properties of *Teucrium polium* L. essential oils. *Food Chemistry*, 173: 98-103.

بررسی تأثیر محلول پاشی ملاتونین بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی ریحان در شرایط تنش شوری

محمد رضا جلالی^۱، مینا امانی^{*}

^{*}گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. (Mina76amani@yahoo.com)

چکیده

در این تحقیق، به بررسی تأثیر ملاتونین بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی ریحان تحت تنش شوری پرداخته شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل غلظت‌های مختلف ملاتونین (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و سطوح مختلف تنش شوری (صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی مولار) بودند. نتایج نشان داد که میزان پرولین با شدت یافتن تنش شوری و افزایش غلظت ملاتونین افزایش یافت. بیشترین میزان پرولین در تیمار ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار مشاهده شد. مالون دی آلدئید نیز در شرایط تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار بدون محلول پاشی ملاتونین بیشترین مقدار را داشت. محلول پاشی ملاتونین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شد. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها در تیمار ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار مشاهده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که محلول پاشی ملاتونین تحت تنش شوری می‌تواند اثرات منفی این تنش را کاهش داده و موجب بهبود مقاومت گیاه در برابر آن شود.

واژگان کلیدی: تنش غیرزیستی، خصوصیات فیزیولوژیکی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، محرک‌های رشد.



۱. مقدمه

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) از تیره نعنائیان و با نام انگلیسی Sweet Basil، به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات فنولیک^۱ (به ویژه رزمانیک اسید^۲ و کافئیک اسید^۳) و فلاونوئیدها^۴ شناخته می شود (Jayasinghe *et al.*, 2003). گیاهان در طبیعت همواره در معرض تنش های زیستی و غیرزیستی مختلف قرار دارند که بر مورفولوژی، فیزیولوژی و رشد آنها تأثیر می گذارند. در میان تنش های محیطی، شوری بیشترین اثر منفی را بر رشد گیاهان دارد. شوری از سه طریق تنش اسمزی، وجود یون های سمی و عدم تعادل تغذیه ای بر واکنش های فیزیولوژیکی گیاه تأثیر منفی می گذارد. نمک های موجود در محلول غذایی اثر اسمزی دارند و از طریق فرآیندهای فیزیکی باعث کاهش دسترسی به آب و کاهش پتانسیل آب گیاه می شود، این وضعیت مشابه تنش خشکی است. بنابراین، در نتیجه، تنش شوری منجر به اختلال در فرآیندهای متابولیکی و کاهش رشد گیاه می شود (Moustafa-Farag *et al.*, 2020). تنش شوری با محدود کردن جذب آب و سمیت یونی بر فرآیندهای متابولیکی و رشد گیاه تأثیر گذاشته و از طریق کاهش غلظت کلروفیل و سرعت فتوسنتز، رشد گیاه را به طور قابل توجهی کاهش می دهد. افزون بر این، تنش شوری موجب ایجاد تنش اکسیداتیو از طریق افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن می شود. این گونه ها کربوهیدرات ها را اکسید کرده، رنگدانه ها را تخریب و به لیپیدهای غشای سلولی، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب می رسانند (Rady & Mohamed, 2015). امروزه، استفاده از ترکیباتی که موجب بهبود فعالیت های متابولیکی گیاهان و افزایش مقاومت آنها در برابر تنش های محیطی می شود، توصیه می شود. ملاتونین به عنوان یک تقویت کننده تحمل در برابر شرایط تنش محیطی مانند خشکی، شوری، سرما، گرما و آلاینده های شیمیایی شناخته می شود. این مولکول در گیاهان موجب ایجاد تغییرات اساسی در فرآیندهای بیوشیمیایی و بیان ژن های مرتبط با واکنش به تنش می شود (Moustafa-Farag *et al.*, 2020). ملاتونین به عنوان یک آنتی اکسیدان نقش حیاتی دارد و می تواند به عنوان یک پاک کننده رادیکال های آزاد برای محافظت از گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو عمل کرده و وضعیت اکسیداسیون و احیاء سلولی را تثبیت کند. علاوه بر این، ملاتونین تولید آنزیم های آنتی اکسیدان را تحریک کرده و بیوستز آنتی اکسیدان ها را تقویت می کند و همچنین چرخه آسکوربات-گلوتاتیون را فعال کرده تا گونه های فعال اکسیژن را از بین ببرد (Zhang *et al.*, 2015). تنش در گیاهان اجتناب ناپذیر است و گیاهان توانایی محدودی برای مقابله با آن دارند. با توجه به اینکه ملاتونین یک تنظیم کننده رشد است که در افزایش تحمل گیاهان به تنش شوری نقش دارد و از آنجا که محلول پاشی یک روش نسبتاً جدید است که بر روی برگ های گیاه انجام می شود، می تواند راهکار مناسبی برای افزایش تحمل به شوری باشد. بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی اثر محلول پاشی ملاتونین بر خصوصیات آنتی اکسیدانی گیاه سبزی-دارویی ریحان تحت تنش شوری می باشد.

¹ Phenolic² Razmanic acid³ Caffeic acid⁴ Flavonoids



۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. تعریف هدف تحقیق

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۱ انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل شوری در چهار غلظت (صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی مولار) و محلول پاشی برگ‌گی با سه سطح ملاتونین (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بود. برای کشت، از گلدان‌های استریل با ظرفیت هفت کیلوگرم و قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۱/۵ سانتی‌متر استفاده شد. جهت ضد عفونی بذور و جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی قارچی، بذور به مدت دو تا سه دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم با غلظت ۱ درصد غوطه‌ور شدند و سپس با آب مقطر شست‌وشو داده شدند. همچنین، برای ارزیابی توان جوانه‌زنی بذور ریحان، آزمایش جوانه‌زنی بر روی بذور انجام گرفت که درصد جوانه‌زنی ۹۵ درصد محاسبه شد. برای کشت بذور، ابتدا دوسوم از حجم گلدان با خاک پر شد، سپس چهار سانتی‌متر خاک روی آن افزوده شد. بذورها در خاک کاشته شدند و در نهایت، یک سانتی‌متر خاک دیگر بر روی بذورها ریخته شد. اولین آبیاری بلافاصله بعد از کشت انجام گرفت. جوانه‌زنی بذور در محیط گلخانه‌ای با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، پس از گذشت ۱۰ روز آغاز گردید. شرایط آبیاری گیاهان تا پیش از اعمال تیمارها یکسان بود و پس از استقرار گیاهان در گلدان‌ها در مرحله شش‌برگی، تیمارهای مختلف اعمال گردید. محلول شوری در غلظت‌های مختلف تهیه شده و گیاهان به صورت هفتگی، دو بار آبیاری شدند. جهت تهیه محلول ملاتونین از آب مقطر استفاده شد و تیمارهای شاهد با استفاده از آب مقطر محلول پاشی شدند. محلول پاشی ملاتونین در سه نوبت از مرحله چهاربرگی و با فاصله زمانی ۱۰ روز یک‌بار انجام گرفت. نهایتاً، نمونه برداری و ارزیابی صفات حدود دو هفته پس از آخرین محلول پاشی، در مرحله گلدهی صورت گرفت.

۲-۲. صفات مورد اندازه‌گیری

۲-۲-۱. پرولین

غلظت پرولین با استفاده از روش (Bates و همکاران، ۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد.

۲-۲-۲. مالون دی آلدهید

برای اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، از روش (Zheng و همکاران، ۲۰۰۵) استفاده شد که به وسیله تست تیوباربیتوریک اسید^۱ و سنجش میزان مالون دی آلدهید^۲ انجام گردید.

۲-۲-۳. آنزیم کاتالاز

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز^۳ بر اساس روش (Zhang و همکاران، ۲۰۱۳) با اندازه‌گیری سرعت حذف پراکسید هیدروژن انجام گرفت. یک واحد فعالیت کاتالاز بر مبنای تغییرات جذب نوری محلول در طول موج ۲۴۰ نانومتر در طی یک

^۱ Thiobarbituric acid (TBA)

^۲ Malondialdehyde (MDA)

^۳ Catalase

دقیقه و بر اساس میزان مصرف H_2O_2 برآورد شد.

۴-۲-۲. آنزیم پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز^۱ با استفاده از گایاکول^۲ و اندازه گیری میزان جذب تترایاکول تشکیل شده در نتیجه فعالیت پراکسیداز در طول موج ۴۷۰ نانومتر، مطابق با روش (Chance و Maehly، ۱۹۵۵) انجام شد.

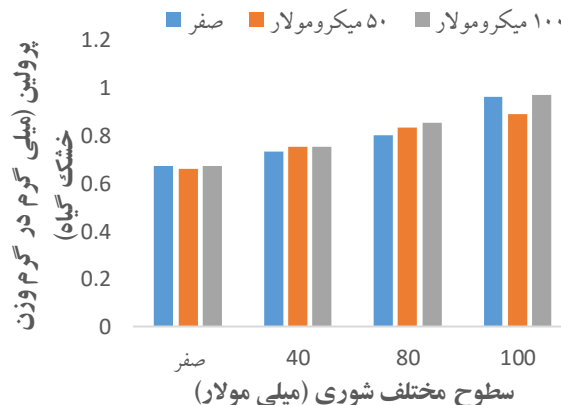
۴-۲-۲. تجزیه و تحلیل داده ها

کلیه تجزیه های آماری و مقایسه میانگین های داده ها پس از اطمینان از نرمال بودن توزیع داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده گردید. رسم شکل ها و نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel صورت پذیرفت.

۳. نتایج

۳-۱. پرولین

نتایج مقایسه میانگین داده ها نشان داد که با افزایش سطوح تنش، میزان پرولین افزایش می یابد و ملاتونین موجب افزایش بیشتر این مقدار می شود، به طوری که بیشترین میزان پرولین مربوط به تیمار محلول پاشی ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین و تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار بود. همچنین کمترین مقدار پرولین در شرایط بدون تنش به دست آمد (شکل ۱).



شکل ۱- میانگین اثر متقابل سطوح مختلف تنش شوری در غلظت های متفاوت ملاتونین بر محتوای پرولین

۳-۲. مالون دی آلدهید

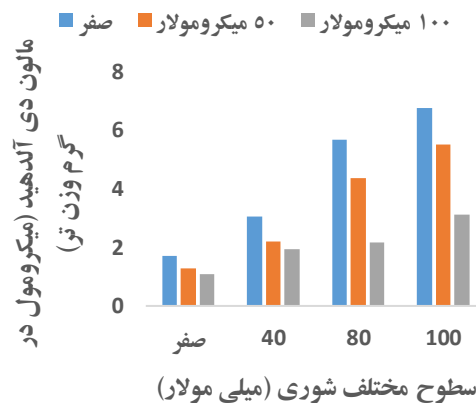
نتایج نشان داد که تنش شوری منجر به افزایش میزان مالون دی آلدهید در بافت گیاهی شد، به طوری که در هر سطح شوری، با افزایش غلظت ملاتونین، میزان مالون دی آلدهید به طور معنی داری کاهش یافت. بیشترین میزان مالون

¹ Peroxidase (POD)

² Guaiacol



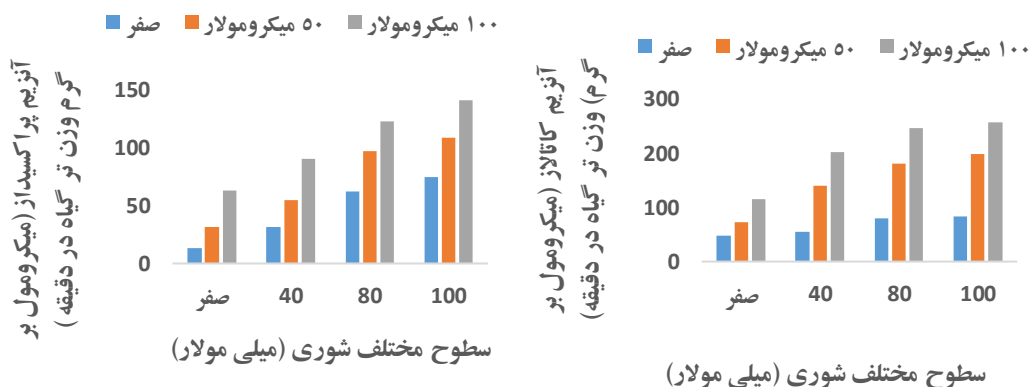
دی آلدهید مربوط به تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار (۶/۷۵ میکرومول در گرم وزن تر) بدون محلول پاشی بود، در حالی که کمترین میزان مالون دی آلدهید (۱/۰۸ میکرومول در گرم وزن تر) مربوط به تیمار ۱۰۰ میکرومولار محلول پاشی ملاتونین بدون تنش شوری بود.



شکل ۲- میانگین اثر متقابل سطوح مختلف تنش شوری در غلظت‌های متفاوت ملاتونین بر مالون دی آلدهید

۳-۳. آنزیم کاتالاز

محلول پاشی ملاتونین منجر به افزایش بیشتر فعالیت آنزیم کاتالاز و بهبود تحمل گیاه در پاسخ به تنش شوری گردید. فعالیت آنزیم کاتالاز به طور معنی داری تحت تأثیر سطوح مختلف شوری قرار گرفت. نتایج برهمکنش تنش شوری و محلول پاشی ملاتونین نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به تیمار ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین و تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار بود (۲۵۶/۴۵ میکرومول بر گرم وزن تر گیاه در دقیقه). همچنین، کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به نمونه شاهد بود (۴۶/۹۳ میکرومول بر گرم وزن تر گیاه در دقیقه). براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تمام غلظت‌های ملاتونین افزایش یافت. بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۱۴۷/۶۷ میکرومول بر گرم وزن تر گیاه در دقیقه) در تیمار ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین و در سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار مشاهده شد، در حالی که کمترین مقدار آنزیم پراکسیداز مربوط به شرایط بدون تنش و بدون محلول پاشی بود (شکل ۳).





شکل ۴- میانگین اثر متقابل سطوح مختلف تنش شوری در غلظت‌های متفاوت ملاتونین بر آنزیم کاتالاز و آنزیم پراکسیداز

۴. بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش تنش شوری سبب افزایش در میزان پرولین در گیاه شد که با نتایج پژوهش روی گیاه همیشه بهار (Kozminska *et al.*, 2017) و پنی‌ک مردابی (Wang *et al.*, 2015) همسو بود. افزایش مقدار پرولین در بافت‌های گیاهی می‌تواند نتیجه کاهش تجزیه پرولین، افزایش بیوسنتز آن، استفاده کمتر از آن در سنتز پروتئین و افزایش هیدرولیز پروتئین باشد. بنابراین راه‌های افزایش پرولین در گیاهان متفاوت است (Aqeel Ahmad *et al.*, 2007). در این پژوهش، ملاتونین اثر مثبتی بر انباشت پرولین در گیاه تحت تنش شوری داشت. نقش ملاتونین در افزایش پرولین به علت نقش آن در نگه داشتن آب سلول و محافظت از غشا و پروتئین مهار ROS و خواص آنتی‌اکسیدانی آن است (Turk *et al.*, 2014).

گزارش‌های متعددی مبنی بر افزایش بیش از حد محتوای مالون دی‌آلدهید در شرایط تنش وجود دارد (Marček *et al.*, 2019). پژوهشگران مختلفی از تأثیر ملاتونین در کاهش محتوای مالون دی‌آلدهید و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی گزارش داده‌اند (Li *et al.*, 2018). همچنین گزارش شده است که ملاتونین در پاسخ به تنش گیاهی، پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش داده و پیش‌تیمار با ملاتونین موجب کاهش محتوای مالون دی‌آلدهید تحت تنش‌های غیرزیستی می‌شود (Wang *et al.*, 2017).

تنش شوری با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن منجر به آسیب سلولی می‌شود. کاربرد ملاتونین در شرایط تنش با افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز، نقش مهمی در حفظ تولید گونه‌های فعال اکسیژن در یک سطح نرمال و جلوگیری از تولید بیش از اندازه آن‌ها دارد (ElSayed *et al.*, 2021). در مورد روند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش، نتایج متفاوتی گزارش شده است. برخی پژوهشگران از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (Ibrahim *et al.*, 2020)، برخی از کاهش فعالیت آنزیم‌ها (Ibrahim *et al.*, 2020) و برخی دیگر از بدون تغییر ماندن فعالیت آنزیم‌ها گزارش داده‌اند (Nahar *et al.*, 2015). مشخص شده است که کاربرد ملاتونین منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش می‌شود (Ye *et al.*, 2016). تنش موجب تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و از بین رفتن تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن و سمیت‌زدایی آن می‌شود (Gong *et al.*, 2005). تجمع گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند باعث پراکسیداسیون لیپیدها، تجزیه کلروفیل، اتلاف استحکام غشاهای سلولی و کاهش فعالیت فتوسنتزی شود. به همین منظور، گیاهان سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی را برای حفاظت در برابر آسیب‌های گونه‌های فعال اکسیژن توسعه داده‌اند (Campos *et al.*, 2019). در یک مطالعه نشان داده شد که استفاده از ملاتونین باعث افزایش معنی‌دار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش می‌شود (Zamani *et al.*, 2019). همچنین گزارش شده است که در شرایط بدون تنش، تحت شرایط شاهد، ملاتونین منجر به هیچ نوع تغییر معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز نشد (Li *et al.*, 2019).

نتایج این پژوهش نشان داد که برهمکنش تنش شوری و غلظت‌های مختلف ملاتونین موجب تغییرات قابل توجهی در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز) و میزان اسمولیت‌های سازگار از جمله پرولین و مالون دی‌آلدهید شد.



بیشترین فعالیت آنزیم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی و تجمع پرولین در تیمار تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار همراه با محلول پاشی ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین مشاهده شد. همچنین، با افزایش غلظت ملاتونین، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی به طور معنی داری افزایش یافت و ملاتونین تأثیر مثبتی بر محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی داشت. مجموع نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که شوری سبب کاهش و اختلال در سیستم‌های متابولیکی گیاه می‌شود. با این حال، کاربرد ملاتونین تحت شرایط تنش شوری می‌تواند با تقویت فعالیت سیستم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی، اثرات منفی تنش شوری را کاهش داده و باعث افزایش تحمل گیاه به این نوع تنش گردد. این یافته‌ها بر اهمیت ملاتونین به عنوان یک تنظیم کننده رشد و محافظت کننده در برابر آسیب‌های ناشی از تنش شوری تأکید می‌کنند.

منابع

- Aqeel Ahmad, M.S., Javed. F., and Ashraf, M. (2007). Iso-osmotic effect of NaCl and. PEG on growth, cations and free proline accumulation in callus tissue of two indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Plant Growth Regulation*, 53: 53-63.
- Bates, L.S. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.
- Campos, C. N., Ávila, R. G., de Souza, K. R. D., Azevedo, L. M., and Alves, J. D. (2019). Melatonin reduces oxidative stress and promotes drought tolerance in young *Coffea arabica* L. plants. *Agricultural Water Management*, 211: 37-47.
- Chance, B., and Maehly, A. C. (1955). Assays of Catalases and Peroxidases. In: *Methods in Enzymology*. (Colowick, S.P. and Kaplan, N.O., Eds.) Academic Press, New York, 764-775.
- ElSayed, A. I., Rafudeen, M. S., Gomaa, A. M., and Hasanuzzaman, M. (2021). Exogenous melatonin enhances the reactive oxygen species metabolism, antioxidant defense-related gene expression, and photosynthetic capacity of *Phaseolus vulgaris* L. to confer salt stress tolerance. *Physiologia plantarum*, 173(4): 1369-1381.
- Gong, H., Zhu, X., Chen, K., Wang, S., and Zhang, C. (2005). Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Science*, 169(2): 313-321.
- Ibrahim, M. F., Elbar, O. H. A., Farag, R., Hikil, M., El-Kelish, A., El-Yazied, A. A., and El-Gawad, H. G. A. (2020). Melatonin counteracts drought induced oxidative damage and stimulates growth, productivity and fruit quality properties of tomato plants. *Plants*, 9(10): 1276.
- Jayasinghe, C., Gotoh, N., Aoki, T., and Wada, S. (2003). Phenolics composition and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 51(15): 4442-4449.
- Kozminska, A., Al Hassan, M., Kumar, D., Oprica, D., Martinelli, F., Nicusor Grigore M., Vicente, O. و Boscaiu, M. (2017). Characterizing the effects of salt stress in *Calendula officinalis* L. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 90: 323-329.
- Li, J., Yang, Y., Sun, K., Chen, Y., Chen, X., and Li, X. (2019). Exogenous melatonin enhances cold, salt and drought stress tolerance by improving antioxidant defense in tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Molecules*, 24(9): 1826.
- Li, J., Zeng, L., Cheng, Y., Lu, G., Fu, G., Ma, H., and Li, C. (2018). Exogenous melatonin alleviates damage from drought stress in *Brassica napus* L. (rapeseed) seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40: 1-11.
- Marček, T., Hamow, K. A., Vegh, B., Janda, T., and Darko, E. (2019). Metabolic response to drought in six winter wheat genotypes. *PloS One*, 14(2).
- Moustafa-Farag, M., Elkelish, A., Dafea, M., Khan, M., Arnao, M. B., Abdelhamid, M. T., and Ai, S. (2020). Role of melatonin in plant tolerance to soil stressors: salinity, pH and heavy metals. *Molecules*, 25(22): 5359.
- Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Alam, M. M., and Fujita, M. (2015). Exogenous glutathione confers high temperature stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata* L.) by modulating antioxidant defense and



- methylglyoxal detoxification system. *Environmental and Experimental Botany*, 112: 44-54.
- Turk, H., Erdal, S., Genisel, M., Atici, O., Demir, Y., and Yanmis, D. (2014). The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. *Plant Growth Regulation*, 74: 139-152.
- Wang, H., Tang, X., Wang, H., and Shao, H-B. (2015). Proline accumulation and metabolism-related genes expression profiles in *Kosteletzkyia virginica* seedlings under salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 6: 792.
- Wang, L., Feng, C., Zheng, X., Guo, Y., Zhou, F., Shan, D., Liu, X., and Kong, J. (2017). Plant mitochondria synthesize melatonin and enhance the tolerance of plants to drought stress. *Journal of Pineal Research*, 63(3): e12429.
- Ye, J., Wang, S., Deng, X., Yin, L., Xiong, B., and Wang, X. (2016). Melatonin increased maize (*Zea mays* L.) seedling drought tolerance by alleviating drought-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(2): 48.
- Zamani, Z., Amiri, H., and Ismaili, A. (2020) Improving drought stress tolerance in fenugreek (*Trigonella foenumgraecum*) by exogenous melatonin. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 1-13.
- Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S., and Guo, Y. D. (2015). Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. *Journal of Experimental Botany*, 66(3): 647-656.
- Zhang, Z., Huber, D. J., and Rao, J. (2013). Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, 76: 58-64.
- Zheng, X.L., Tian, S.P., Xu, Y., and Li, B.Q. (2005). Effects of exogenous oxalic acid on ripening and decay incidence in mango fruit during storage at controlled atmosphere. *Journal of Fruit Science*, 22(4): 351-355.



بررسی اثر نانوکمپلکس های سیلیکون، بر خصوصیات مورفو-فیتوشیمیایی و جذب عناصر

معدنی در آویشن شیرازی *Zataria multiflora* Boiss.

سحر مصطفوی^{۱*}، حسینعلی اسدی قارنه^۱، وحید توللی^۲، وحید روشن^۳

^۱ گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران (shr.mostafavi64@gmail.com)

^۲ گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، ۱۹۳۹۵-۳۶۹۷

^۳ گروه منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی،

شیراز، ایران، ۷۱۵۵۵-۶۱۷

چکیده

آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* Boiss. درختچه ای چندساله و متعلق به خانواده Lamiaceae می باشد. با توجه به خواص درمانی این گیاه، تلاش برای افزایش عملکرد گیاه و همچنین افزایش راندمان متابولیت های ویژه برای استفاده در صنایع مختلف کشاورزی، غذایی، دارویی و آرایشی-بهداشتی بسیار حائز اهمیت است. در این پژوهش تاثیر تیمارهای سیلیکات سدیم، نانوذرات سیلیس، nSi-DA6، Atonik، DA-6 و nSi-Atonik در غلظت های ۱/۵، ۳ و ۶ میلی مولار بر خصوصیات مورفو-فیتوشیمیایی و جذب عناصر در آویشن شیرازی مورد ارزیابی قرار گرفت. به این منظور، آزمایشی به صورت طرح بلوک کامل تصادفی و در ۳ تکرار اجرا شد. محلول پاشی بر اساس روش های تجربی و در دو نوبت انجام شد. اولین مرحله ی محلول پاشی گیاهان در مرحله ۶ تا ۸ برگی روی اندام هوایی اندام هوایی صورت گرفت و محلول پاشی بعدی در شروع مرحله گلدهی اتفاق افتاد. در پژوهش حاصل نتایج حاصل از هر تیمار مورد بررسی قرار گرفته است. با توجه به نتایج، بیشترین طول شاخساره، وزن تر شاخساره، وزن تر ریشه و وزن تر گل آذین به ترتیب ۸۵/۵۵ سانتی متر، ۲۶۵ گرم، ۸۵/۶ گرم و ۲۸/۹ گرم با کاربرد غلظت های تیمار nSi-DA6 حاصل شد. همچنین بیشترین میزان سیلیسیوم در نمونه های تیمار شده با نانوذرات سیلیس، ۰/۲۶۳ میلی گرم در گرم وزن خشک به دست آمد. بیشترین مقدار اپی کتچین در غلظت ۳ میلی مولار nSi-Atonik، ۰/۰۹۹ میلی گرم در گرم وزن خشک، و همچنین بیشترین مقدار نارینجین و رزماریتیک اسید نیز با استفاده از تیمار nSi-DA6 در غلظت ۶ میلی مولار به ترتیب ۰/۰۹۹، ۴/۵۴ و ۳/۸۴ میلی گرم در گرم وزن خشک گزارش شد.

واژگان کلیدی: آویشن شیرازی، سیلیکات سدیم، مورفو-فیتوشیمیایی، نانوکمپلکس ها



۱. مقدمه

آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* Boiss. یکی از مهم ترین گیاهان خانواده Lamiaceae می باشد (Shomali, 2019). این گیاه از نظر جغرافیایی در مرکز و جنوب ایران (اصفهان، خوزستان، فارس، خراسان، سیستان و بلوچستان، لرستان، یزد و کرمان)، پاکستان و افغانستان به صورت وحشی رشد می کند و از قدیم به عنوان یک چاشنی محبوب مورد استفاده قرار می گرفت (Sajed et al., 2013). اندام هوایی آویشن شیرازی، نه تنها یک چاشنی محبوب است، بلکه در طب سنتی به دلیل خواص ضد عفونی کننده و ضد اسهال مورد استفاده قرار می گیرد (Iranian Herbal Pharmacopoeia, 2002). کاربرد نوظهور فناوری نانو در علوم گیاهی یکی از موضوعات روز دنیاست که تحقیقات در این حیطه در آغاز راه اما رو به گسترش می باشد، به صورتی که هنوز بسیاری از اثرها و کارکردهای نانومواد بر مکانیسم های فیزیولوژیک و متابولیک گیاهان ناشناخته است. یکی از مهم ترین کاربردهای فناوری نانو در زمینه های مختلف کشاورزی استفاده از نانوذرات در تولید مواد غذایی برای بهبود رشد و نمو، بررسی واکنش های فیزیولوژیک و ایجاد تغییر در پروفایل شیمیایی گیاهان دارویی به خاطر نفوذ سریع این مواد است (Peyvandi et al., 2012). نانوذرات سیلیس همان طور که از نام آن پیداست یکی از نوآوری های نانو بیوتکنولوژی است و تحقیقات در این مورد با سرعتی فزاینده طی پنج سال اخیر، برتری آن را نسبت به استفاده از سیلیسیوم حجیم برای رشد گیاهان نشان داده است (Mathur and Roy, 2020). همچنین گروه دیگری از مولکول ها که باعث تحریک یا کنترل رشد، نمو، تولید مثل و بقای گیاه می شوند، تنظیم کننده های رشد گیاهی هستند. این مولکول ها به عنوان عوامل انتقال سیگنال در داخل گیاه، بین گیاهان مختلف یا بین گیاهان و سایر موجودات زنده عمل می کنند. آن ها معمولاً در غلظت های بسیار پایین برای تنظیم فرآیندهای بیوشیمیایی مانند تشکیل گل ها، ساقه ها و برگ ها، همچنین ریختن برگ ها و توسعه میوه ها عمل می کنند.

در پژوهشی، استفاده از نانوذرات برای ارزیابی تغییرات فیتوشیمیایی و ترکیبات فعال زیستی گیاهان موضوع پژوهش پژوهشگران متعددی بوده است در این راستا محققان موفق به بیوسنتز نانوذرات روی شده و به بررسی این نانوذرات به طور کمپلکس با ۵- آمینولولینیک اسید روی ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه انیسون پرداختند (Tavallali et al., 2019). همچنین در مطالعه ای آن ها به سنتز سبز روی- گلیسین اشاره کرده و اثرات این ترکیب کلاته را روی گیاه پسته مورد ارزیابی قرار دادند. در پژوهشی دیگر، نانوذرات نقره را به صورت بیوسنتزی روی شاخص های رشد و فیتوشیمیایی گیاه بادرنجبویه مورد ارزیابی قرار دادند و نشان دادند که این نانوذرات باعث بهبود در رشد گیاه و افزایش متابولیت های ثانویه گیاه می شود (Tavallali and Karimi, 2017). در مطالعه دیگری مشخص گردید که نانو ذرات نقره مشخصات رشدی گیاه (طول ساقه و ریشه و سطح برگ) و ویژگی های بیوشیمیایی (محتویات کلروفیل، کربوهیدرات و پروتئین، آنزیم های آنتی اکسیدانی) در گیاهان کلزا، لوبیا و ذرت را افزایش می دهد (Salama, 2017). در پژوهشی دیگر محققان پاسخ گیاه گل گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis*) را در برابر محلول پاشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم مورد ارزیابی قرار دادند و چنین نتیجه گرفتند که نانوذرات مورد استفاده موجب افزایش ارتفاع گیاه، افزایش وزن تر و خشک گیاه می شود (Heydari et al., 2017).



با توجه به اهمیت نانوفناوری در بهبود کیفیت تولید محصولات کشاورزی، این پژوهش با هدف ارزیابی تاثیر سطوح مختلف سیلیکون-DA6 و سیلیکون-اتونیک نانو کمپلکس ها بر شاخص های رشد و جذب برخی عناصر در گیاه آویشن شیرازی انجام شد.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. مواد گیاهی و شرایط رشدی

این آزمایش طی سال های ۱۴۰۳-۱۴۰۲، در مزرعه الگویی گیاهان دارویی فیروزآباد استان فارس (۳۳ درجه و ۵۲ دقیقه و ۵۳ ثانیه شمالی؛ ۴۸ درجه و ۶ دقیقه و ۱۵ ثانیه شرقی) با ۱۷۰۵ متر ارتفاع از سطح دریا اجرا شد. نشاء ها در گلدان ها پلاستیکی محتوی خاک استریل کشت و در یک محیط کنترل شده تحت فتوپریود ۱۶ ساعت، دمای متوسط ۲۷/۶-۲۲/۴ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۱۷/۱۱ درصد نگهداری شدند. آبیاری با توجه به ظرفیت زراعی دو بار در هفته انجام شد. طی مدت آزمایش، علف های هرز و برگ های خشک شده به صورت دستی حذف شدند. تیمارها شامل سیلیکات سدیم، nSi، DA-6، Atonik، Si-DA6 و Si-Atonik کمپلکس بود که مطابق با روش توللی و کریمی (۲۰۱۷) سنتز شدند. تیمارها در سه غلظت ۱/۵، ۳ و ۶ میلی مولار بر روی بوته ها در دو مرحله ۴ تا ۶ برگی و ابتدای گلدهی محلول پاشی شدند.

۲-۲. اندازه گیری ویژگی های مورد مطالعه

محاسبه ی طول ریشه و شاخساره ی گیاه به کمک خط کش انجام شد. سطح برگ با استفاده از دستگاه سطح سنج مورد ارزیابی قرار گرفت. برای اندازه گیری وزن تر ریشه و شاخساره، ریشه های هر تکرار به طور کامل شستشو و سپس با جداسازی قسمت ریشه از سرشاخه، عمل توزین هر کدام به طور جداگانه انجام شد. وزن تر گل آذین با استفاده از ترازوی حساس اندازه گیری شد.

درصد نیتروژن کل به وسیله ی دستگاه کجداال و به روش برمر و مولوانی (۱۹۸۲) محاسبه شد. در این روش ابتدا نیتروژن به کمک سولفوریک اسید غلیظ، اکسید و به سولفات آمونیوم تبدیل و سپس با عمل تقطیر، آمونیوم حاصل به صورت گاز آمونیاک آزاد و جمع آوری گردید و میزان نیتروژن کل از طریق رابطه ۱ زیر بدست آمد:

$$TN = (T-B)/S \times N \times 14/1000 \times 100$$

معادله ۱.

که در این رابطه، TN درصد کل نیتروژن، T (میلی لیتر) اسید سولفوریک مصرفی برای شاهد، S (گرم) وزن نمونه و N (نرمالیت) اسید سولفوریک می باشد.

اندازه گیری میزان روی به روش کارارا (۱۹۹۸) انجام شد. سپس مقدار جذب به وسیله دستگاه جذب اتمی قرائت شد. در پایان میزان روی بوسیله منحنی استاندارد تعیین شد. در این روش نمونه ها طی سوزاندن خشک و ترکیب با کلریدریک اسید هضم شد؛ سپس با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه گیری سیلیسیوم انجام گرفت.

برای ارزیابی میزان اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (Waters, 2695, Milford, Massachusetts, USA) استفاده شد. ۰/۲ گرم از نمونه خشک شده بوسیله خشک کن انجمادی، با ۲ میلی لیتر متانول اسیدی (۸۵ درصد متانول + ۱۵ درصد استیک اسید) مخلوط و تحت شرایط امواج فراصوت درون حمام فراصوت در دمای پایین و تاریکی قرار گرفت. سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از جمع آوری فاز روئی و تبخیر حلال، به عصاره خشک بدست آمده ۳۵۰ میکرولیتر آن-هگزان اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در مرحله بعد محلول فوقانی به وسیله فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر صاف شد. جذب ترکیبات فنولی با استفاده از آشکارساز UV در طول موج ۲۸۰ نانومتر و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد مورد ارزیابی قرار گرفت و شناسایی پیک مربوط به ترکیبات فنولی از طریق مقایسه زمان بازداری آن با پیک مشاهده شده از تزریق استاندارد مربوطه انجام شد (Barreca et al., 2016).

۳. نتایج

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر شاخص های مورفولوژیک آویشن شیرازی در جدول ۱. نمایش داده است. با توجه به جدول، اثر تیمارها بر طول شاخساره، همچنین وزن تر شاخساره، ریشه و گل آذین در سطح ۵ درصد معنی دار می باشد.

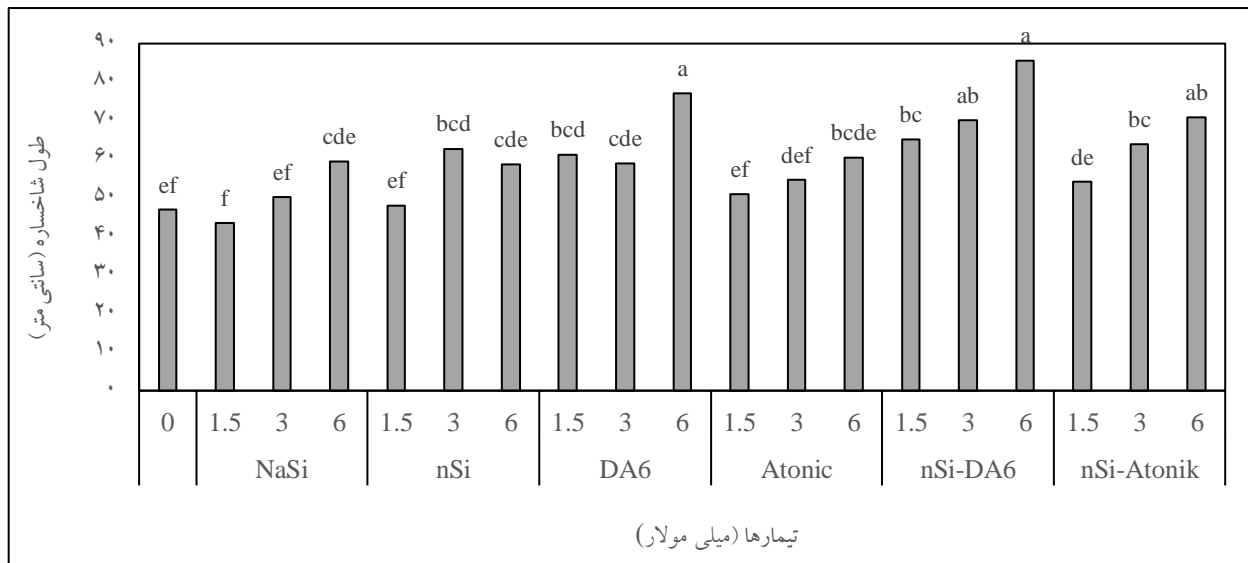
جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت های مختلف تیمارها بر شاخص های مورفولوژیک و عملکرد آویشن شیرازی

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول شاخساره	طول ریشه	وزن تر شاخساره	وزن تر ریشه	وزن تر گل آذین
تیمارها (سیلیکات سدیم، nSi، Si-DA6، Atonik و Si-Atonic)	۱۸	۱۵۳۸/۴*	۴۹۳/۵ ^{NS}	۹۸۴/۶*	۷۴۳/۸*	۴۹۱/۵*
خطا	۳۸	۱۶۴/۲	۳۵۲/۸	۳۲۸/۰	۲۶۸/۱	۱۷۴/۶
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱۲/۳	۱۵/۷	۷/۶	۱۷/۵	۱۰/۵

* و ^{NS} به ترتیب نشان دهنده معنی دار شدن در سطح آماری ۵ درصد و عدم معنی داری

۳-۱. طول شاخساره

استفاده از سیلیکات سدیم در غلظت های ۱/۵ و ۳ میلی مولار اثر معنی داری بر طول شاخساره نداشت؛ اما کاربرد غلظت ۶ میلی مولار این تیمار باعث افزایش طول شاخساره به ۵۹/۴ سانتی متر شد. همچنین استفاده از غلظت ۳ و ۶ میلی مولار نانوذرات سیلیس باعث افزایش طول شاخساره ترتیب به ۶۲/۷۵ و ۵۸/۶۴ سانتی متر شد. کاربرد تیمار آتونیک و کمپلکس آن با نانوذرات سیلیس نیز باعث افزایش طول شاخساره شد و در بین غلظت های مختلف این تیمار، غلظت ۶ میلی مولار بیشترین تاثیر را بر میزان طول شاخساره داشت. در بین تیمارهای مختلف بیشترین میزان طول شاخساره در تیمار DA6 بدست آمد، به طوری که استفاده از غلظت ۶ میلی مولار DA6 و nSi-DA6 بیشترین طول شاخساره را در پی داشت و اندازه ی شاخساره را به ترتیب به ۷۶/۹۸ و ۸۵/۵۵ سانتی متر افزایش داد (شکل ۱).



شکل ۱. اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات سدیم، نانوذرات سیلیس، DA6، آتونیک، nSi-DA6 و nSi-Atonik بر طول شاخساره در آویشن شیرازی

(میانگین‌های دارای حروف متفاوت، در سطح پنج درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌دار دارند).

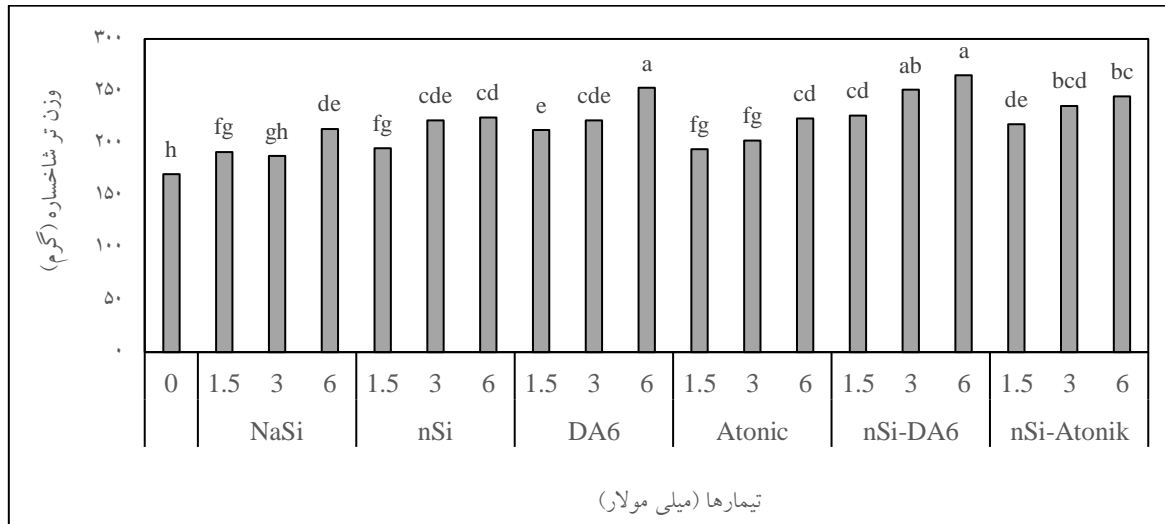
محققین مختلفی اثرات مثبت سیلیسیوم، بر رشد و عملکرد و همچنین فیزیولوژی و متابولیسم در گونه‌های مختلف گیاهی را گزارش کرده‌اند (Ma and Yamaji, 2008). برخی مطالعات بر تاثیر مستقیم و غیر مستقیم ترکیبات حاوی سیلیسیوم بر تغییرات مورفولوژیکی و فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان تاکید می‌کنند (Bybordi, 2012). گاو و همکارانش نیز گزارش کردند که افزودن سیلیسیوم به خاک باعث افزایش رشد ریشه و شاخساره در یونجه می‌شود.

۳-۲. وزن تر شاخساره و ریشه

شکل ۲ قسمت a، نشان می‌دهد که، غلظت ۶ میلی‌مولار سیلیکات سدیم و غلظت‌های ۳ و ۶ میلی‌مولار نانوذرات سیلیس میزان وزن تر شاخساره را از ۱۷۰ گرم در نمونه شاهد به ترتیب به ۲۱۴، ۲۲۲ و ۲۲۵ گرم افزایش دادند. با افزایش غلظت‌های DA6 و nSi-DA6 روند صعودی معنی‌داری در وزن تر شاخساره مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان وزن تر شاخساره در



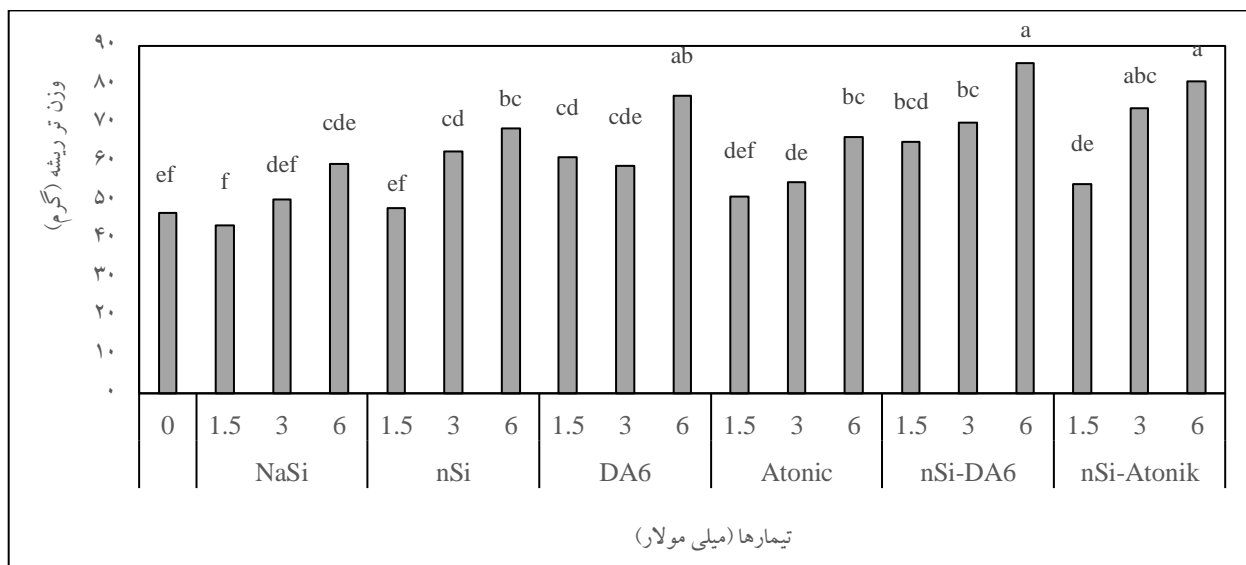
غلظت ۶ میلی مولار nSi-DA6، ۲۶۵ گرم و DA6، ۲۵۳ گرم به ثبت رسید. از سوی دیگر استفاده از تیمار آتونیک و کمپلکس آن با سیلیس نیز افزایش معنی دار وزن تر را در مقایسه با نمونه شاهد نشان داد، به طوری که استفاده از غلظت ۶ میلی مولار nSi-Atonik باعث افزایش وزن تر شاخساره به ۲۴۵ گرم شد.



شکل ۲ قسمت a. اثر غلظت های مختلف سیلیکات سدیم، نانوذرات سیلیس، DA6، آتونیک، nSi-DA6 و nSi-Atonik بر وزن تر شاخساره در آویشن شیرازی

(میانگین های دارای حروف متفاوت، در سطح پنج درصد آزمون LSD اختلاف معنی دار دارند).

نتایج حاصل از شکل ۲ قسمت b، نشان می دهد، غلظت های ۱/۵، ۳ و ۶ میلی مولار سدیم سیلیکات و نیز غلظت ۱/۵ میلی مولار نانوذرات سیلیس، اثر معنی داری بر وزن تر ریشه نداشت؛ اما غلظت های ۳ و ۶ میلی مولار نانوذرات سیلیس به ترتیب باعث افزایش معنی دار وزن تر به ۶۲/۸ و ۶۸/۶ گرم نسبت به نمونه شاهد شد. از سوی دیگر استفاده غلظت های ۱/۵، ۳ و ۶ میلی مولار DA6 میزان وزن تر ریشه را به ترتیب به ۶۱/۳، ۵۹ و ۷۷ گرم افزایش داد. همچنین استفاده از غلظت ۶ میلی مولار آتونیک، وزن تر ریشه را نسبت به نمونه شاهد افزایش داد و به ۶۶/۴ گرم رساند؛ اما بیشترین میزان وزن تر ریشه در تیمارهای ۶ میلی مولار nSi-DA6، ۶ میلی مولار nSi-Atonik و ۳ میلی مولار nSi-Atonik حاصل شد.



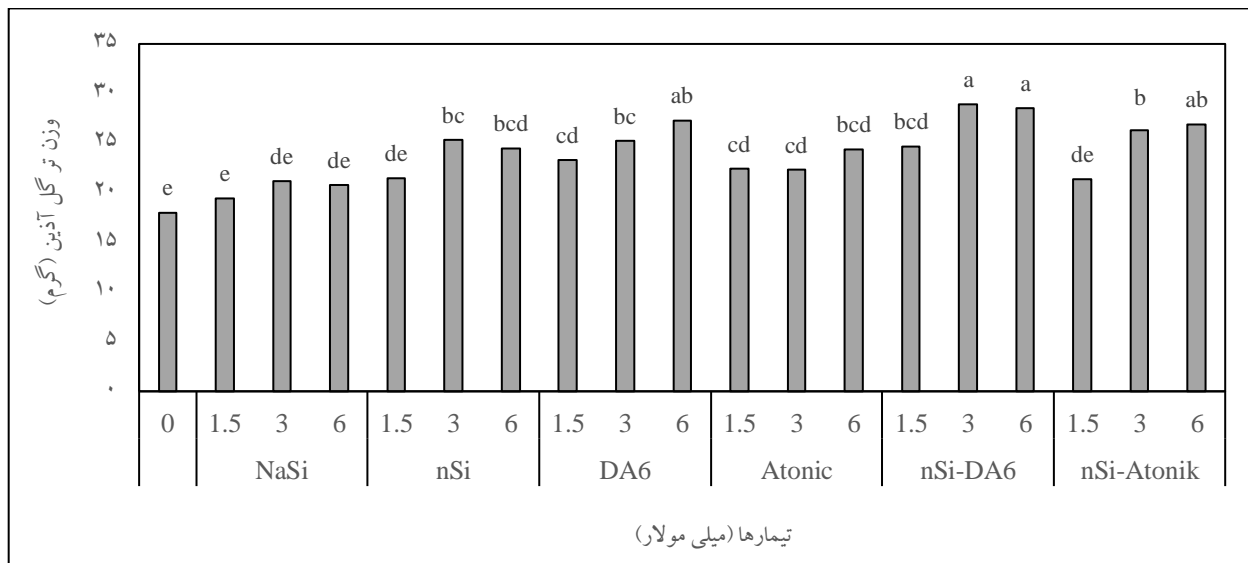
شکل ۲ قسمت b. اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات سدیم، نانوذرات سیلیس، DA6، آتونیک، nSi-DA6 و nSi-Atonik بر وزن تر ریشه در آویشن شیرازی

(میانگین‌های دارای حروف متفاوت، در سطح پنج درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌دار دارند.)

مطالعات (Mali and Aery, 2008) بر روی لوبیا نشان داد، استفاده از سیلیس باعث افزایش طول ریشه و شاخساره، وزن خشک و سطح برگ می‌شود. همچنین سیلیسیوم اضافه شده، خشبی شدن برگ‌های بالغ را افزایش می‌دهد، پیری برگ را به تاخیر می‌اندازد و محتوای کلروفیل و فعالیت‌های آنزیمی را افزایش می‌دهد، که این عوامل بهبود شاخص‌های عملکردی را بدنبال خواهد داشت (Adatia and Besford, 1986). در پژوهشی اثر غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌مولار سیلیکات پتاسیم بر گیاه کلزا بررسی و گزارش شد، غلظت ۴ میلی‌مولار آن باعث افزایش معنی‌دار سطح برگ (۹۴۸/۵ میلی‌متر مربع)، وزن تر برگ (۱۲۱/۱۲ گرم)، نرخ فتوسنتز (۱۰/۵۴ میکرومول در متر مربع در ثانیه)، محتوای کلروفیل (۱/۷۶۴ میلی‌مول در گرم وزن تر) و همچنین عملکرد دانه (۵/۸۵ گرم) شد (Bybordi, 2012).

۳-۳. وزن تر گل آذین

با توجه به شکل ۳، می‌توان دریافت، هیچ یک از غلظت‌های سیلیکات سدیم اثر معنی‌داری بر وزن تر گل آذین نداشت؛ در مقابل نانوذرات سیلیس در غلظت‌های ۳ و ۶ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار وزن تر گل آذین شد. همچنین کاربرد تیمار DA6 باعث افزایش معنی‌دار وزن تر گل آذین شد؛ همچنین استفاده از تیمار آتونیک نیز باعث افزایش معنی‌دار میزان وزن تر گل آذین شد. بیشترین وزن تر گل آذین به ترتیب در تیمارهای ۳ میلی‌مولار nSi-DA6 (۲۸/۹ گرم)، ۶ میلی‌مولار nSi-DA6 (۲۸/۵ گرم)، ۶ میلی‌مولار DA6 (۲۷/۳ گرم) و ۶ میلی‌مولار nSi-Atonik (۲۶/۹ گرم) مشاهده شد.



شکل ۳. اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات سدیم، نانوذرات سیلیس، DA6، آتونیک، nSi-DA6 و nSi-Atonik بر وزن تر گل-آذین در آویشن شیرازی

(میانگین‌های دارای حروف متفاوت، در سطح پنج درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌دار دارند).

افزایش وزن تر گل آذین گیاهان تحت تیمار نانوذرات سیلیس ممکن است به دلیل افزایش سرعت فتوسنتز، تعرق، غلظت کلروفیل (Xu *et al.*, 2021)، محتوای پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه آزاد، جذب عناصر، همچنین فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز (Li *et al.*, 2012) و سایر فرآیندهای بیوشیمیایی موثر بر رشد باشد. استفاده از محرک رشد DA-6 در مراحل رشد گیاهان موضوع تحقیق و مطالعه محققان بی‌شماری بوده است. از این رو، صفات فیتوشیمیایی گیاه دارویی *Echinacea purpurea* تحت تیمار با محرک رشدی DA-6 مورد ارزیابی گرفت؛ نتایج نشان داد که این محرک رشد باعث افزایش ریزازدیادی در این گیاه شده و افزایش بازسازی جوانه‌های گل را مشاهده کردند (Xioliu *et al.*, 2016). مطالعه بر روی اثر محرک رشد آتونیک روی گیاه دارویی خارمریم نشان داد که این ترکیب، اثرات مثبتی بر صفات مورفولوژیک گیاه دارد، به طوری که باعث افزایش وزن گل، تعداد برگ‌ها، افزایش ارتفاع بوته و افزایش قطر ساقه شده و ساقه‌های منشعب تری را ایجاد کرد (Kieltyka, 2010).

۳-۴. ارزیابی میزان عناصر معدنی (N, Zn, Si)

مطابق با جدول تجزیه واریانس، استفاده از تیمارهای مختلف بر میزان سیلیسیوم در سطح ۱ درصد اثر معنی‌داری داشت، اما اختلاف معنی‌داری از نظر میزان نیتروژن و روی در بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد (جدول ۲).

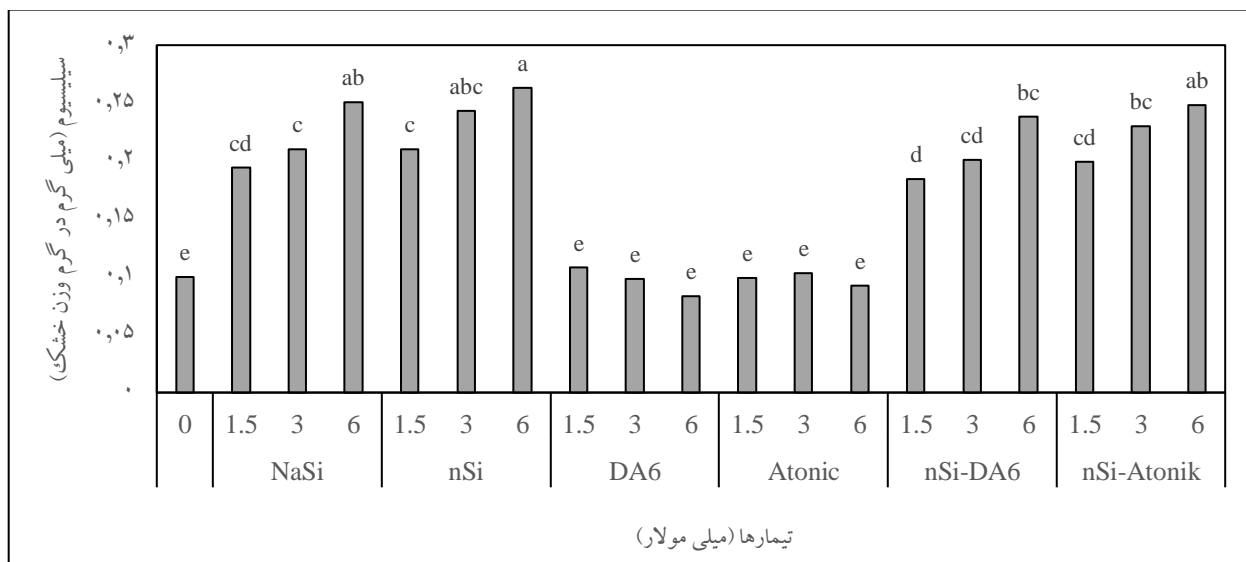


جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات سدیم، نانوذرات سیلیس، DA6، آتونیک، nSi-DA6 و nSi- Atonik بر عناصر معدنی آویشن شیرازی

منابع تغییرات	درجه آزادی	نیتروژن	روی	سیلیسیم
تیمارها (سیلیکات سدیم، nSi، Atonik، Si-DA6 و Si-Atonik)	۱۸	۰/۸۸۵۵ ^{ns}	۰/۰۱۱۴۴ ^{ns}	۲/۱۴۵ ^{**}
خطا	۳۸	۰/۶۵۸۴	۰/۰۰۸۴۲	۰/۳۵۸
ضریب تغییرات (درصد)	-	۵/۵۷	۸/۲۲	۶/۱۰

** و ns به ترتیب نشان دهنده معنی‌دار شدن در سطح آماری ۱ درصد و عدم معنی‌داری

با توجه به نتایج، کاربرد غلظت ۶ میلی‌مولار نانوذرات سیلیس، میزان سیلیسیم را به ۰/۲۶۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک افزایش داد که بیش از سایر تیمارها و شاهد بود. همچنین غلظت ۶ میلی‌مولار سیلیکات سدیم و nSi-Atonik نیز به ترتیب میزان سیلیسیم را به ۰/۲۵۱ و ۰/۲۴۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک افزایش داد (شکل ۴).



شکل ۴. اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات سدیم، نانوذرات سیلیس، DA6، آتونیک، nSi-DA6 و nSi-Atonik بر میزان سیلیسیم در آویشن شیرازی

(میانگین‌های دارای حروف متفاوت، در سطح پنج درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌دار دارند).

کاترینا و همکارانش گزارش کردند، کاربرد نانوذرات سیلیس، با افزایش جذب نیتروژن، فسفر و سیلیسیم، کارایی فتوسنتس II و نرخ انتقال الکترون در گیاه علف لیمو را بهبود بخشید. همچنین این نتایج نشان داد کلروفیل‌های موجود در مرکز واکنش فتوسنتزی می‌توانند به نانوذرات متصل شده و به دلیل رزونانس پلاسمونی نانوذرات، الکترون‌های برانگیخته‌تری تولید کرده و یک سیستم هیبریدی جدید تشکیل دهند (Mukarram et al., 2022). نتایج پژوهش (Moussa, 2006) نشان داد، نانوذرات سیلیس باعث بهبود جذب عناصر غذایی در گیاه ذرت، تحت تنش شوری شده و فعالیت فتوسنتزی گیاه را ۲۲ درصد



افزایش می دهد. گمان می رود افزایش فتوسنتز به علت ذخیره و افزایش سیلیسیوم در دیواره سلولی و سایه گستری کم تر آن باشد که در نتیجه باعث افزایش ورود نور و افزایش فتوسنتز می شود و دلیل دیگر آن ممکن است به علت نفوذ سریع تر نانوذرات سیلیسیوم به بافت گیاه باشد. این نتایج نشان داد، بکارگیری غلظت ۲ میلی مولار کود حاوی سیلیسیوم میزان لینالول و استراگول را به صورت معنی داری افزایش داد. آتونیک باعث افزایش مواد جامد محلول و میزان فسفر در خیار شد؛ اما میزان نیترات و کلسیم را کاهش داد (Czeczko and Mikos-Bielak, 2004).

۳-۵. پروفایل فنول و فلاونوئید

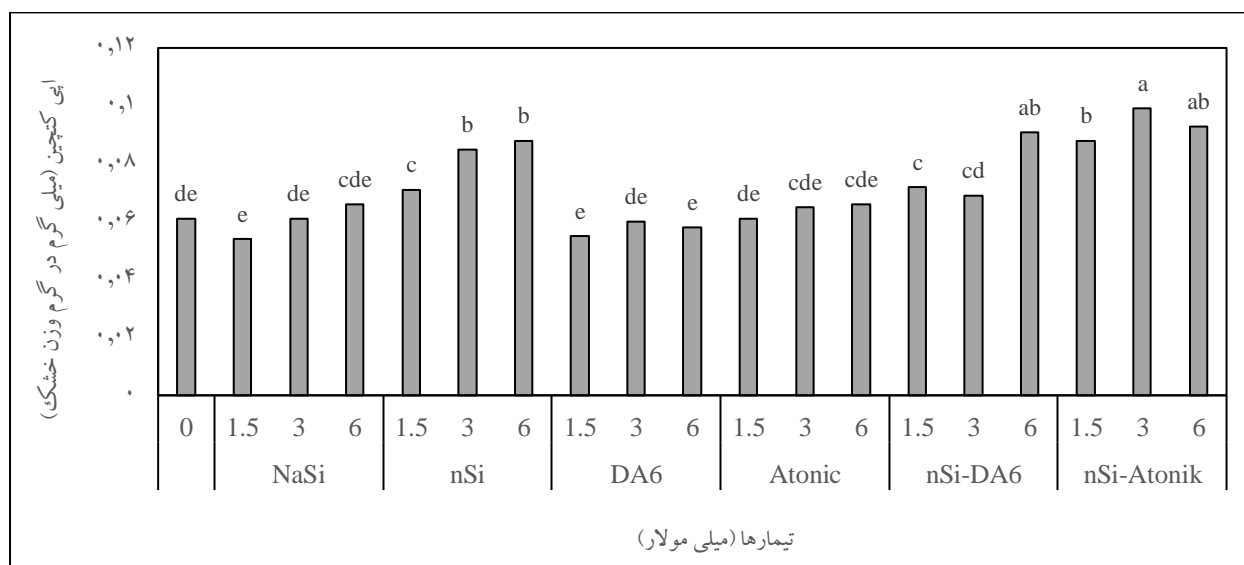
با توجه به جدول ۳، می توان دریافت، استفاده از تیمارهای سیلیکات سدیم، نانوذرات سیلیس، DA6، آتونیک، nSi-DA6 و nSi-Atonik تاثیر معنی داری بر میزان برخی ترکیبات فنیل پروپانئیدی از جمله ترکیبات پلی فنولی و فلاونوئیدها داشت و باعث اختلاف معنی داری در فلاونوئیدهای اپی کتچین و نارینجین و همچنین پلی فنول رزمارینیک اسید شد. با این وجود میزان وانیلین و کوئرستین تفاوت معنی داری در نمونه های تحت تیمار نشان ندادند.

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت های مختلف سیلیکات سدیم، نانوذرات سیلیس، DA6، آتونیک، nSi-DA6 و nSi-Atonik بر پروفایل فنول و فلاونوئید آویشن شیرازی در گلخانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	وانیلین	اپی - کتچین	نارینجین	کوارستین	رزمارینیک اسید
تیمارها (سیلیکات سدیم، nSi، Atonik، Si-DA6 و Si-Atonic)	۱۸	۱/۲۴ ^{ns}	۶/۳۵۸*	۳۵/۰۸۹ ^{ns}	۶/۵۴۳ ^{ns}	۱۵/۸۲۳*
خطا	۳۸	۰/۹۲۱	۱/۲۶۵	۹/۴۷۸	۴/۱۳۶	۴/۵۶۳
ضریب تغییرات	-	۱۴/۱	۱۱/۵	۱۴/۸	۱۹/۸	۱۲/۰

* و ns به ترتیب نشان دهنده معنی دار شدن در سطح آماری ۵ درصد و عدم معنی داری

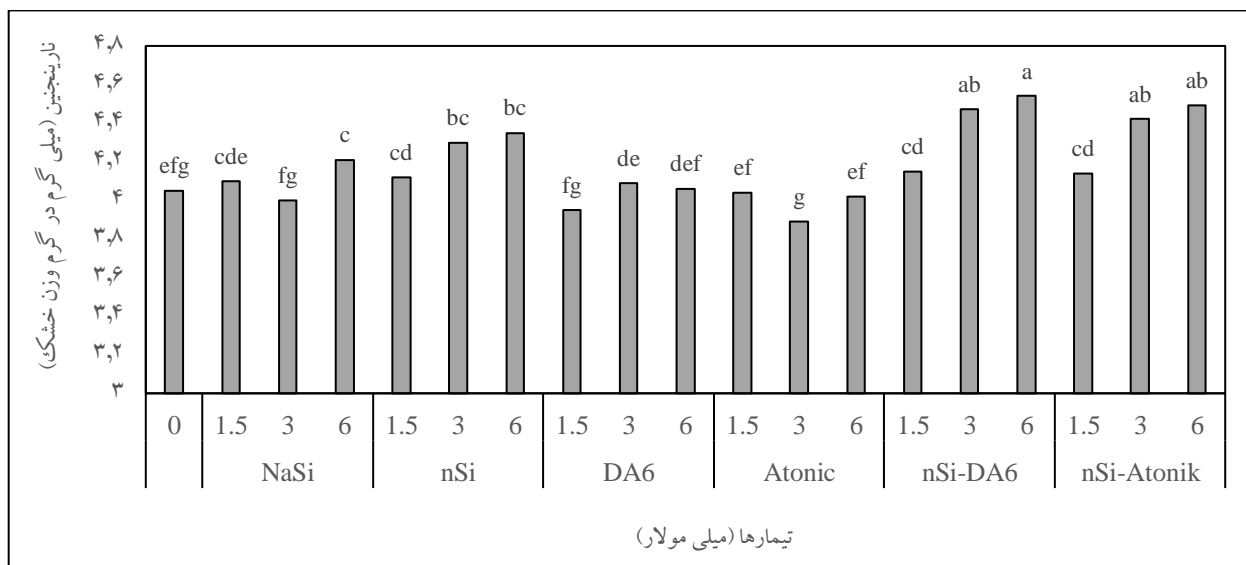
شکل ۵ قسمت a، نشان داد، استفاده از نانوذرات سیلیکات سدیم در غلظت ۶ میلی مولار و نانوذرات سیلیس در هر سه غلظت باعث افزایش معنی دار میزان اپی کتچین نسبت به نمونه شاهد شد، به طوری که غلظت ۳ و ۶ میلی مولار نانوذرات سیلیس میزان این فلاونوئید به ترتیب ۰/۰۸۵ و ۰/۰۸۸ میلی گرم در گرم وزن خشک افزایش یافت. از سوی دیگر کاربرد غلظت های ۱/۵، ۳ و ۶ میلی مولار تیمار DA-6 تاثیر معنی دار بر میزان اپی کتچین نداشت؛ در حالی که تیمار نمونه ها با آتونیک به مقدار کمی باعث افزایش میزان اپی کتچین شد. از سوی دیگر کمپلکس نانوذرات سیلیس با DA-6 به ویژه در غلظت ۶ میلی مولار باعث افزایش معنی دار اپی کتچین شد و میزان آن را به ۰/۰۹۱ میلی گرم در گرم وزن خشک افزایش داد. با این حال بیشترین میزان این فلاونوئید ارزشمند در نمونه های تیمار شده با nSi-Atonik در غلظت ۳ و ۶ میلی مولار مشاهده شد که به ترتیب ۰/۰۹۳ و ۰/۰۹۹ میلی گرم در گرم وزن خشک بودند.



شکل ۵ قسمت a. اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات سدیم، نانوذرات سیلیس، DA6، آتونیک، nSi-DA6 و nSi-Atonik بر میزان اپی کتچین در آویشن شیرازی

(میانگین‌های دارای حروف متفاوت، در سطح پنج درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌دار دارند).

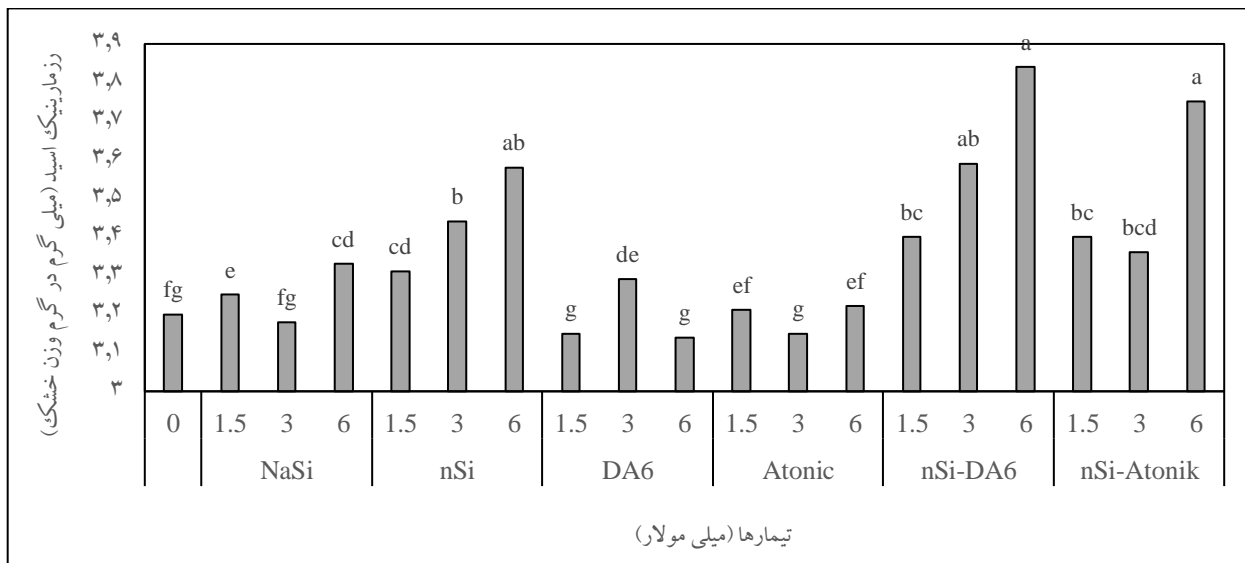
مطابق با شکل ۵ قسمت b، می‌توان دریافت، میزان نارینجین در نمونه شاهد ۴/۰۵ میلی گرم در گرم وزن خشک می‌باشد که با استفاده از غلظت‌های مختلف محرک‌های متفاوت، تغییر می‌کند بود. کاربرد غلظت ۶ میلی مولار سیلیکات سدیم و همچنین غلظت‌های ۱/۵، ۳ و ۶ میلی مولار نانوذرات سیلیس باعث افزایش معنی‌دار نارینجین را نسبت به نمونه شاهد در گیاه آویشن شیرازی نشان داد؛ همچنین کاربرد nSi-DA6 در غلظت‌های ۳ و ۶ میلی مولار باعث افزایش میزان نارینجین به ترتیب به ۴/۴۷ و ۴/۵۴ میلی گرم در گرم وزن خشک ثابت کرد.



شکل ۵ قسمت b. اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات سدیم، نانوذرات سیلیس، DA6، آتونیک، nSi-DA6 و nSi-Atonik بر میزان نارینجین در آویشن شیرازی

(میانگین‌های دارای حروف متفاوت، در سطح پنج درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌دار دارند).

با توجه به شکل ۵ قسمت c، افزایش میزان رزمارینیک اسید از ۳/۲۰ میلی گرم در گرم وزن خشک در نمونه شاهد به ۳/۳۳ میلی گرم در گرم وزن خشک، با کاربرد غلظت ۶ میلی مولار سیلیکات سدیم اتفاق افتاد؛ اما کاربرد نانوذرات سیلیس نسبت به سیلیکات سدیم اثر افزایشی بیشتری بر میزان رزمارینیک اسید داشته و در غلظت ۳ و ۶ میلی مولار باعث افزایش میزان رزمارینیک اسید به ۳/۴۴ و ۳/۵۸ میلی گرم در گرم وزن خشک می‌شود. همچنین، غلظت‌های مختلف آتونیک اثر معنی‌داری بر میزان رزمارینیک اسید نشان نداد؛ با توجه به نتایج نظر می‌رسد، کمپلکس نانوذرات سیلیس با DA-6 و آتونیک باعث سنتز بیشتر این ترکیب پلی فنولی ارزشمند می‌شود. به‌طوری که بیشترین میزان رزمارینیک اسید در نمونه‌های تیمار شده با nSi-DA6 و nSi-Atonik در غلظت ۶ میلی مولار به ترتیب ۳/۸۴ و ۳/۷۵ میلی گرم در گرم وزن خشک حاصل شد.



شکل ۵ قسمت c. اثر غلظت های مختلف سیلیکات سدیم، نانوذرات سیلیس، DA6، آتونیک، nSi-DA6 و nSi-Atonik بر میزان رزمارینیک اسید در آویشن شیرازی

(میانگین های دارای حروف متفاوت، در سطح پنج درصد آزمون LSD اختلاف معنی دار دارند.)

متابولیت های ویژه مانند ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها، آنتی اکسیدان های طبیعی هستند که رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن را که برای ماده وراثتی سلول ها مضر هستند، از بین می برند (Xu et al., 2017). در میان سایر گروه های ترکیبات طبیعی، اسانس ها حاوی ترکیبات معطر فرار با اثرات بیولوژیکی مهمی می باشند (Raut and Karuppayil, 2014). جنس Thymus به عنوان یکی از مهم ترین جنس های خانواده نعنائیان دارای خواص دارویی متعددی است. اسانس آویشن در میان ده اسانس برتر جهان به صورت تجاری برای استفاده در دهانشویه ها، خمیر دندان ها، شوینده ها، عطرها، قطره های ضد سرفه و سایر داروها قرار دارد (Stahl- Biskup and Saez, 2002). قشلاق پور و همکارانش (۲۰۱۸) نیز گزارش کردند، استفاده از کودهای حاوی سیلیس به تغییر در میزان و نوع ترکیبات اسانس گیاه ریحان منجر می شود.

۴- نتیجه گیری

محرك های گیاهی در مقیاس کم، تغییرات عظیمی در رشد و عملکرد و همچنین شاخص های موفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه ایجاد می کنند و بر اساس نحوه عملکرد و انواع اثرات بر محصولات، دسته بندی می شوند. اثرات اصلی محرك های گیاهی به دلیل عملکرد آن به صورت اثرات شبه اکسینی، باعث افزایش جذب برخی عناصر و تحریک رشد گیاه است. همچنین این محرك ها اثرات مختلفی بر محصولات کشاورزی از جمله تقویت رشد گیاه از طریق افزایش نرخ فتوسنتز و کارایی عناصر غذایی، عملکرد، و تولید متابولیت های خاص را شامل می شوند. از آنجایی که گیاه دارویی آویشن شیرازی گستره مصرف وسیعی از صنایع غذایی تا دارویی دارد، در پژوهش حاضر، سیلیکات سدیم، نانوذرات سیلیس، DA-6، آتونیک و



کمپلکس های nSi-DA6 و nSi-Atonik به عنوان محرک های گیاهی، برای ارزیابی تغییرات رشدی و عملکرد و همچنین شاخص های مورفولوژیکی و جذب عناصر بکار گرفته شدند. نتایج نشان داد غلظت های مختلف هر یک از محرک های استفاده شده به صورت جداگانه و یا کمپلکس آن با نانوذرات سیلیس باعث ایجاد تغییرات مختلفی در شاخص های مورد مطالعه می شود. برای مثال بیشترین میزان طول شاخساره، وزن تر شاخساره، با استفاده از تیمارهای DA-6 و nSi-DA6 در غلظت ۶ میلی مولار بدست آمد. بیشترین میزان اپی کتچین و نارینجین در نمونه های تیمار شده با nSi-DA6 و nSi-Atonik و بیشترین میزان رزمارینیک اسید در تیمار نانوذرات سیلیس، nSi-DA6 و nSi-Atonik مشاهده شد. بنابراین با توجه به هدف، کاربرد هر یک از تیمارها در غلظت های مشخص شده، توصیه می گردد.

منابع

- Adatia, M.H., & Besford, R.T. (1986). The effects of silicon on cucumber plants grown in recirculating nutrient solution. *Annals of Botany*, 58(3): 343-351.
- Barreca, D., Laganà, G., Leuzzi, U., Smerigliom, A., Trombetta, D., & Bellocco, E. (2016). Evaluation of the nutraceutical, antioxidant and cytoprotective properties of ripe pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) hulls. *Food Chemistry*, 96: 493-502.
- Bremner, J.M., & Mulvany, C.S. (1982). Nitrogen total. *Methods of Soil Analysis. Part2: Chemical and Microbiological Properties*, American Society of Agronomy, USA. pp. 595- 616.
- Bybordi, A. (2012). Effect of ascorbic acid and silicium on photosynthesis, antioxidant enzyme activity, and fatty acid contents in canola exposure to salt stress. *Journal of Integrative Agriculture*, 11(10): 1610-1620.
- Czeczko, R., Mikos-Bielak, M. (2004). Effects of Asahi bio-stimulator application in the cultivation of different vegetable species. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, Sectio E Agricultura* (Poland).
- Guo, Z.G., Liu, H.X., Tian, F.P., Zhang, Z.H., & Wang, S.M. (2006). Effect of silicon on the morphology of shoots and roots of alfalfa (*Medicago sativa*). *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 46(9): 1161-1166.
- Heydari, R.R., Moaveni, P., Hoseinpour, D.H., & Arefrad, M. (2017). Response of some morphophysiological characteristics of *Borago* (*Borago officinalis*) to nano particles of titanium spraying. *Journal of Crop Ecophysiology*. 10: 875-890.
- Iranian Herbal Pharmacopoeia. (2002). Ministry of Health and Medical Publications, Tehran, Iran, pp: 51-56.
- Karla, Y.P. (1998). *Handbook of reference methods for plant analysis*. Taylor & Francis Group, LLC, USA.
- Kataria, S., Jain, M., Rastogi, A., Živčák, M., Brestic, M., Liu, S, & Tripathi, D.K. (2019). Role of nanoparticles on photosynthesis: avenues and applications. In *nanomaterials in plants, algae and microorganisms*, Academic Press, pp: 103-127
- Kiełtyka-Dadasiewicz, A. (2010). The effect of Atonik application on growth and development of motherwort (*Leonurus cardiaca* L.) depending on age of plant. *Polish Journal of Agronomy*, 2: 30-2.
- Li, J., Rong, P., & Huang, Q. (2012). Characterization of food materials in multiple length scales using small-angle X-ray scattering and nuclear magnetic resonance: Principle and Applications in nanotechnology in the food, beverage and nutraceutical industries, Woodhead Publishing, pp: 149-176.
- Ma, J.F., Yamaji, N. (2008). Functions and transport of silicon in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65: 3049-3057.
- Mathur, P., Roy, S. (2020). Nanosilica facilitates silica uptake, growth and stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 157: 114-127.



- Moussa, H.R. (2006). Influence of exogenous application of silicon on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Agriculture and Biology*, 8(3): 293-297.
- Mukarram, M., Petrik, P., Mushtaq, Z., Khan, M.M., Gulfishan, M., & Lux, A. (2022). Silicon nanoparticles in higher plants: Uptake, action, stress tolerance, and crosstalk with phytohormones, antioxidants, and other signalling molecules. *Environmental Pollution*, 5:119855.
- Peyvandi, M., Mirza, M., & Kamali Jamakani, Z. (2012). The Effect of Nano Fe Chelate and Fe Chelate on the growth and activity of some Antioxidant. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 2(5): 25-32.
- Qashlaqpour, M., Khademian, A., Asghari, B., & Sedaghati, B. (2018). Nutritional effect of silicon on morphological traits and essential oil of basil plant (*Ocimum basilicum* L) under cadmium toxicity. *Research of Medicinal and Aromatic Plants of Iran*, 36(6): 1052-1068.
- Raut, J.S., & Karuppaiyl, S.M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62: 250-564.
- Sajed, H., Sahebkar, A., & Iranshahi, M. (2013). *Zataria multiflora* Boiss. (Shirazi thyme)—an ancient condiment with modern pharmaceutical uses. *Journal of Ethnopharmacology*, 145(3): 686-698.
- Salama, E.S., Jeon, B.H., Chang, S.W., Lee, S.H., Roh, H.S., Yang, I.S., & Kurade, M.B. (2017). Interactive effect of indole-3-acetic acid and diethyl aminoethyl hexanoate on the growth and fatty acid content of some microalgae for biodiesel production. *Journal of Cleaner Production*, 168:1017-24.
- Shomali, T. (2019). *Zataria multiflora* and Gastrointestinal Tract Disorders. In *Dietary Interventions in Gastrointestinal Diseases*, Academic Press, 7(5): 209-212.
- Stahl-Biskup, E., Sáez, F., editors. (2002). *Thyme: the genus Thymus*. CrC press.
- Tavallali, V., & Karimi, S. (2017). Green synthesized zinc-glycine chelate enhances antioxidant protection of pistachio under different soil boron levels. *International Journal of Fruit Science*, 17(4):423-39.
- Tavallali, V., & Karimi, S. (2023). Developing nano silicon-salicylic acid complex for inducing root-knot nematode resistance in tomato. *Silicon*, 3: 1–9
- Tavallali, V., Rowshan, V., & Bahmanzadegan, A. (2019). Variations in sweet basil in response to Green synthesized Zinc-Amino nano complexes. *Plant Physiology and Biochemistry*. 144: 445–454.
- Xioli, CH., Donglian, Li., Janjie, Z., Qingling, Yuesheng, Y., & Hong, W.u. (2016). The biomass dosage influences the effects of diethyl aminoethyl hexanoate on micropropagation of *Echinacea purpurea* L. moench. *Journal of Biomass and Medicine*. 4(16): 97-110.
- Xu, D., Gao, T., Fang, X., Bu, H., Li, Q., Wang, X., & Zhang, R. (2020). Silicon addition improves plant productivity and soil nutrient availability without changing the grass: legume ratio response to N fertilization. *Scientific Reports*, 10(1): 10295.
- Xu, D.P, Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J.J, & Li, H.B. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1): 96-105.



تأثیر بیوجار بر مقاومت به تنش شوری در گیاهان

زینب سادات مسعودی علوی^۱، مرتضی یوسف زادی^{۱*}، رضا شیخ اکبری مهر^۱، فاطمه صداقت^۲

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران (morteza110110@gmail.com)

^۲سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، گروه شیلات، شیراز، ایران

چکیده

تنش شوری یکی از تنش های غیرزیستی مهم است که بر بهره وری محصولات زراعی و امنیت غذایی جهانی تأثیر منفی می گذارد. شدت تنش شوری در آینده به دلیل تغییرات سریع آب و هوا و گرم شدن کره زمین بیش تر خواهد بود. پیش بینی می شود که جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ به ۹/۶ میلیارد نفر برسد. بنابراین، تولیدات کشاورزی باید به میزان قابل توجهی افزایش یابد تا نیازهای غذایی تامین شود. یکی از پیامدهای تغییرات آب و هوایی افزایش محتوای نمک های محلول (مانند سولفات های سدیم و منیزیم، کلریدها و بی کربنات ها) در خاک است، تا حدی که گونه های گیاهی به طور منفی تحت تأثیر قرار می گیرند. گیاهانی که در خاک های شور رشد می کنند عمده تاً تحت دو نوع تنش مستقیم (تنش اسمزی و اثرات یونی خاص) قرار می گیرند که ویژگی های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی آنها را تغییر می دهد. از روش های کاهش اثر شوری بر محصولات زراعی می توان به استفاده از ترکیبات آلی کربن (بیوجار) که باعث کاهش اثرات منفی تنش شوری و افزایش حاصل خیزی خاک می شود اشاره نمود. بیوجار محصولی غنی از کربن است و به طلای سیاه نیز معروف است. اخیراً در سراسر جهان به دلیل بهبود بهره وری محصول و کاهش اثرات سمی تنش های غیرزیستی مورد توجه قرار گرفته است. بیوجار، جذب کربن خاک، نفوذ پذیری خاک، حاصل خیزی خاک، رشد میکروبی، ظرفیت نگهداری آب و در دسترس بودن مواد مغذی را بهبود می بخشد و در نتیجه رشد بهتر گیاه را تضمین می کند. در سطح جهانی، تلاش هایی برای بهبود نقش بیوجار در گیاهان برای کاهش اثرات نامطلوب شوری در حال انجام است.

واژگان کلیدی: بیوجار، تنش شوری، تنش های فیزیولوژیکی، گیاهان



۱. مقدمه

انتظار می‌رود تغییرات آب و هوای جهانی باعث افزایش دما و توزیع نابرابر بارندگی شود؛ که منجر به خشکسالی شدید، افزایش گرما و شوری خاک در مناطق خشک و نیمه خشک می‌شود (Yang et al., 2020). تنش شوری یکی از تنش‌های غیرزیستی مهم است که بر بهره‌وری محصولات زراعی و امنیت غذایی جهانی تأثیر منفی می‌گذارد. شدت تنش شوری در آینده به دلیل تغییرات سریع آب و هوا و گرم شدن کره زمین بیش‌تر خواهد بود. پیش‌بینی می‌شود که جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ به ۹/۶ میلیارد نفر برسد. بنابراین، تولیدات کشاورزی باید به میزان قابل توجهی افزایش یابد تا نیازهای غذایی تامین شود. با این وجود، تنش شوری مانع از عرضه پایدار غذا می‌شود و باعث کاهش قابل توجه در عملکرد محصولات عمده، یعنی ذرت، برنج و گندم می‌شود. شوری خاک با افزایش فشار اسمزی خاک بر استقرار گیاه تأثیر منفی می‌گذارد. تنش اسمزی ناشی از شوری باعث کمبود آب در گیاهان و کاهش رشد آن‌ها می‌شود (Gao et al., 2024). در میان تمام تنش‌های غیرزیستی که تولید گیاهان زراعی را در سراسر جهان محدود می‌کنند، تنش شوری یکی از مضرترین عوامل محیطی محسوب می‌شود. سمیت نمک می‌تواند باعث آسیب‌های شدید به گیاهان مانند سوختن بافت، مرگ ریشه و ساقه، بریدگی برگ، اختلال در متابولیسم سلولی و کاهش فعالیت فتوسنتزی شود. شوری، علاوه بر کاهش محصولات کشاورزی، همچنین خواص فیزیکوشیمیایی خاک و تعادل اکولوژیکی منطقه را مختل می‌کند (Kul et al., 2021). یکی از پیامدهای تغییرات آب‌وهوایی افزایش محتوای نمک‌های محلول (مانند سولفات‌های سدیم و کلسیم و منیزیم، کلریدها و بی‌کربنات‌ها) در خاک است، تا حدی که گونه‌های گیاهی به‌طور منفی تحت تأثیر قرار می‌گیرند و در این حالت، خاک به‌عنوان خاک شور طبقه‌بندی می‌شود. سدیم (Na) مضرترین نمک است که باعث چروک شدن شاخه و برگ، ممانعت از رشد گیاه و خشکی و تغییر رنگ بافت‌های گیاه می‌شود، زیرا احتباس آب، گیاه را از بین می‌برد. علاوه بر این، سدیم می‌تواند باعث ایجاد سمیت و واکنش با بافت‌های گیاهی شود و اثری به نام استرس اسمزی ایجاد کند. سدیم اضافی در خاک می‌تواند سایر مواد مغذی ضروری مانند کلسیم، منیزیم و پتاسیم (که برای رشد و نمو گیاه حیاتی هستند) را جابه‌جا کند و منجر به کمبود مواد مغذی در گیاهان و کاهش عملکرد محصول شود (Fedeli et al., 2024). مطالعاتی بر روی چندین روش برای کاهش اثرات مخرب تنش نمک بر گیاهان انجام شده است، مانند خراش‌دادن، شست‌وشو، شست‌وشو برای تخلیه نمک اضافی از ناحیه‌ی ریشه‌ی گیاه، استفاده از تکنیک‌های مختلف آبیاری و بهبود تحمل به نمک در گیاهان. با این حال، با توجه به هزینه‌ی بالا و نیاز به نیروی کار، این رویکردها می‌توانند در غلبه بر مشکل شوری ناکارآمد باشند. در سال‌های اخیر، استفاده از تنظیم‌کننده‌های ارگانیک خاک به‌عنوان یک رویکرد امیدوارکننده‌تر و پایدارتر برای افزایش حاصل‌خیزی خاک‌های متأثر از نمک مورد توجه قرار گرفته است که در نهایت باعث بهبود عملکرد محصول می‌شوند (Kul et al., 2021). اخیراً بیوجار^۱ به‌عنوان یک اصلاح‌کننده‌ی مهم خاک مورد توجه قرار گرفته‌است (Ibrahim et al., 2020). بیوجار اثرات زیادی بر خواص خاک مانند بهبود خواص فیزیکی خاک، زیست‌توده‌ی میکروبی، در دسترس بودن مواد مغذی، نگه‌داری آب و مواد مغذی، ظرفیت تبادل کاتیونی و آنیونی و بهبود کیفیت خاک دارد. همچنین ممکن است علف‌کش‌ها و آفت‌کش‌ها را جذب کند و تنش شوری را با کاهش جذب سدیم در گیاهان بهبود بخشد (İlay, 2022). برخی



از مطالعات نشان می‌دهد که بیوچار در افزایش رشد، ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی محصولات در شرایط شور موثر است. همچنین می‌تواند به طرق مختلف بر تغذیه گیاه تأثیر مثبت بگذارد (Ibrahim et al., 2020) بررسی حاضر مکانیسم‌های مختلفی را توصیف می‌کند که از طریق آن‌ها بیوچار می‌تواند اثرات نامطلوب تنش شوری بر گیاهان را کاهش دهد. این بررسی پیشنهادهاى جدیدی را در مورد استفاده از بیوچار برای کاهش اثرات سمی تنش شوری ارائه می‌دهد (Gao et al., 2024).

۲. مواد و روش‌ها

پس از جمع‌آوری اطلاعات از منابع مختلف از قبیل مجلات، مقالات و جستجو در پایگاه‌های داده‌ای همچون SID, Elsevier, Google Scholar و دیگر پایگاه‌های معتبر علمی، از سال‌های ۲۰۰۵ تا ۲۰۲۴ با کلیدواژه‌های بیوچار، تنش شوری، گیاهان و تنش‌های فیزیولوژیکی با موضوع تأثیر بیوچار بر مقاومت به تنش شوری در گیاهان گردآوری شد و در زمینه‌ی تأثیرات فیزیولوژیکی شوری بر گیاهان، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بیوچار و مکانیزم‌های تأثیر بیوچار بر گیاهان ارائه گردید.

۳. نتایج

۳-۱. شوری و تأثیرات آن بر گیاهان

۳-۱-۱. تعریف شوری

شوری به وجود نمک‌های محلول در خاک اشاره دارد که می‌تواند ناشی از عوامل طبیعی یا فعالیت‌های انسانی باشد. شوری خاک در میان ۹ موضوع اصلی ذکر شده توسط سازمان خواروبار و کشاورزی (FAO) گنجانده شده است و نباید از آن غافل شد. زیرا به‌طور چشمگیری بر عملکردهای اکولوژیکی خاک و در نتیجه کشاورزی تأثیر می‌گذارد (Fedeli et al., 2024). بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی در سراسر جهان تحت تأثیر شوری (۳۹۷ میلیون هکتار) یا سدیمی (۴۳۴ میلیون هکتار) است که به آن تنش شوری گفته می‌شود (Munns, 2005). گیاهان اغلب در معرض شوری بالای خاک در بسیاری از مناطق کره زمین هستند. به دلیل محدودیت بارندگی و تبخیر و تعرق بالا، همراه با شیوه‌های ضعیف مدیریت خاک و آب، تنش نمک اغلب در مزارع، در مناطق خشک و نیمه‌خشک رخ می‌دهد که به تهدیدی جدی برای تولید محصولات زراعی تبدیل شده است (Cao et al., 2023).

۳-۱-۲. تأثیرات فیزیولوژیکی شوری بر گیاهان

گیاهانی که در خاک‌های شور رشد می‌کنند عمدتاً تحت دو نوع تنش مستقیم (تنش اسمزی و اثرات یونی خاص) قرار می‌گیرند که ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی آن‌ها را تغییر می‌دهد. شوری خاک ابتدا به دلیل غلظت نمک در خارج از ریشه باعث ایجاد تنش اسمزی می‌شود و به دنبال آن با تجمع نمک‌ها در برگ‌های مسن، تنش مخصوص نمک ایجاد می‌شود. تنش اسمزی جذب آب را مختل می‌کند، فشار بافت را کاهش می‌دهد و در نهایت باعث کاهش سرعت رشد اندام هوایی و برگ می‌شود. با گذشت زمان، Na^+ و Cl^- تا سطوح سمی در برگ‌ها و اندام‌هوایی انباشته می‌شوند و مواد مغذی ضروری



مانند K^+ و Ca^{2+} توسط Na^+ مختل می شوند که منجر به مرگ سلولی، نکروز و پیری زودرس برگ می شود. با آگاهی از سازگاری ها و مکانیسم های زیربنایی، صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مهم تحمل به نمک شناسایی شده است (Hu and Schmidhalter, 2023). یون کلر نیز روی جوانه زدن و رشد گیاه تاثیر می گذارد، به طوری که با تجمع یون های کلر درون گیاه منجر به عدم تعادل در جذب عناصر غذایی و سپس سمیت در گیاه می گردد. تنش شوری اغلب به دلیل کاهش پایداری غشاء منجر به تخریب هومئوستازی سلول می شود. این تخریب هومئوستازی در سطح سلولی می تواند منجر به توقف رشد سلول یا حتی مرگ گیاه شود. مقاومت به شوری تا حد زیادی مربوط به بازسازی هومئوستازی سلولی است. همچنین تنش شوری با تاثیر سوء بر فرآیند جوانه زنی، توزیع یون ها، فتوسنتز، قابلیت دسترسی به آب برای گیاه و اختلال در فرآیندهای آنزیمی و بیوشیمیایی در نهایت موجب کاهش رشد و عملکرد گیاهان می شود (ریاحی و همکاران، ۲۰۲۰). اثرات شوری بر گیاهان از سازگاری های مورفولوژیکی تا تغییرات مولکولی متغیر است. تأثیرات آن ها وابسته به گونه است و با شدت تنش، زمان اعمال، مدت زمان، سرعت و اثربخشی بازیابی متفاوت است (Kapoor et al., 2020). گیاهان مکانیسم هایی را برای احساس تنش شوری ایجاد کرده اند و به سرعت از طریق فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیومتابولیک پیچیده در سطح سلول ها، بافت ها، اندام ها و کل گیاه تنظیم می شوند. به عنوان مثال، هنگامی که برای مدت کوتاهی شوری اعمال می شود، این تنش اغلب باعث تنظیم اسمزی می شود، که مکانیزم مهمی برای حفظ جذب آب و تورژسانس^۱ در شرایط تنش تلقی می شود. با این وجود، گیاهان به طور خاص به تنش نمکی درازمدت پاسخ می دهند تا از اثرات سمی یون ها بر فتوسنتز و سایر فرآیندهای مهم فیزیولوژیکی و متابولیک اجتناب کنند. از آنجایی که مسیرهای سیگنال دهی پاسخ های تنش گیاهی در سطوح مختلف به هم پیوسته و پیچیده هستند، باید مکانیسم های مقاومت و تحمل پاسخ های گیاهی در سطوح مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تحت تنش شوری مورد بررسی قرار گیرد (Cao et al., 2023).

۳-۱-۳. رویکردهای مقابله با تأثیرات شوری

رویکردهای مختلفی برای کاهش اثرات تنش شوری بر گیاهان استفاده شده است. از جمله می توان به کشت ارقام مقاوم به شوری، استفاده از تنظیم کننده های رشد گیاهی و تلقیح بذر با ریزوباکتری های محرک رشد گیاهی اشاره نمود. از روشهای نوین کاهش اثر شوری بر محصولات زراعی می توان به استفاده از ترکیبات آلی کربنی (بیوچار) که باعث کاهش اثرات منفی تنش شوری و افزایش حاصل خیزی خاک می شوند، اشاره کرد (Asgari and Ghafari, 2023).

۳-۲. بیوچار

۳-۲-۱. تعریف بیوچار و فرایند تولید آن

بیوچار محصولی غنی از کربن است و به طلای سیاه نیز معروف است. اخیراً در سراسر جهان به دلیل بهبود بهره وری محصول و کاهش اثرات سمی تنش های غیرزیستی مورد توجه قرار گرفته است (Gao et al., 2024). بیوچار با پیرولیز (تجزیه -



حرارتی) زیست توده در غیاب یا حضور محدود اکسیژن تولید می شود. هنگامی که زیست توده تا دمای بالا، بین ۳۰۰ درجه سانتی گراد تا ۱۰۰۰ درجه سانتی گراد گرم می شود، به یک ترکیب کربن آلی عمدتاً پایدار و مقاوم تبدیل می شود (Kul et al., 2021). درجه حرارت به عنوان غالب ترین تأثیر بر روی همه خواص بیوچار شناسایی شده است (Xie et al., 2022). تبدیل بقایای زیست توده و ضایعات آلی به بیوچار برای استفاده به عنوان اصلاح کننده و تهویه ی خاک به عنوان روشی برای ذخیره سازی طولانی مدت کربن آلی پیشنهاد شده است که در عین حال کیفیت خاک را بهبود می بخشد (de Carvalho Junior et al., 2019). طبقه بندی روش های ارزیابی پایداری بیوچار به صورت: (۱) آنالیز ساختار میکروکربنی بیوچار، (۲) تعیین مقاومت اکسیداسیون بیوچار، و (۳) ارزیابی پایداری بیوچار با مدل سازی انکوباسیون و کانی سازی بیوچار است (Xie et al., 2022).

۲-۲-۳. ویژگی های فیزیکی و شیمیایی بیوچار

مطالعات، طیف گسترده ای از اثرات بیوچار بر روی خواص و عملکردهای فیزیکی، بیولوژیکی و شیمیایی خاک و رشد گیاه را گزارش می دهند. بررسی ها و متاآنالیزها نشان می دهند که بیوچار به طور کلی اسیدیته ی خاک را کاهش و ظرفیت بافری را افزایش می دهد. کربن بیوچار در خاک برای صدها تا هزاران سال باقی می ماند. با افزایش pH، تخلخل و در دسترس بودن آب، بیوچارها می توانند شرایط مناسبی برای توسعه ی ریشه و عملکرد میکروبی ایجاد کنند. بیوچارها می توانند واکنش های زیستی و غیرزیستی را کاتالیز کنند، به ویژه در ریشه، که باعث افزایش ذخیره و جذب مواد مغذی توسط گیاهان، کاهش فیتوتوکسین ها، تحریک رشد گیاه و افزایش انعطاف پذیری در برابر بیماری ها و محیط می شود. متاتحلیل ها نشان می دهند که به طور متوسط، بیوچارها دسترسی به فسفر را به میزان ۴/۶ برابر افزایش می دهند؛ غلظت فلزات سنگین در بافت گیاهی را به میزان ۱۷ تا ۳۹ درصد کاهش می دهند و انتشار گازهای گلخانه ای (به استثناء CO₂) از خاک را به میزان ۱۲ تا ۵۰ درصد کاهش می دهند. متاتحلیل ها همچنین نشان می دهند که میانگین افزایش عملکرد محصولات کشاورزی با افزودن بیوچار بین ۱۰ تا ۴۲ درصد است، با بیش ترین افزایش در خاک های اسیدی با جذب فسفر کم (رایج در مناطق گرمسیری) و در خاک های شنی در مناطق خشک به دلیل افزایش نگهداری مواد مغذی و ظرفیت نگهداری آب. بیوچار می تواند فعالیت میکروبی را افزایش دهد، چرخه ی مواد مغذی را تسریع کند و شست و شو و تبخیر نیتروژن را کاهش دهد. از نظر عملکرد گیاه، بیوچارها می توانند بر جوانه زنی بذر، رشد گیاه، گل دهی، مقاومت در برابر بیماری و سازگاری با تنش های غیرزنده بهره وری گیاه را افزایش دهند (Joseph et al., 2021).

۳-۲-۳. انواع بیوچار و کاربرد آن

مطالعات طیف گسترده ای از پاسخ های گیاهی به بیوچارها را به دلیل تنوع بیوچارها و زمینه هایی که در آن از بیوچار استفاده شده است، گزارش می کنند. اگر محدودیت های خاص خاک و کمبود مواد مغذی و آب توسط فرمول های بیوچار مناسب کاهش یابد، عملکرد محصول به شدت افزایش می یابد. بیوچارها را می توان برای رفع محدودیت های خاک از طریق انتخاب مواد اولیه، با اصلاح شرایط پیرولیز، از طریق تیمارهای قبل یا پس از تولید، یا استفاده مشترک با کودهای آلی یا معدنی طراحی



کرد (Joseph et al., 2021). خواص و کاربرد بیوچار را می توان به وضوح تحت تأثیر تکنولوژی تولید و شرایط فرآیند، نوع مواد اولیه و تغییرات پس از آن قرار داد. با این وجود، شکاف دانشی بین نحوه انتخاب ماده ی اولیه و نحوه ی طراحی شرایط عملیاتی با هدف تولید بیوچار با خواصی که می تواند الزامات برنامه های کاربردی خاص را برآورده کند، وجود دارد. کمبود دانش مانع از توسعه و کاربرد بیش تر بیوچار شده است (Xie et al., 2022).

۳-۳. تأثیر بیوچار بر مقاومت شوری در گیاهان

۳-۳-۱. مکانیزم های تأثیر بیوچار بر گیاهان

بیوچار، جذب کربن خاک، نفوذپذیری خاک، حاصل خیزی خاک، رشد میکروبی، ظرفیت نگه داری آب و در دسترس بودن مواد مغذی را بهبود می بخشد و در نتیجه رشد بهتر گیاه را تضمین می کند. بیوچار همچنین ظرفیت تبادل کاتیونی خاک و کارایی استفاده از مواد مغذی را افزایش می دهد و بنابراین منجر به افزایش عملکرد محصول می شود. همچنین با اتصال Na^+ در محل تبادل آن و افزایش K^+ و رطوبت خاک اثرات سمی شوری را کاهش می دهد. علاوه بر این، بیوچار همچنین دارای ظرفیت جذب نمک بالاتری است که می تواند جذب Na^+ را کاهش دهد و در نتیجه اثرات نامطلوب بر شوری خاک را کاهش دهد. در شرایط شوری همچنین تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) افزایش می یابد که تعادل اکسیداسیون و کاهش سلولی را مختل می کند و باعث آسیب به مولکول های ضروری و اندامک های سلولی می شود، در نتیجه بیوچار عملکردهای فیزیولوژیکی را بهبود می بخشد و تولید ROS را کاهش می دهد، که می تواند باعث کاهش اثرات سمی تنش شوری در گیاهان شود (Gao et al., 2024). میزان توصیه شده برای استفاده از بیوچار در خاک نباید از ۱۵ درصد (وزنی / وزنی) تجاوز کند، چون در این صورت ممکن است اثرات نامطلوب احتمالی بر رشد و نمو گیاه ظاهر شود. علاوه بر این، بیوچار می تواند عناصر بالقوه ی سمی (مانند سرب و کادمیوم) را در خاک حفظ کند، و همچنین دسترسی هیدروکربن ها و نمک ها را برای گیاهان کاهش دهد، در نتیجه بهره وری محصول و کیفیت محصولات کشاورزی را افزایش دهد (Fedeli et al., 2024).

۴. بحث و نتیجه گیری

Ibrahim و همکاران، با مطالعه ی رشد و پارامترهای فیزیولوژیکی نهال سورگوم خوشه ای دورنگ (Sorghum bicolor L.) تحت تنش شوری و کاربردهای بیوچار به این نتیجه رسیدند که کاربرد بیوچار مناسب در خاک شور باعث افزایش رشد و فعالیت فیزیولوژیکی گیاه سورگوم در شرایط تنش شوری می شود. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از سطوح بالای بیوچار در شوری متوسط و زیاد بر روی جوانه زنی و رشد گیاهچه منفی یا بی اثر است (Ibrahim et al., 2020). به طور خاص، توانایی بیوچار برای افزایش رشد گیاه در شرایط تنش شوری در مطالعات قبلی انجام شده بر روی ذرت (Zea mays L.) (Kim et al., 2016) و بادمجان (Solanum melongena L.) (Parkash and Singh., 2020) مستند شده است (Fedeli et al., 2024). همچنین، مطالعات Akhtar و همکاران به وضوح نشان داد که افزودن بیوچار می تواند به طور قابل توجهی تنش شوری را به دلیل ظرفیت بالای جذب نمک و با افزایش در دسترس بودن K^+ که در نهایت رشد و عملکرد



سیب زمینی را بهبود می بخشد، کاهش دهد. بیوچار قادر به بهبود تنش شوری با جذب Na^+ است. افزایش سطح شوری منجر به کاهش قابل توجه زیست توده ای اندام هوایی، طول و حجم ریشه، عملکرد غده، سرعت فتوسنتزی، هدایت روزنه ای و پتانسیل آب در نیمه روز شد، اما غلظت آبسازیک اسید (ABA) در برگ و شیریه آوند چوبی افزایش یافت. در هر سطح شوری، ادغام بیوچار باعث افزایش زیست توده ای اندام هوایی، طول و حجم ریشه، عملکرد غده، سرعت فتوسنتزی، هدایت روزنه ای، پتانسیل آب در نیمه روز و کاهش غلظت ABA در برگ و شیریه آوند چوبی در مقایسه با شاهد غیر بیوچار مربوطه شد. نتایج نشان داد که ترکیب بیوچار ممکن است یک رویکرد امیدوارکننده برای افزایش بهره وری محصول در خاک های متاثر از نمک باشد. (Akhtar et al., 2015). پژوهش (عسگری و غفوری، ۲۰۲۳) نشان داد مصرف بیوچار در افزایش تحمل به شوری گیاه پنبه موثر است و می تواند به عنوان یک روش برای افزایش تولید پنبه در شرایط شور مورد استفاده قرار گیرد (Asgari and Ghafori, 2023). علیرغم تنوع در خواص بیوچار، اقلیم، خواص خاک، و روش های تولید (یا شرایط آزمایشی)، میانگین اثر کاربرد بیوچار بر محصول بهره وری در خاک های متاثر از نمک به طور قابل توجهی مثبت بود. تأثیر اصلاح بیوچار بر بهره وری محصول تا حدی به کیفیت های خاص بیوچار بستگی دارد، از جمله شرایط C/N، PH و پیرولیز. همچنین استفاده از بیوچار سبب افزایش مقدار آب موجود در خاک می شود و تنش اسمزی بهبود می یابد. کاربرد بیش از حد بیوچار باعث کاهش رشد محصولات می شود. برخی از مطالعات گزارش کرده اند که مقدار بیش از حد بیوچار اعمال شده به خاک ممکن است منجر به افزایش شوری خاک، به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک شود و از رشد گیاه جلوگیری کند. با این وجود، با توجه به اثر اصلاح شده بر بهره وری محصول و هزینه ای اقتصادی در خاک های متاثر از نمک، کاربرد بیوچار باید در سطح بهینه نگه داشته شود (Wu et al., 2024). تنش شوری یک تنش غیرزیستی جدی در سراسر جهان است و می تواند با ایجاد اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی و مولکولی گیاه، بهره وری محصول را به میزان قابل توجهی کاهش دهد. سمیت یونی ناشی از شوری و تنش های اسمزی و اکسیداتیو بر عملکرد گیاه در شرایط شور تأثیر منفی می گذارد. با این وجود، کاربرد بیوچار رشد گیاه را در شرایط شور از طریق افزایش قابل توجهی در پایداری غشا، جذب مواد مغذی و آب، تجمع اسمولیت ها و هورمون ها، فعالیت های آن تی اکسیدانی و خواص فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی خاک بهبود می بخشد. در سطح جهانی، تلاش هایی برای بهبود نقش بیوچار در گیاهان برای کاهش اثرات نامطلوب شوری در حال انجام است (Gao et al., 2024).

منابع

ریاحی، مستاجران، میراولیایی & مهران. (۲۰۲۰). بررسی اثر تنش شوری بر جوانه زنی بذر ۱۸ رقم گندم (*Triticum aestivum* L.)

فیزیولوژی محیطی گیاهی. ۱۵(۵۸): ۱-۱۰

Asgari, A., & Ghafori, A. (2023). The effects of biochar on improving the tolerance to salinity stress and some growth traits in cotton. *Iranian Journal of Cotton Researches*, 11(1): 1-12.

de Carvalho Junior, J. I. T., Gonzaga, M. I. S., de Almeida, A. Q., Araújo, J., & Santos, L. C. O. (2019). Type and quantity of biochar influenced soil microbial activity and carbon priming effect. *Semina: Ciências Agrárias*, 40(4): 1405-1416.

Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist*, 167(3): 645-663.



- Akhtar, S. S., Andersen, M. N., & Liu, F. (2015). Biochar mitigates salinity stress in potato. *Journal of agronomy and crop science*, 201(5): 368-378.
- Cao, H., Ding, R., Kang, S., Du, T., Tong, L., Zhang, Y., ... & Shukla, M. K. (2023). Drought, salt, and combined stresses in plants: Effects, tolerance mechanisms, and strategies. *Advances in Agronomy*, 178: 107-163.
- Fedeli, R., Vannini, A., Djatouf, N., Celletti, S., & Loppi, S. (2024). Can lettuce plants grow in saline soils supplemented with biochar?. *Heliyon*, 10(4).
- Gao, Z. W., Ding, J., Ali, B., Nawaz, M., Hassan, M. U., Ali, A., ... & Sabagh, A. E. (2024). Putting Biochar in Action: A Black Gold for Efficient Mitigation of Salinity Stress in Plants. Review and Future Directions. *ACS omega*, 9(29): 31237-31253.
- Hu, Y., & Schmidhalter, U. (2023). Opportunity and challenges of phenotyping plant salt tolerance. *Trends in plant science*, 28(5): 552-566.
- Ibrahim, M. E. H., Ali, A. Y. A., Elsiddig, A. M. I., Zhou, G., Nimir, N. E. A., Ahmad, I., ... & Salih, E. G. I. (2020). Biochar improved sorghum germination and seedling growth under salinity stress. *Agronomy Journal*, 112(2): 911-920.
- İlay, R. (2022). Changes of wheat (*Triticum aestivum* L.) germination as affected by application of tomato plant biochar under salinity stress. *Journal of Plant Nutrition*, 45(8): 1162-1180.
- Joseph, S., Cowie, A. L., Van Zwieten, L., Bolan, N., Budai, A., Buss, W., ... & Lehmann, J. (2021). How biochar works, and when it doesn't: A review of mechanisms controlling soil and plant responses to biochar. *Gcb Bioenergy*, 13(11): 1731-1764.
- Kapoor, D., Bhardwaj, S., Landi, M., Sharma, A., Ramakrishnan, M., & Sharma, A. (2020). The impact of drought in plant metabolism: How to exploit tolerance mechanisms to increase crop production. *Applied Sciences*, 10(16): 5692.
- Kim, H. S., Kim, K. R., Yang, J. E., Ok, Y. S., Owens, G., Nehls, T., ... & Kim, K. H. (2016). Effect of biochar on reclaimed tidal land soil properties and maize (*Zea mays* L.) response. *Chemosphere*, 142: 153-159.
- Kul, R., Arjumend, T., Ekinci, M., Yildirim, E., Turan, M., & Argin, S. (2021). Biochar as an organic soil conditioner for mitigating salinity stress in tomato. *Soil Science and Plant Nutrition*, 67(6): 693-706.
- Parkash, V., & Singh, S. (2020). Potential of biochar application to mitigate salinity stress in eggplant. *HortScience*, 55(12): 1946-1955.
- Wu, B., Yang, H., Li, S., & Tao, J. (2024). The effect of biochar on crop productivity and soil salinity and its dependence on experimental conditions in salt-affected soils: a meta-analysis. *Carbon Research*, 3(1): 56.
- Xie, Y., Wang, L., Li, H., Westholm, L. J., Carvalho, L., Thorin, E., ... & Skreiberg, Ø. (2022). A critical review on production, modification and utilization of biochar. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 161, 105405.
- Yang, A., Akhtar, S. S., Li, L., Fu, Q., Li, Q., Naeem, M. A., ... & Jacobsen, S. E. (2020). Biochar mitigates combined effects of drought and salinity stress in quinoa. *Agronomy*, 10(6): 912.



مقایسه عملکرد فلورسانس کلروفیل اکوتیپ های گیاه دارویی *Stachys lavandulifolia*

تحت تنش پرتو فرابنفش

قادر حبیبی^{*۱}

^{*۱} گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران (ghabibi@pnu.ac.ir)

چکیده

گیاهان *Stachys lavandulifolia* برای جلوگیری از اثرات مضر شدت های بالاتر نور و پرتو فرابنفش (UVB)، سازگاری های دفاعی ایجاد کرده اند که در این تحقیق تحت عنوان مکانیسم های حفاظت نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. هنگامی که اکوتیپ های مناطق مرتفع گیاه *Stachys lavandulifolia* در معرض تنش (HL) قرار گرفتند، سازوکارهای حفاظت نوری بهتری در مقایسه با گیاهان ساکن ارتفاع پایین نشان دادند. گیاهان ساکن ارتفاع پایین، کاهش کلروفیل و فعالیت فتوشیمیایی را بروز دادند که منجر به وقوع مهار نوری فتوسیستم ها شد. وقوع مهار نوری در این گیاهان با کاهش بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) و فعالیت کمپلکس فتولیز کننده آب در فتوسیستم II (F_v/F_o) همراه بود. دلیل مقاومت بالای اکوتیپ های مناطق مرتفع در معرض تنش افزایش سازگاری با شرایط تنش پرتو فرابنفش از طریق تجمع متابولیت های آنتی اکسیدانی شامل کاروتنوئید ها محقق شد و در نتیجه عملکرد فتوشیمیایی بهتر گردید.

واژگان کلیدی: اکوتیپ های مناطق مرتفع، پرتو فرابنفش، فلورسانس کلروفیل، *Stachys lavandulifolia*



۱. مقدمه

مکانیسم‌های حفاظت نوری در گیاهان شامل کاهش مهار نوری فتوسیستم II (PSII)، حرکت برگ‌ها و کلروپلاست‌ها، غریبال و تعدیل کردن انرژی تابش نوری از طریق تغییر در بیوسنتز کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها، افزایش ظرفیت سیستم‌های مهارکننده گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، اتلاف انرژی نور جذب‌شده به عنوان انرژی حرارتی (qE)، جریان چرخه ای الکترون (CEF) در اطراف فتوسیستم I (PSI) و مسیر تنفس نوری هستند (Takahashi and Badger, 2011). افزایش نسبت کاروتنوئیدها به کلروفیل، از طریق افزایش مخزن رنگیزه چرخه گزانتوفیل، آسیب نور را کاهش می دهد (Saleem et al., 2020). اتلاف انرژی نور اضافی به عنوان گرما در کمپلکس انباشت نور (LHC) از طریق تنظیم مثبت چرخه گزانتوفیل، از دستگاه فتوسنتزی در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می کند. علاوه بر این، گیاهان کاروتنوئیدها را برای تجمع نور (بعنوان رنگیزه های جاذب نور) و همچنین نقش حفاظت از نور در برگ ها ذخیره می کنند (Ashraf and Harris, 2013). همچنین، فلورسانس گذرای کلروفیل a، اطلاعات دقیقی راجع به مکانیسم های حفاظت نوری مرتبط با وضعیت و عملکرد مراکز واکنش فتوسیستم II تحت تنش های محیطی فراهم می آورد (Habibi, 2017). تست JIP، اطلاعاتی درباره ی جریان انرژی در غشای تیلاکوئیدی، ساختار و عملکرد دستگاه فتوسنتزی و به دام انداختن انرژی برانگیختگی و انتقال الکترون فراهم می کند تا شرایط حاکم بر گیاه در پاسخ به تنش را تعیین کند (Habibi, 2021). بنابراین مکانیسم های دخیل در حفاظت نوری که گیاهان طی سال ها برای رویش و زندگی در زیستگاه طبیعی با ارتفاعات بالا ایجاد کرده اند تا تحت تنش های نور بالا و پرتو فرابنفش، بقای خود را تضمین کنند، از اهمیت زیادی برخوردار است.

هدف اصلی این تحقیق، معرفی سازوکارهای حفاظت نوری در اکوتیپ های مختلف چای کوهی (*Stachys lavandulifolia*) است که توسط بررسی تغییرات مقدار رنگیزه های فتوسنتزی و پارامترهای فلورسانس کلروفیل و مطالعه نقش این تغییرات در حفاظت نوری اکوتیپ ها انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

بذرهای چای کوهی (*Stachys lavandulifolia*) در گلدان های پلاستیکی به عمق ۴۰ سانتی متر و قطر ۳۰ سانتی متر و حاوی خاک ماسه ای پرلیت دار به مدت ۱۲ هفته کشت شدند و هر ۷ روز یک بار با آب مقطر آبیاری شدند. گیاهان به شرایط نرمال اتاق رشد شامل فتوپریود ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی و دمای روز ۲۵ و شب ۱۸ درجه سانتی گراد منتقل شدند. گیاهان انتخاب شده به مدت ۱۰ روز با شدت پرتو فرابنفش با دز ۱۵ و ۳۰ کیلوژول بر متر مربع در روز تیمار شدند. سنجش بر روی نمونه های تازه برداشت شده و یا نگهداری شده در ازت مایع انجام شد.

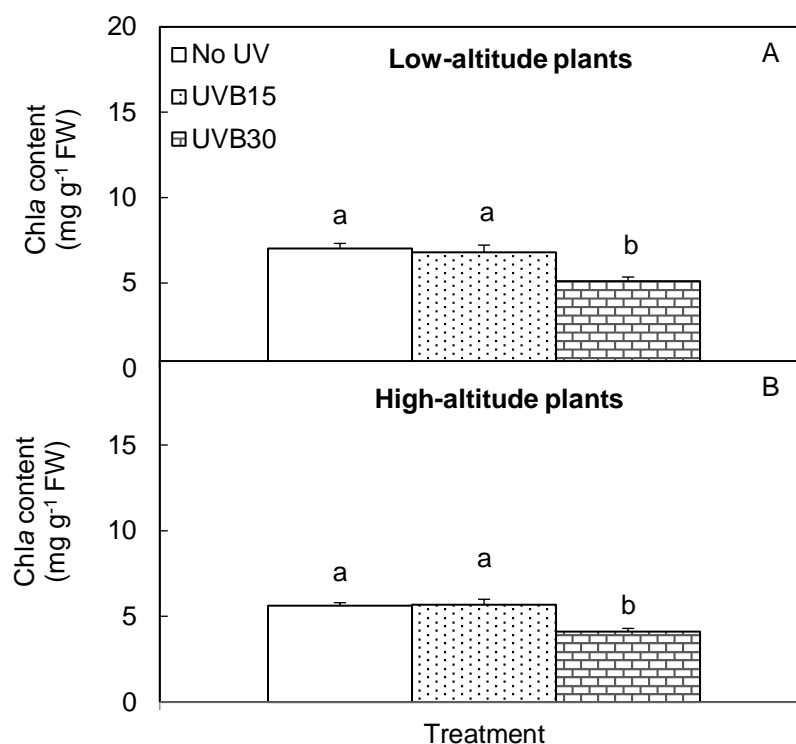
جهت تعیین فلورسانس کلروفیل، از دستگاه فلورسانس سنج (دستگاه فلوریمتر PEA Pocket، شرکت Hansatech، انگلستان) استفاده شد. پارامترهای فلورسانس کلروفیل در برگ های سازش یافته با تاریکی (به مدت حداقل ۲۰ دقیقه) شامل F_0 (فلورسانس پایه) و F_m (فلورسانس بیشینه) اندازه گیری شد. برای رسم منحنی فلورسانس از تست JIP بهره گرفته شد. تست JIP داده های ثبت شده اولیه توسط دستگاه فلورسانس سنج را به پارامترهای بیوفیزیکی تبدیل می کند و کمیت مراحل جریان انرژی



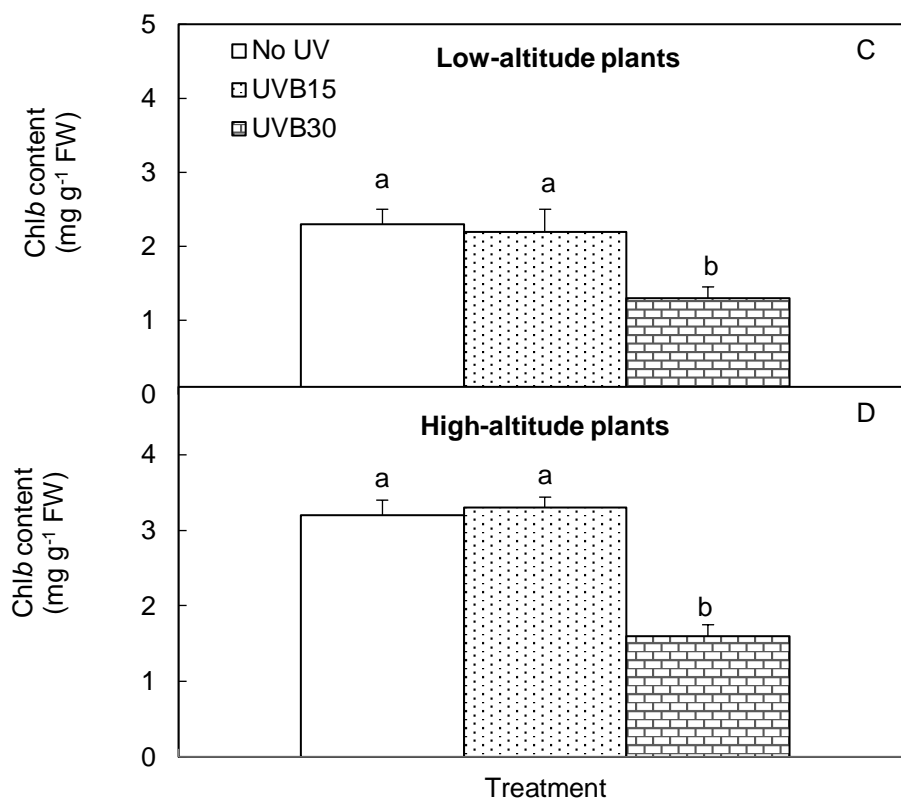
را طی فتوسیستم II تعیین می‌کند. در نهایت پارامترهای کارایی فعالیت کمپلکس آزاد کننده اکسیژن (F_v/F_o)، شاخص کارایی فتوسیستم‌ها (PI_{abs}) و بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) مورد سنجش قرار گرفتند (Strasser *et al.*, 2004). جهت سنجش مقدار رنگیزه‌ها، نمونه‌های گیاهی با آب دوبار تقطیر شستشو شده و بر روی کاغذ صافی خشک شدند. پس از اندازه‌گیری وزن تر (تقریباً ۲۰۰ میلی گرم)، نمونه‌ها در داخل ورقه آلومینیومی قرار گرفته و در ازت مایع تا زمان سنجش نگهداری شدند. استخراج ماده مورد نظر با استفاده از استن بر روی یخ و با هاون چینی سرد انجام شد. غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها به وسیله اسپکتروفتومتر (Shimadzu AA-6500, Kyoto, Japan)، بعد از ۲۴ ساعت استخراج در استن ۱۰۰ درصد تعیین شد. جذب در ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و غلظت کلروفیل a ، b و کل و کاروتنوئیدها طبق فرمول‌های مربوطه محاسبه شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1985).

۳. نتایج

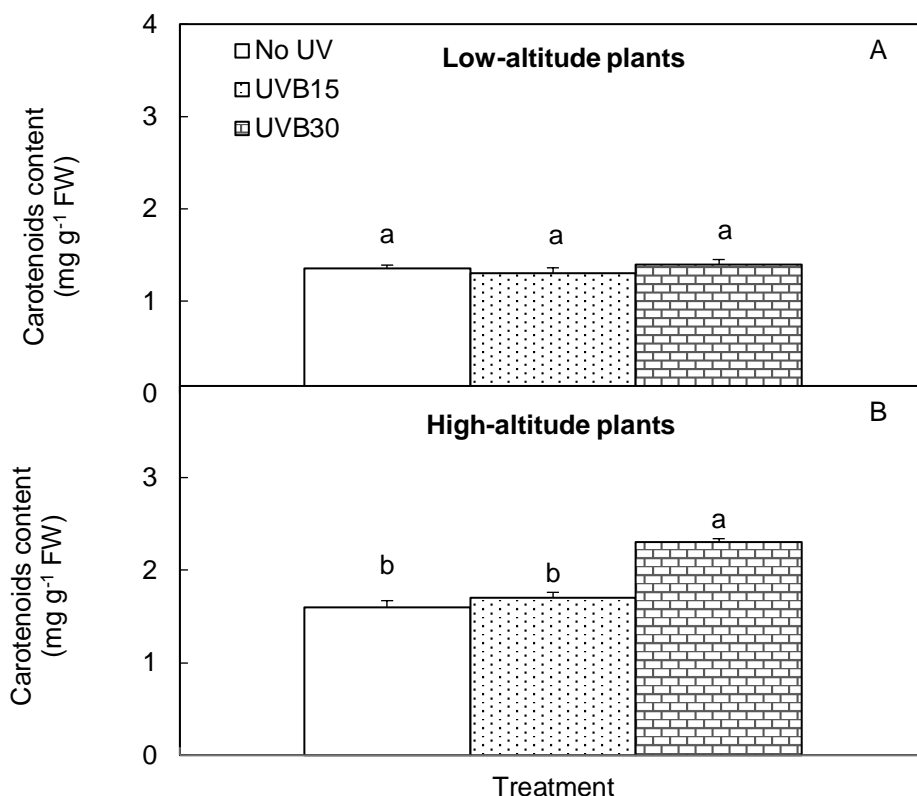
در اکوتیپ‌های مناطق مرتفع کم ارتفاع، محتوای کلروفیل a و b تحت تأثیر تنش UVB با دز ۳۰ کیلوژول کاهش معنی داری پیدا کردند (شکل ۱ و ۲). الگوی تجمع کاروتنوئیدها در گیاهان مناطق مرتفع و کم ارتفاع، در پاسخ به تنش‌ها، مشابه عمل نکرد، به این صورت که در هر دو اکوتیپ، در حضور دوزهای UVB15، تجمع کاروتنوئیدها تغییر معناداری نشان نداد ولی تجمع کاروتنوئیدها در پاسخ به UVB30، در گیاهان مناطق مرتفع افزایش پیدا کرد (شکل ۳). در این مطالعه، بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) در گیاهان مناطق کم ارتفاع تحت تنش UVB30، کاهش پیدا کرد، در حالی که F_v/F_m در گیاهان مناطق مرتفع تحت تنش‌ها در قیاس با گیاهان شاهد تغییری نداشت (شکل ۴). به دنبال آن، فعالیت کمپلکس فتولیز کننده آب در فتوسیستم II (F_v/F_o) در برگ‌های گیاهان مناطق کم ارتفاع تحت تنش UVB30 به صورت معنی داری کاهش پیدا کرد (شکل ۵)، اما در گیاهان مناطق مرتفع، فعالیت کمپلکس فتولیز کننده آب در فتوسیستم II (F_v/F_o) تحت تنش‌ها تغییری نکرد. در مقایسه با گیاهان مناطق کم ارتفاع، جالب توجه است که گیاهان مناطق مرتفع مقادیر F_v/F_m و F_v/F_o را در محدوده ی گیاهان شاهد حفظ کردند. شاخص کارایی فتوسیستم‌ها (PI_{abs}) در گیاهان مناطق مرتفع تحت UVB30 تغییر معنی داری پیدا نکرد اما گیاهان مناطق کم ارتفاع تحت تنش‌های UVB30 کاهش قابل توجهی در مقدار شاخص کارایی فتوسیستم‌ها پیدا کردند (شکل ۶).



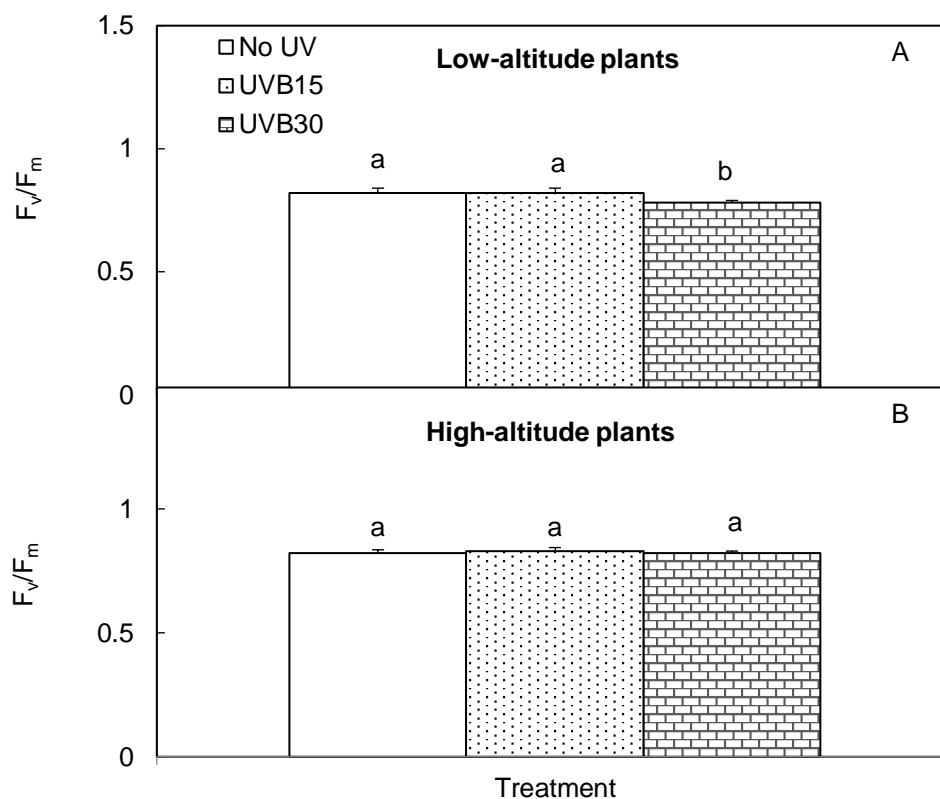
شکل (۱) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB) بر مقدار کلروفیل a در برگ های اکوتیپ های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Stachys lavandulifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده ها میانگین ۴ تکرار هستند.



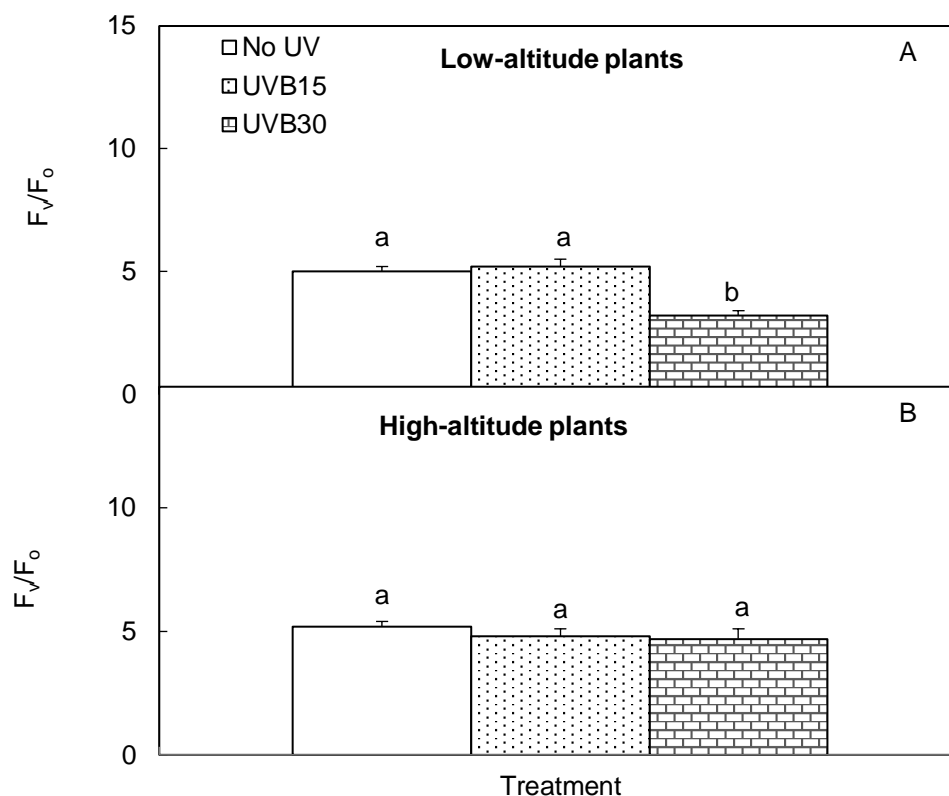
شکل (۲) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB) بر مقدار کلروفیل b در برگ های اکوتیپ های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Stachys lavandulifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده ها میانگین ۴ تکرار هستند.



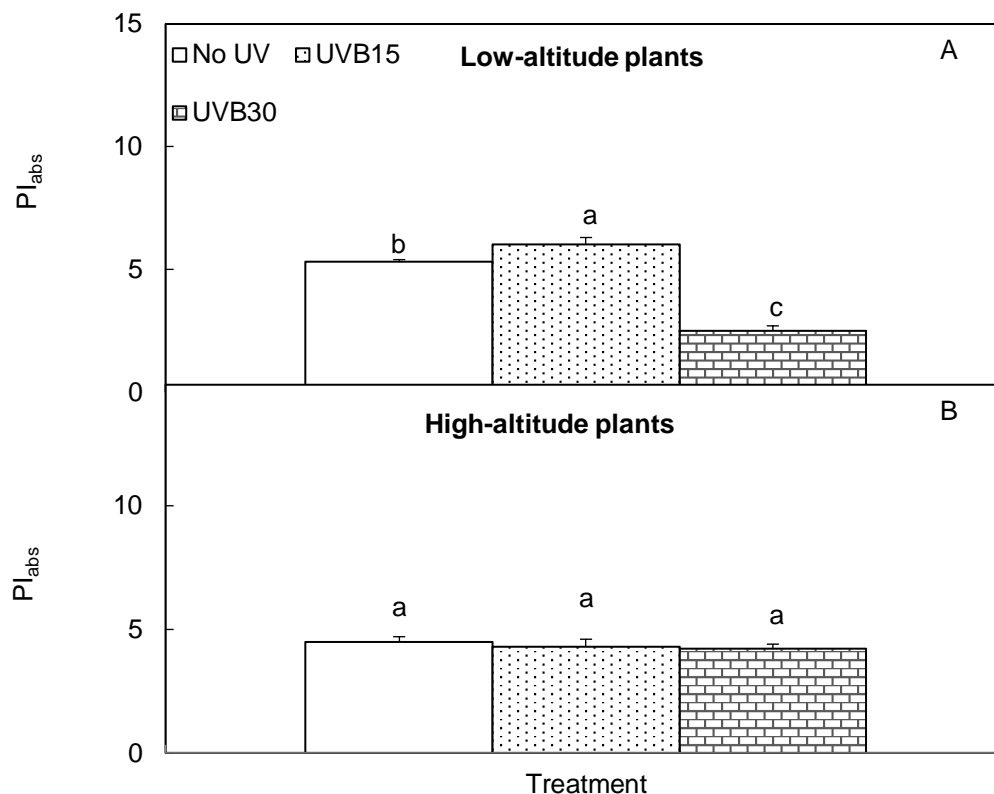
شکل (۳) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB) بر مقدار کاروتنوئید در برگ های اکوتیپ های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Stachys lavandulifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده ها میانگین ۴ تکرار هستند.



شکل (۴) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB) بر بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در برگ های اکوتیپ های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Stachys lavandulifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده ها میانگین ۴ تکرار هستند.



شکل (۵) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB) بر فعالیت کمپلکس آزاد کننده اکسیژن در برگ های اکوتیپ های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Stachys lavandulifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده ها میانگین ۴ تکرار هستند.



شکل (۶) تأثیر تیمارهای پرتو فرابنفش (UVB) بر شاخص کارایی فتوسنتز در برگ های اکوتیپ های مناطق مرتفع و کم ارتفاع *Stachys lavandulifolia*. میانگین داخل هر ارتفاع که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی: Tukey test در سطح ۹۵ درصد). داده ها میانگین ۴ تکرار هستند.

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج ما نشان داد که تنش UVB باعث کاهش مقادیر کلروفیل در برگ های گیاهان کم ارتفاع و گیاهان مرتفع که در معرض دوزهای بالای پرتو فرابنفش قرار گرفتند می شود. (Salama و همکاران، ۲۰۱۱) نیز کاهش محتوای کلروفیل a و b در گیاه تحت تنش UVB را مشاهده کردند. Ri و همکاران (۲۰۲۴) نتایج مشابهی را در محتوای رنگیزه های فتوسنتزی در گیاه *Schisandra chinensis* مشاهده کردند، که احتمالاً از طریق تخریب یا مهار آنزیم های دخیل در مسیرهای بیوسنتزی کلروفیل صورت گرفته است (Yadav et al., 2017). تیمار گیاهان مرتفع *Stachys lavandulifolia* تحت تنش دوزهای بالای پرتو فرابنفش منجر به افزایش چشم گیر محتوای کاروتنوئید در مقایسه با افزایش آن در اکوتیپ کم ارتفاع شد. در گیاه *Capsicum annuum* نیز افزایش محتوای کاروتنوئید تحت تنش UVB توسط (Castillejo و همکاران، ۲۰۲۲) مشاهده شد. افزایش مقدار کاروتنوئیدها با افزایش فرآیندهای مهارتی تنش و محافظت نوری چرخه گزانتوفیل ارتباط دارد.

(Habibi, 2021). چرخه گزانتوفیل شامل تبدیل آنزیمی گزانتوفیل ها، نقش کلیدی در اتلاف انرژی اضافی دارد (Lingwan et al., 2023).

در گیاهان مناطق کم ارتفاع در دوزهای بالای پرتو فرابنفش، F_v/F_m و F_v/F_o کاهش پیدا کردند که نشان دهنده ایجاد اختلال در کارایی PSII و کمپلکس فتولیز آب و در نتیجه بروز مهار نوری PSII (Chen et al., 2023) بود. کاهش در F_v/F_o می تواند منعکس کننده کاهش فعالیت کمپلکس فتولیز کننده آب در محل اهدا کننده PSII باشد (Habibi and Ajory, 2015) و همچنین در مطالعات دیگر کاهش F_v/F_o نشان دهنده ی تغییر میزان انتقال الکترون از PSII به اولین پذیرندگان الکترون با کاهش تعداد و اندازه ی مرکز واکنش می باشد (Kumar et al., 2020). همچنین در گیاهان کم ارتفاع، شاخص کارایی فتوسیستم ها (PI_{abs}) که عملکرد PSII را بهتر نشان می دهد، در تیمارهای دوزهای بالای پرتو فرابنفش کاهش یافت. همانطور که (Ji و همکاران، ۲۰۲۲) در گیاه برنج شاهد کاهش PI_{abs} تحت تنش UVB بودند و نتایج نشان داد که UV-B به طور قابل توجهی ظرفیت فتوسنتزی را مهار می کند و در نتایج (Shomali و همکاران، ۲۰۲۳) نیز کاهش PI_{abs} در گیاه گوجه فرنگی تحت تنش نور زیاد مشاهده شد. اما شاخص کارایی فتوسیستم ها در تیمارهای مناطق مرتفع حفظ شد که نشان دهنده تحمل و سازگاری گیاهان نسبت به تیمارهای اعمال شده بود.

بطور کلی نتایج نشان دادند که افزایش میزان کاروتنوئید در دوزهای بالای پرتو فرابنفش در گیاه مرتفع مطابق با شرایط گیاه، به منظور راهی برای مقابله با مهار نوری حین احساس تنش توسط گیاه می باشد. در واقع، مقدار بیشتر کاروتنوئیدها می تواند از کلروپلاست ها در شرایط تنش نوری بالا محافظت کند (Han et al., 2023).

منابع

- Ashraf, M. H., Harris, P. J., 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica*, 51(2): 163-190.
- Chen, C. I., Lin, K. H., Lin, T. C., Huang, M. Y., Chen, Y. C., Huang, C. C., Wang, C. W., 2023. Responses of photosynthesis and chlorophyll fluorescence during light induction in different seedling ages of *Mahonia oiwakensis*. *Botanical Studies*, 64(1): 1-11.
- Habibi, G., 2017. Physiological, photochemical and ionic responses of sunflower seedlings to exogenous selenium supply under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(10): 213.
- Habibi, G., 2021. Changes in crassulacean acid metabolism expression, chloroplast ultrastructure, photochemical and antioxidant activity in the *Aloe vera* during acclimation to combined drought and salt stress. *Functional Plant Biology*, 49(1): 40-53.
- Habibi, G., Ajory, N., 2015. The effect of drought on photosynthetic plasticity in *Marrubium vulgare* plants growing at low and high altitudes. *Journal of plant research*, 128: 987-994.
- Han, S., Wang, Y., Zhang, Q., Wang, W., Pei, D., 2023. Chrysanthemum morifolium β -carotene hydroxylase overexpression promotes *Arabidopsis thaliana* tolerance to high light stress. *Journal of Plant Physiology*, 284: 153962.
- Kumar, D., Singh, H., Raj, S., Soni, V., 2020. Chlorophyll a fluorescence kinetics of mung bean (*Vigna radiata* L.) grown under artificial continuous light. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 24: 100813.
- Lichtenthaler, H. K., Wellburn, A. R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11: 591-592.
- Lingwan, M., Pradhan, A. A., Kushwaha, A. K., Dar, M. A., Bhagavatula, L., Datta, S., 2023. Photoprotective role of plant secondary metabolites: Biosynthesis, photoregulation, and prospects of metabolic



- engineering for enhanced protection under excessive light. *Environmental and Experimental Botany*, 209: 105300.
- Ri, I., Pak, S., Pak, U., Yun, C., Tang, Z., 2024. How does UV-B radiation influence the photosynthesis and secondary metabolism of *Schisandra chinensis* leaves? *Industrial Crops and Products*, 208: 117832.
- Salama, H. M., Al Watban, A. A., & Al-Fughom, A. T., 2011. Effect of ultraviolet radiation on chlorophyll, carotenoid, protein and proline contents of some annual desert plants. *Saudi journal of biological sciences*, 18(1): 79-86.
- Saleem, M. H., Rehman, M., Fahad, S., Tung, S. A., Iqbal, N., Hassan, A., Ayub, A., Wahid, M. A., Shaukat, S., Liu, L., Deng, G., 2020. Leaf gas exchange, oxidative stress, and physiological attributes of rapeseed (*Brassica napus* L.) grown under different light-emitting diodes. *Photosynthetica*, 58(3).
- Shomali, A., Aliniaiefard, S., Mohammadian, M., Lotfi, M., & Kalaji, H. M., 2023. Genotype-dependent Strategies to “Overcome” Excessive Light: Insights into Non-Photochemical Quenching under High Light Intensity. *Physiologia Plantarum*, 175(6): e14077.
- Strasser, R.J., Tsimilli-Michael, M. and Srivastava, A., 2004. Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. In: *Chlorophyll *a* Fluorescence: A Signature of Photosynthesis* (Ed. Papageorgiou, G.C.) 321-362. Springer, Dordrecht.
- Takahashi, S., Badger, M. R., 2011. Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. *Trends in plant science*, 16(1): 53-60.
- Yadav, S., Shrivastava, A. K., Agrawal, C., Sen, S., Chatterjee, A., Rai, S., ..., Rai, L. C., 2017. Impact of UV-B Exposure on Phytochrome and Photosynthetic Machinery: From Cyanobacteria to Plants. *UV-B Radiation: From Environmental Stressor to Regulator of Plant Growth*, 259-277.



اهمیت رنگدانه های فتوسنتزی گیاه اسفناج در سلامت انسان، خواص دارویی و پایداری محیط زیست

زهره دادرسی صابری^{*۱}

^{*۱} گروه علوم و مهندسی محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا (zahra_dadrasi@webmail.guilan.ac.ir)

چکیده

اسفناج (*Spinacia oleracea*) گیاهی یک ساله، دولپه ای و گلدار با ساقه و برگ های لطیف است. این گیاه با داشتن رنگدانه های فتوسنتزی مانند کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتن و زانتوفیل، علاوه بر خواص دارویی، تأثیرات مثبتی بر محیط زیست دارد. این رنگدانه ها در جذب نور و فتوسنتز نقش داشته و به کاهش دی اکسید کربن و تولید اکسیژن کمک می کنند. در این مطالعه، عصاره رنگدانه های اسفناج با استون ۸۰ درصد تهیه و طیف جذبی آن در محدوده ۳۸۰ تا ۷۰۰ نانومتر بررسی شد. جداسازی دقیق تر این ترکیبات با اتر و پتاس متانولی انجام شد. نتایج نشان داد کلروفیل ها در طول موج های ۴۴۰ و ۶۶۰ نانومتر بیشترین جذب را دارند. کلروفیل b و زانتوفیل به دلیل خواص آنتی اکسیدانی قوی، در کاهش استرس اکسیداتیو و مقابله با آلودگی های محیطی مؤثرند. کلروفیل a و کاروتن نیز به عنوان تقویت کننده ایمنی و بهبود عملکرد سیستم گوارشی شناخته شدند. این ترکیبات قابلیت کاهش آسیب های سلولی و کمک به فرآیندهای بازسازی بافتی را دارند. رنگدانه های برگ اسفناج، به دلیل خواص آنتی اکسیدانی و اثرات ضد التهابی، پتانسیل بالایی برای استفاده در تولید مکمل های دارویی و غذایی دارند. همچنین، این ترکیبات با جذب دی اکسید کربن و کاهش گازهای گلخانه ای، نقش مهمی در بهبود کیفیت هوا و حفاظت از محیط زیست ایفا می کنند. بهره برداری پایدار از اسفناج به عنوان منبعی طبیعی می تواند به کاهش آلودگی های شیمیایی و ارتقای سلامت انسان و محیط زیست کمک کند.

واژگان کلیدی: خواص ضد التهابی، زیست شناسی عمومی، مدیریت منابع طبیعی



۱. مقدمه

گیاهان دارویی از دیرباز ارتباط نزدیکی با انسان داشته‌اند و نقش مهمی در طب سنتی ایفا کرده‌اند. این گیاهان به دلیل خواص درمانی خود مورد توجه جهانی قرار گرفته‌اند و ایران با داشتن شرایط جغرافیایی و اقلیمی مناسب، یکی از بهترین مناطق برای تولید گیاهان دارویی است. با توجه به اهمیت رو به افزایش گیاهان دارویی در جایگزینی داروهای شیمیایی، صادرات این گیاهان می‌تواند به منبع بزرگی برای درآمد ارزی کشور تبدیل شود. تولید و صادرات گیاهان دارویی نیازمند توجه به استانداردها، خشک کردن، بسته‌بندی و بازاریابی مناسب است (صمصام شریعت، ۱۳۸۲).

منابع طبیعی با ویژگی‌های زیستی و شیمیایی منحصر به فرد خود در طی تاریخ بشر نقش حیاتی در تأمین سلامت و درمان بیماری‌ها داشته‌اند. با این حال، عوامل محیطی مانند تغییرات اقلیمی، آلودگی‌های زیست‌محیطی و تخریب اکوسیستم‌ها تهدیدات جدی برای تولید گیاهان دارویی به شمار می‌روند. این عوامل می‌توانند بر ترکیبات فعال گیاهان تأثیر منفی گذاشته و عملکرد دارویی آن‌ها را کاهش دهند. بنابراین، ضروری است که اقدامات مناسبی برای مدیریت منابع طبیعی و حفاظت از زیستگاه‌های گیاهان دارویی انجام شود. توجه به پایداری این گیاهان نه تنها به حفظ سلامت انسان‌ها کمک می‌کند، بلکه می‌تواند به تقویت تولیدات دارویی و غذایی در سطح جهانی نیز منجر شود (قربانپور و وارما، ۱۴۰۲).

اسفناج (*Spinacia oleracea*) یکی از گیاهان پرمصرف در سراسر جهان است که به دلیل دارا بودن ترکیبات زیست‌فعال و خواص دارویی متنوع، از دیرباز در طب سنتی و تغذیه انسان جایگاه ویژه‌ای داشته است. این گیاه حاوی مقادیر قابل توجهی از رنگرزه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل‌ها (a و b)، کاروتن و زانتوفیل است که علاوه بر نقش حیاتی در فرآیند فتوسنتز، فواید زیادی برای سلامت انسان دارند (Sarker and Oba, 2018).

رنگدانه‌های فتوسنتزی، مولکول‌های ویژه‌ای هستند که به گیاهان کمک می‌کنند نور خورشید را جذب کرده و آن را به انرژی شیمیایی تبدیل کنند. مهم‌ترین رنگدانه‌ها شامل کلروفیل‌ها (a و b) و کاروتنوئیدها (مانند کاروتن و زانتوفیل) هستند. کلروفیل‌ها در فرآیند فتوسنتز نور خورشید را جذب کرده و انرژی آن را برای تبدیل دی‌اکسید کربن و آب به گلوکز استفاده می‌کنند. کاروتنوئیدها نیز علاوه بر کمک به جذب نور، در محافظت از گیاه در برابر آسیب‌های ناشی از نور شدید و استرس اکسیداتیو نقش دارند. این رنگدانه‌ها به سلامت گیاهان و نیز خواص دارویی گیاهان کمک می‌کنند (Tiwari and Padhy, 2020).

رنگدانه‌های کلروفیل a و b از اصلی‌ترین ترکیبات موجود در اسفناج هستند که در طول موج‌های ۴۳۰-۴۵۰ نانومتر و ۴۷۰-۴۵۵ نانومتر (آبی) و ۶۶۰-۶۸۰ نانومتر و ۶۷۵-۶۹۰ نانومتر (قرمز) بیشترین جذب نور را دارند. این مولکول‌ها به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی خود، در کاهش استرس اکسیداتیو سلول‌های بدن و جلوگیری از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد مؤثر هستند. کاروتن و زانتوفیل نیز از مهم‌ترین کاروتنوئیدهای موجود در این گیاه هستند که علاوه بر ایفای نقش در محافظت نوری گیاه، دارای اثرات ضدالتهابی، ضدسرطانی و تقویت‌کننده سیستم ایمنی بدن هستند (Zhao et al., 2020).

تحقیقات متعدد نشان داده‌اند که مصرف اسفناج به دلیل وجود این رنگدانه‌ها می‌تواند در کاهش خطر بیماری‌های مزمن نظیر بیماری‌های قلبی-عروقی، دیابت، چاقی، و برخی سرطان‌ها مفید باشد. همچنین این ترکیبات به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی

و ضدالتهابی قوی، در پیشگیری از پیری زودرس و تقویت سیستم ایمنی بدن نقش دارند. علاوه بر ارزش تغذیه‌ای، اسفناج به عنوان یک منبع طبیعی برای استخراج ترکیبات دارویی و تولید فرآورده‌های گیاهی مورد توجه محققین قرار گرفته است (Bunea et al., 2008).

خواص دارویی اسفناج محدود به این رنگدانه‌ها نیست، بلکه این گیاه منبعی غنی از ترکیبات دیگری نظیر فلاونوئیدها، ویتامین C، A، D، B و مواد معدنی است که در پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی، دیابت، و سرطان تأثیرگذار هستند. این ویژگی‌ها موجب شده است اسفناج علاوه بر جایگاه خود در تغذیه، به عنوان ماده اولیه‌ای مهم در تولید مکمل‌های غذایی، داروها، و محصولات آرایشی مورد استفاده قرار گیرد (میرجلیلی، ۱۳۸۸).

هدف این پژوهش، بررسی کمی و کیفی رنگدانه‌های فتوسنتزی کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتن و زانتوفیل در برگ اسفناج و تحلیل نقش آن‌ها در خواص دارویی این گیاه است. این تحقیق نه تنها به درک بهتر ارتباط این رنگدانه‌ها با ویژگی‌های دارویی اسفناج کمک می‌کند، بلکه می‌تواند زمینه‌ساز استفاده بهینه از این گیاه در صنایع دارویی و تغذیه‌ای باشد. از سوی دیگر، اسفناج به عنوان یک گیاه بومی و مقاوم، نقش مهمی در پایداری اکوسیستم‌های کشاورزی و حفظ تنوع زیستی ایفا می‌کند. بهره‌برداری از این گیاه با حفظ محیط زیست، می‌تواند به توسعه پایدار و کاهش وابستگی به داروهای شیمیایی کمک کند.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. گیاه مورد مطالعه

برگ‌های تازه اسفناج (*Spinacia oleracea*)، از بازار شهر صومعه‌سرا خریداری شدند. برای اطمینان از کیفیت مناسب نمونه‌ها، برگ‌های سالم، بدون زردی و بدون آسیب فیزیکی انتخاب شدند. پس از جداسازی برگ‌های مناسب، نمونه‌ها با آب مقطر شستشو داده شدند تا هرگونه آلودگی سطحی، گرد و غبار یا بقایای آفت‌کش‌ها حذف شود. سپس، برگ‌ها با یک دستمال تمیز خشک شدند و بلافاصله برای استخراج رنگدانه‌ها و انجام آنالیزهای بعدی در شرایط استاندارد آزمایشگاهی استفاده شدند. به منظور کاهش تغییرات متابولیکی، پردازش نمونه‌ها در کوتاه‌ترین زمان ممکن انجام شد و استخراج رنگدانه‌ها تحت شرایط یکنواخت صورت گرفت (شکل ۱).





شکل ۱. برگ های تازه اسفناج

۲-۲. روش تحقیق

برای استخراج رنگدانه های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتن و زانتوفیل) از برگ های اسفناج (*Spinacia oleracea*)، طبق روش ¹Lichtenthaler عمل شد. ابتدا ۵/۰ گرم برگ اسفناج با هاون و ۲ میلی لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد. سپس ۳ میلی لیتر دیگر استون ۸۰ درصد به آن اضافه شده و عصاره از طریق کاغذ صافی، صاف شد. به منظور افزایش حجم عصاره، ۵ میلی لیتر دیگر استون ۸۰ درصد به رسوب باقی مانده اضافه گردید و حجم نهایی عصاره به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. در جداسازی رنگدانه ها با روش فاز دو گانه (LLE^2)، ۳ گرم از برگ های اسفناج در هاون با ۵ میلی لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد. سپس ۵ میلی لیتر دیگر استون ۸۰ درصد اضافه گردید و عصاره به ۵۰ میلی لیتر رسانده شد. این عصاره به دکانتور منتقل و ۲۰ میلی لیتر اتر نفتی به آن اضافه شد. پس از تکان دادن محلول به مدت ۲ تا ۵ دقیقه، ۷۰ میلی لیتر آب مقطر به آرامی به دیواره داخلی دکانتور ریخته شد تا دو فاز مجزا ایجاد گردد. فاز اتر نفتی که حاوی رنگدانه ها بود جدا شد و دوباره ۷۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. سپس فازها از یکدیگر جدا گردیدند و با استفاده از پتاس متانولی رنگدانه ها از هم جدا شدند. جهت بررسی طیف جذبی رنگدانه های کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتن و زانتوفیل، عصاره استونی به دست آمده در ناحیه طول موج ۳۸۰ تا ۷۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. برای کالیبراسیون دستگاه، از استون ۸۰ درصد به عنوان شاهد استفاده شد. در این بازه طول موجی، جذب رنگدانه های مختلف نظیر کلروفیل a (با جذب در حدود ۴۳۰-۴۵۰ نانومتر که مربوط به ناحیه آبی و ۶۶۵-۶۸۰ نانومتر مربوط به ناحیه قرمز)، کلروفیل b (در حدود ۴۵۵-۴۷۰ نانومتر مربوط به ناحیه آبی و سبز و ۶۷۵-۶۹۰ نانومتر در ناحیه قرمز)، و کاروتن و زانتوفیل (در حدود ۴۵۰-۴۷۵ نانومتر برای کاروتن جذب در ناحیه سبز و زرد و ۴۷۵-۴۸۰ نانومتر برای زانتوفیل جذب در ناحیه زرد) بررسی شد.

۳. نتایج

نتایج حاصل از روش *Lichtenthaler* در جدول ۱ نشان می دهند که در طول موج ۴۴۰ نانومتر، مقدار جذب برابر با ۱/۱۳ بود که این مقدار نشان دهنده جذب زیاد توسط کلروفیل b است چرا که طیف جذبی رنگدانه ها نشان می دهند کلروفیل b در این ناحیه (که در محدوده آبی قرار دارد) جذب زیادی دارد.

¹ روش *Lichtenthaler* یک روش استاندارد برای استخراج رنگدانه های فتوسنتزی از گیاهان است که شامل استفاده از حلال های خاص مانند استون یا متانول و اندازه گیری جذب در طول موج های مختلف با اسپکتروفتومتر می باشد. این روش برای تعیین غلظت کلروفیل ها و کاروتنوئیدها در گیاهان استفاده می شود.

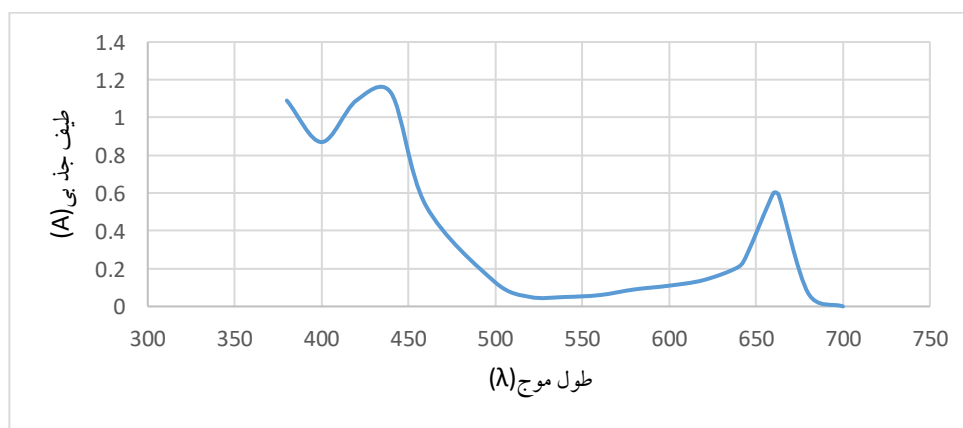
² استخراج مایع-مایع (Liquid-Liquid Extraction)



در طول موج ۶۶۰ نانومتر، جذب به ۰/۶ رسید که این جذب نشان دهنده حضور عمده کلروفیل a در این ناحیه است زیرا کلروفیل a در ناحیه قرمز (بین ۶۶۵-۶۸۰ نانومتر) دارای جذب نور قوی تری است. در طول موج های ۴۶۰، ۵۲۰ و ۵۴۰ نانومتر جذب به ترتیب ۰/۵۳۴، ۰/۰۵ و ۰/۰۵ بوده است که نشان دهنده جذب کم در این نواحی و مرتبط با رنگدانه های دیگر یعنی کاروتن و زانتوفیل است. در طول موج های بالاتر از ۶۶۰ نانومتر، جذب دوباره کاهش می یابد و در طول موج ۷۰۰ نانومتر به صفر می رسد.

جدول ۱. طیف جذبی رنگدانه های فتوسنتزی برگ اسفناج در طول موج های مختلف

طیف جذبی (A)	طول موج (λ)
۱/۰۹	۳۸۰
۰/۸۷۰	۴۰۰
۱/۰۹	۴۲۰
۱/۱۳	۴۴۰
۰/۸۹۰	۴۶۰
۰/۵۳۴	۴۸۰
۰/۱۲۸	۵۰۰
۰/۰۵	۵۲۰
۰/۰۵	۵۴۰
۰/۰۶	۵۶۰
۰/۰۹	۵۸۰
۰/۱۱	۶۰۰
۰/۱۴	۶۲۰
۰/۲۱	۶۴۰
۰/۲۸	۶۴۵
۰/۶۰	۶۶۰
۰/۵۹	۶۶۳
۰/۰۷	۶۸۰
۰/۰۰	۷۰۰



شکل ۲. نمودار طیف جذبی رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ اسفناج در طول موج‌های مختلف

در شکل ۲، دو قله جذبی مشخص مشاهده می‌شود که هر یک نمایانگر جذب نور توسط رنگدانه‌های مختلف در محدوده‌های خاص طول موج است. اولین قله در حدود ۴۴۰ نانومتر قرار دارد و این جذب بالای نور به کلروفیل b نسبت داده می‌شود، که در ناحیه آبی طیف نور، بیشترین کارایی جذب را دارد. دومین قله در حدود ۶۶۰ نانومتر قرار دارد که نمایانگر جذب عمده نور توسط کلروفیل a است، که این جذب در ناحیه قرمز طیف نور اتفاق می‌افتد. در طول موج‌های ۴۶۰ تا ۵۴۰ نانومتر، جذب نور به رنگدانه‌های کاروتن و زانتوفیل تعلق دارد.

با استفاده جداسازی رنگدانه‌ها با فاز دوگانه، رنگدانه‌ها با چهار رنگ مختلف استخراج شدند. کلروفیل a به رنگ سبز تیره، کلروفیل b به رنگ سبز روشن، رنگدانه کاروتن به رنگ زرد که به عنوان یک آنتی‌اکسیدان در گیاه نقش دارد و رنگدانه زانتوفیل با رنگ زرد براق که به عنوان محافظ نوری برای گیاه عمل می‌کند (شکل ۳).



شکل ۳. رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ اسفناج

۴. بحث و نتیجه‌گیری

اسفناج (*Spinacia oleracea*) به عنوان یک گیاه با ارزش غذایی و دارویی بالا شناخته می‌شود. این گیاه حاوی رنگدانه‌های فتوسنتزی مهمی نظیر کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتن و زانتوفیل است که علاوه بر نقش در فرآیند فتوسنتز، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی هستند. این رنگدانه‌ها به کاهش استرس اکسیداتیو و محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد کمک می‌کنند و در پیشگیری از بیماری‌های مزمن مانند سرطان و بیماری‌های قلبی-عروقی نقش بسزایی دارند. کلروفیل‌ها به‌ویژه در کاهش التهاب‌های مزمن و بیماری‌های متابولیک مؤثرند و از بروز آسیب‌های سلولی جلوگیری می‌کنند (میرجلیلی، ۱۳۸۸).

رنگدانه‌های کاروتنوئیدی مانند بتاکاروتن و زانتوفیل نیز در اسفناج به وفور یافت می‌شوند. بتاکاروتن به عنوان پیش‌ساز ویتامین A برای حفظ سلامت بینایی، سیستم ایمنی و پوست حیاتی است. زانتوفیل‌ها علاوه بر ایفای نقش در جذب نور خورشید



و محافظت از گیاه در برابر استرس های محیطی، به عنوان آنتی اکسیدان های طبیعی در کاهش خطر بیماری های مزمن نظیر سرطان و بیماری های قلبی شناخته می شوند. این ترکیبات با مهار رادیکال های آزاد و تقویت سیستم دفاعی بدن، در بهبود سلامت عمومی و کاهش التهابات مزمن مؤثرند (Zhao et al., 2020).

تحقیقات نشان داده اند که اسفناج به عنوان منبعی غنی از مواد معدنی مانند آهن و کلسیم، می تواند در پیشگیری از بیماری های متابولیک و مشکلات استخوانی نقش داشته باشد. رنگدانه های کلروفیل و کاروتنوئیدها نیز در تولید مکمل های غذایی و داروهای طبیعی کاربرد دارند. مصرف منظم این گیاه به کاهش خطر ابتلا به بیماری هایی نظیر سرطان ریه، بیماری های قلبی-عروقی و اختلالات چشمی کمک می کند. همچنین، این رنگدانه ها به تنظیم اکوسیستم و جذب انرژی خورشیدی کمک کرده و در حفظ تعادل کربن و اکسیژن نقش دارند (میرجلیلی، ۱۳۸۸؛ صمصام شریعت، ۱۳۸۲).

اسفناج به دلیل ترکیبات زیست فعال خود می تواند به عنوان یک داروی طبیعی و مکمل غذایی مؤثر در سلامت انسان مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر خواص تغذیه ای، این گیاه دارای پتانسیل بالایی برای کاهش استرس اکسیداتیو، جلوگیری از آسیب های سلولی و پیشگیری از بیماری های مزمن است. پیشنهاد می شود مطالعات بیشتری در خصوص اثرات درمانی این گیاه، به ویژه در زمینه پیشگیری از بیماری های خاص مانند سرطان و دیابت، انجام شود. به طور کلی، مصرف این گیاه در رژیم غذایی روزانه می تواند تأثیرات مثبتی بر سلامت عمومی بدن و پیشگیری از بیماری ها داشته باشد (Bunea et al., 2008).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد اسفناج به دلیل دارا بودن رنگدانه های فتوسنتزی و ترکیبات زیست فعال، علاوه بر خواص آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی، به تقویت سیستم ایمنی و کاهش آسیب های سلولی کمک کرده و به عنوان مکملی ارزشمند در رژیم غذایی و صنعت داروسازی کاربرد دارد. اسفناج با جذب دی اکسید کربن و تولید اکسیژن، به کاهش آلاینده ها و بهبود کیفیت هوا کمک می کند. بنابراین، استفاده از اسفناج می تواند به سلامت انسان و محیط زیست کمک کند.

منابع

صمصام شریعت، س. ه. ۱۳۸۲. پرورش و تکثیر گیاهان دارویی. انتشارات مانی.
قربانپور، م.، وارما، آ.، افشارمحمدیان، م.، خراسانی، م.، قربانی، س.، و یوسف زادی، م. ۱۴۰۲. گیاهان دارویی و چالش های محیط زیستی. انتشارات دانشگاه قم.

میرجلیلی، س. ع. ۱۳۸۸. شناخت گیاهان دارویی و معطر (۱). انتشارات موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی.
Bunea, A., Andjelkovic, M., Socaciu, C., Bobis, O., Neacsu, M., Verhé, R., and Van Camp, J. (2008). Total and individual carotenoids and phenolic acids content in fresh, refrigerated, and processed spinach (*Spinacia oleracea*). Food Chemistry, 108(2):649–656.
Sarker, M. R., and Oba, S. (2018). Antioxidant properties and nutritional values of spinach (*Spinacia oleracea*) leaves. Antioxidants, 7(12): 148.
Tiwari, R., and Padhy, R. (2020). Pigments and their role in photosynthesis and plant growth. Journal of Plant Research, 133(4): 673–682.
Zhao, Y., Li, X., Wang, Z., and Zhang, H. (2020). Antioxidant properties and health benefits of spinach (*Spinacia oleracea*): A review. International Journal of Food Science and Technology, 55(3): 742–751.



مروری بر اثرات نسترن کوهی و محصولات جانبی آن در بیماری های مختلف انسان

ساچلی وزیری^۱، حسین طایفی نصرآبادی^۱

^۱ گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، شهر تبریز (vazirisachli9@gmail.com)

چکیده

نسترن کوهی (*Rosa Canina L.*) که معمولاً به عنوان نسترن وحشی نیز شناخته می شود، به دلیل کاربردهای آن در تغذیه، آرایشی و بهداشتی و داروسازی از اهمیت علمی قابل توجهی برخوردار است. این مقاله مروری بر خواص دارویی-درمانی آن، از جمله اثرات آنتی اکسیدانی، ضد دیابتی، ضد التهابی، ضد میکروبی، ضد سرطانی، ضد سنگ کلیوی و همچنین کاربرد آن در صنایع غذایی و پزشکی اشاره دارد. وجود اثرات درمانی در این گیاه به محتوای غنی آن از اسیدهای فنولیک، کاروتنوئیدها، توکوفرول ها و ویتامین ها نسبت داده شده است. به عنوان مثال، روغن دانه نسترن کوهی با پرس سرد منبع ارزشمندی از اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه است، و اضافه نمودن کنجاله آن به میان وعده ها، ویژگی های تغذیه ای میان وعده ها را افزایش داده و آن ها را در دسته مکمل های غذایی قرار می دهد. هدف این مقاله ارائه مروری جامع از پیشرفت ها در استفاده از نسترن کوهی و محصولات جانبی آن، با تأکید بر نقش آن ها در غنی سازی محصولات غذایی و دارویی با فعالیت های زیستی تغذیه ای و عملکردی است.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، پزشکی، سرطان، محصولات جانبی، نسترن کوهی



۱. مقدمه

نسترن کوهی (*Rosa Canina* L.) متعلق به جنس *Rosa* از خانواده Rosaceae است و به طور وحشی در سراسر جهان در مناطقی مانند آسیا، آمریکای شمالی، اروپا، خاورمیانه رشد می کند. بخش های مختلف این گیاه قرن ها است که به طور سنتی برای مصارف دارویی و آشپزی مورد استفاده قرار می گیرد. طب عامیانه اروپا از نسترن کوهی در درمان اختلالات گوارشی، عفونت ها و تب استفاده می کند. نسترن کوهی یک میوه با ارزش غذایی است که حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات زیست فعال مانند ویتامین ها، مواد معدنی، آنتی اکسیدان ها و ترکیبات فنلی است که به خواص درمانی آن کمک می کند. ترکیبات زیست فعال نسترن کوهی عبارتند از اسیدهای فنولیک (اسید گالیک، اسید الازیک، اسید کافئیک، اسید p-کوماریک)، کاروتنوئیدها (لیکوپن، بتا کاروتن، زآگزانتین)، آنتوسیانین ها، توکوفرول ها (α و بتا توکوفرول)، تانن ها و فلاونوئیدها (Negrean et al., 2024).

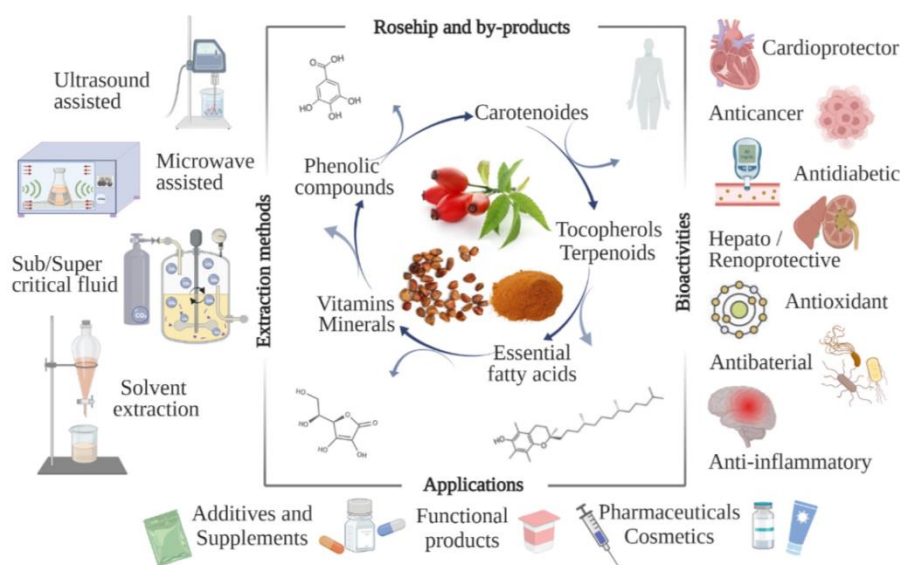
یکی از شناخته شده ترین فواید نسترن کوهی توانایی آن در تقویت سیستم ایمنی است. این امر به دلیل محتوای بالای ویتامین C این گیاه است که نشان داده شده است که عملکرد ایمنی را با افزایش تولید گلبول های سفید و آنتی بادی ها تقویت می کند. همچنین، نسترن کوهی منبع غذایی مهمی از ویتامین ها مانند E، A و K و مواد معدنی از جمله کلسیم، منیزیم، پتاسیم و فسفر است که به ارزش غذایی آن کمک می نماید. ظرفیت آنتی اکسیدانی نسترن کوهی را نیز نمی توان نادیده گرفت. آنتی اکسیدان ها برای مبارزه با استرس اکسیداتیو که نوعی از دلایل بیماری های مزمن و پیری می باشند، ضروری هستند. طیف متنوعی از آنتی اکسیدان های موجود در نسترن کوهی، از جمله فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها، به طور موثری رادیکال های آزاد مضر را خنثی می کنند، در نتیجه آسیب سلولی را به حداقل رسانده و بهزیستی کلی را ارتقا می دهند (Negrean et al., 2024). علاوه بر این، وجود آنتی اکسیدان ها در گل نسترن اثرات محافظتی در برابر التهاب، عاملی کلیدی در شروع و پیشرفت بیماری های مزمن مانند سرطان، دیابت و بیماری های قلبی عروقی دارد. با مهار گونه های فعال اکسیژن و کاهش فرآیندهای التهابی، نسترن کوهی پتانسیل خود را به عنوان یک جایگزین طبیعی در مبارزه با شرایط ناتوان کننده فوق الذکر نشان می دهد. تحقیقات همچنین نشان داده است که نسترن کوهی ممکن است فواید بالقوه ای برای سلامت پوست داشته باشد. سطوح بالای ویتامین C موجود در نسترن کوهی برای سنتز کلاژن مهم است که برای حفظ سلامت پوست ضروری است. علاوه بر این، ترکیبات فنلی موجود در نسترن کوهی دارای اثرات ضدالتهابی و ضدپیری بر روی پوست است (Mármol, et al., 2017).

سالانه کل زنجیره غذایی حدود ۱/۳ میلیارد تن ضایعات غذایی ایجاد می کند. برای رسیدگی به نگرانی های جهانی گرسنگی، محققان توجه خود را به سمت ارزش گذاری محصولات جانبی صنایع غذایی معطوف کرده اند. کاربردهای بالقوه نسترن کوهی در صنایع غذایی، آنها را به یک عنصر امیدوارکننده برای توسعه محصولات کاربردی تبدیل می کند که سلامت و تندرستی را ارتقا می دهند. در این راستا، هم نسترن کوهی و هم فرآورده های جانبی آن، طیف وسیعی از کاربردهای بالقوه را در غذاهای کاربردی و مکمل های غذایی، علاوه بر تولید محصولات معمولی مانند آب میوه، مربا و چای، ارائه می دهند. قابل ذکر است که ترکیب آرد نسترن کوهی در خمیر نان منجر به افزایش قابل توجهی در ارزش غذایی نان شده است. علاوه بر

این، فعالیت‌های زیستی متنوعی که توسط نسترن کوهی به نمایش گذاشته می‌شود، آنها را به یک ماده بسیار امیدوارکننده برای فرمول‌بندی و توسعه مواد مغذی، آرایشی و بهداشتی و محصولات دارویی تبدیل می‌کند (Igual, M. et al., 2021).

هدف این مقاله مروری ارائه یک نمای کلی از پیشرفت‌های حاصل شده در بهره‌برداری از نسترن کوهی و محصولات جانبی است، در حالی که به سهم بالقوه آن در افزایش ارزش غذایی و فعالیت‌های زیستی عملکردی محصولات غذایی و دارویی می‌پردازد. اصالت این رویکرد در اکتشاف همه جانبه نسترن کوهی و محصولات جانبی آن به عنوان منبعی از ترکیبات زیست فعال با کاربردهای چندوجهی نهفته است. این بررسی نه تنها دانش موجود را تثبیت می‌کند، بلکه بر نیاز به تحقیقات بیشتر در چندین زمینه کلیدی نیز تأکید می‌نماید (Negrean et al., 2024).

برای به حداکثر رساندن کامل خواص مثبت نسترن کوهی، در نظر گرفتن چندین جنبه مربوط به فن آوری‌های فرآوری و استخراج به منظور حفظ اثرات تغذیه‌ای و بیولوژیکی فعال آنها و همچنین تضمین پایداری توسعه محصولات مختلف با ارزش افزوده ضروری است. این جنبه‌های مهم، که در بخش‌های بعدی به تفصیل توضیح داده خواهد شد، به طور سیستماتیک در شکل ۱ نشان داده شده‌اند.



شکل ۱. شماتیک نمای کلی از فن آوری‌های استخراج اصلی، فعالیت‌های زیستی و کاربردهای نسترن کوهی و محصولات جانبی آن (Negrean et al., 2024).

۲. مواد و روش‌ها

در مقاله حاضر از ۱۸ مقاله مروری و تحقیقی استفاده شده که به آن‌ها اشاره می‌شود.

۳. نتایج

۳-۱. ترکیبات زیست فعال نسترن کوهی و تاثیر آن بر سلامت انسان

این بخش به دنبال بررسی جزئیات پیچیده این ترکیبات و اثرات چندوجهی آنها بر سلامت و تندرستی است. تمرکز این بخش بر روی مجموعه متنوعی از ترکیبات زیست فعال موجود در نسترن کوهی مانند پلی فنولها، کاروتنوئیدها، ویتامینها، توکوفرولها، لیپیدهای ضروری و مواد معدنی خواهد بود. نسترن کوهی منبع طبیعی با ارزشی است که پتانسیل آن به عنوان یک گیاه دارویی کاربردی نیازمند اکتشافات علمی بیشتر برای افزایش سلامت و رفاه انسان است. فراتر از اینها، نسترن کوهی همچنین غنی از کاروتنوئیدها از جمله لیکوپن و بتاکاروتن است و منبع عالی ویتامین C است که با فلاونوئیدها هم افزایی می کند تا فعالیت آنتی اکسیدانی قوی نشان دهد. دانه های نسترن کوهی، در تولید مارمالاد، مربا، نوشیدنی، ژله، شربت، چای و غیره کاربرد دارد (Bhave et al., 2017).

روغن نسترن کوهی به دلایل عملکردی آن، توکوفرولها (α -توکوفرول و γ -توکوفرول)، استرولها (مانند کمپسترول، بتا-سیستوسترول) و اسیدهای چرب ضروری (مانند اسید لینولئیک و اسید α -لینولئیک) بسیار ارزشمند است. اسید اولئیک (C18:1)، اسید لینولئیک (C18:2) و اسید لینولئیک (C18:3) اسیدهای چرب غیراشباع غالب موجود در روغن های فشرده نسترن کوهی هستند. علیرغم داشتن طیف گسترده ای از ویتامینها (A، E، K و B1)، نسترن کوهی دارای محتوای بالایی از اسید اسکوربیک است. غلظتی از ویتامین C که در نسترن کوهی یافت شده، بسیار بیشتر از مقادیر موجود در سیب و موز است (Negrean et al., 2024).

۳-۲. فعالیت آنتی اکسیدانی

ارزش فعالیت آنتی اکسیدانی بالای عصاره های نسترن کوهی به دلیل برهمکنش قوی بین پلی ساکاریدها و اسیدهای آلی و مهم تر از همه با آنتی اکسیدان های فنلی (فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک) است. مشکلات سلامتی مانند برونشیت، روماتیسم و دیابت نوع ۲ نتیجه تولید بیش از حد رادیکال های آزاد هستند، اما گیاهان غنی از آنتی اکسیدانها رادیکال های آزاد را مهار و از بین می برند. طیف گسترده ای از عملکردها در بدن به دلیل ویتامینها اتفاق می افتد، از جمله فعالیت کوآنزیمها، فعالیت پیش سازها، اثر آنتی اکسیدانی، تنظیم جذب کلسیم و فسفر و تنظیم انعقاد. نسترن کوهی دارای بالاترین میزان ویتامین C در میان سایر میوه ها است که می تواند توضیحی برای فعالیت آنتی اکسیدانی آن باشد. تانن ها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک به عنوان گروه بسیار مهمی از ترکیبات فعال بیولوژیکی موجود در نسترن کوهی، که به دلیل خواص آنتی اکسیدانی خود شناخته شده اند، کشف شد (Negrean et al., 2024).

۳-۳. اثر ضد دیابتی

سطوح بالای گلوکز خون مشخصه گروهی از بیماری های متابولیک به نام دیابت شیرین است. دیابت وابسته به انسولین (نوع ۱) و دیابت غیر وابسته به انسولین (نوع ۲) هر دو شرایط مزمن هستند. نشان داده شده است که میوه نسترن کوهی حاوی



ترکیبات فرار، ترکیبات فنلی و سایر ترکیبات آنتی اکسیدانی است که ممکن است در درمان این اختلالات موثر باشد. تحقیقاتی از میوه‌های نسترن کوهی با تمرکز بر مهارکننده های α -گلوکوزیداز انجام شد، این آنزیم مسئول مرحله نهایی در هیدرولیز کربوهیدرات‌ها در سیستم گوارش است. عصاره میوه نسترن کوهی از نظر اثر بازدارندگی بر روی آنها مورد آزمایش قرار گرفت که عصاره استونی دارای بیشترین بازدارندگی بود. خاصیت ضد دیابت و ضد چربی عصاره اتانولی نسترن کوهی را در موش های دیابتی القا شده با استرپتوزوتوسین در مقایسه با گروه کنترل (تغذیه شده با آب مقطر) مورد مطالعه قرار دادند که نتایج نشان داد مصرف خوراکی عصاره میوه نسترن کوهی به طور قابل توجهی سطوح بالای گلوکز خون را بهبود می بخشد. علاوه بر این، سطح تری گلیسیرید سرم با تجویز عصاره نسترن کوهی در مقایسه با شاهد به طور قابل توجهی کاهش یافت. مطالعه دیگری اثرات نسترن کوهی را بر قند خون و پروفایل لیپیدی بر روی انسان های مبتلا به دیابت نوع ۲، در سنین ۳۵ تا ۶۰ سال بررسی کرد. دو گروه از بیماران تشکیل شد، یکی ۷۵۰ میلی گرم عصاره میوه نسترن کوهی و دیگری ۷۵۰ میلی گرم پودر نان تست به عنوان دارونما دو بار در روز دریافت کردند. به مدت سه ماه در مقایسه با سطح پایه، سطح گلوکز خون ناشتا در گروه نسترن کوهی به طور قابل توجهی پس از ۳ ماه کاهش یافت. علاوه بر این، در مقایسه با سطح پایه، سطح کلسترول تام (HDL-C) به طور قابل توجهی در گروه نسترن کوهی کمتر بود. سایر پارامترهای خون در طول مطالعه در مقایسه با دارونما و پایه به طور قابل توجهی تغییر نکردند. پیش دیابت نشان دهنده یک وضعیت پرخطر برای ابتلا به دیابت با کاهش تحمل گلوکز است. پژوهشگران تحقیقات خود را بر روی اثر ضد پیش دیابتی عصاره نسترن کوهی متمرکز کردند. مصرف طولانی مدت عصاره نسترن کوهی باعث بهبود تحمل گلوکز، کاهش ترشح انسولین و حفظ عملکرد سلول های بتای پانکراس در موش های صحرایی در مرحله پیش دیابتی شده و از بروز دیابت جلوگیری کرده یا آن را به تاخیر می اندازد. به عنوان نتیجه، اثرات مفید عصاره نسترن کوهی در مدیریت دیابت، بر وضعیت متابولیک کلی و کاهش خطر پیشرفت دیابت مرتبط است. این شامل اثرات مستقیم بر مهار آنزیم و اثرات غیرمستقیم بر سیگنال دهی سلولی است که عملکرد پانکراس و حساسیت به انسولین را بهبود می بخشد (Negrean et al., 2024).

۳-۴. اثرات ضد التهابی

گفته می شود که یک پاسخ التهابی کنترل نشده علت اصلی طیف گسترده ای از اختلالات، از جمله آلرژی ها، اختلالات قلبی عروقی، سندرم متابولیک، سرطان و بیماری های خودایمنی است که بار اقتصادی زیادی را بر افراد و در نتیجه بر جامعه تحمیل می کند. التهاب پاسخ محافظتی بدن به محرک های مضر، مانند آلرژن ها و یا آسیب به بافت ها است. بیماری های التهابی و مشکلاتی که با آنها همراه است از زمان های قدیم با استفاده از گیاهان یا محصولات مشتق شده از گیاهان درمان می شده است. فلاونوئیدها نمونه ای از ترکیبات پلی فنلی هستند که می توانند فاکتورهای رونویسی یا آنزیم های تنظیم کننده در گیر در فرآیند التهابی را مسدود کنند. وجود ترکیبات فنلی در نسترن کوهی دلیل اصلی اثر ضد التهابی نسترن کوهی است (Bagad A. S et al., 2013).

اثر ضد التهابی عصاره میوه انگور فرنگی سیاه، زالزالک و نسترن کوهی توسط پژوهشگران مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره های میوه آزمایش شده ممکن است دارای خواص ضد التهابی باشند، که با مهار فعالیت آنزیم-COX



1) (سیکلواکسیژناز-۱) و COX-2 (سیکلواکسیژناز-۲) مشهود است. با اکسید کردن اسید آراشیدونیک به اندوپروکسیدها در سطح ارگانسیم، این آنزیم‌ها بستری را برای پروستاگلاندین، پروستاگلندین‌ها و ترومبوکسان‌ها که واسطه‌های کلیدی فرآیند التهابی هستند، ارائه می‌کنند. بیشترین مهار این دو آنزیم توسط عصاره اتانولی انگور سیاه (به ترتیب ۷۷/۶ و ۷۰/۵ درصد) و به دنبال آن عصاره اتانولی نسترن کوهی (۶۴/۹ و ۷۲/۵ درصد) بود (Strugała, P et al., 2016).

علاوه بر این، فعالیت ضدالتهابی عصاره آبی نسترن کوهی در مدل‌های حیوانی مورد آزمایش قرار گرفت. التهاب پنجه موش‌ها با تزریق فرمالین ایجاد شد و اثربخشی درمان عصاره مورد ارزیابی قرار گرفت. مقادیر ۱۰۰، ۳۰۰ و ۷۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره مصرف شد. همچنین به گروه کنترل منفی و مثبت نرمال سالین و سالیسیلات سدیم داده شد. عصاره آبی نسترن کوهی باعث کاهش التهاب ناشی از فرمالین در مراحل حاد و مزمن التهاب در یک دوره ۷ روزه شد. بر اساس یافته‌های این مطالعه، عصاره آبی نسترن کوهی دارای خواص ضد التهابی است (Tabatabaee et al., 2017).

۳-۵. اثرات ضد باکتریایی

برای اطمینان از در دسترس بودن مواد غذایی مغذی و ایمن برای مصرف کنندگان، محققان در سراسر جهان به طور فعال در حال بررسی و ارزیابی ترکیبات ضد میکروبی هستند که می‌توانند به طور موثری از رشد باکتری‌های بیماری‌زا در غذا جلوگیری کنند. مطالعه‌ای با هدف ارزیابی خواص ضد میکروبی عصاره اتانولی میوه نسترن کوهی انجام شد. با توجه به نتایج، حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) عصاره میوه نسترن کوهی در برابر اشریشیاکلی (۳۲ گرم در میلی لیتر) و پس از آن پنومونیا با ۶۴ گرم در میلی لیتر بود که نتیجه‌گیری شد که عصاره اتانولی میوه دارای فعالیت ضد میکروبی علیه اشریشیاکلی است. علاوه بر این، عصاره نسترن کوهی بر روی میکروارگانسیم‌ها توسط مطالعه دیگری مورد آزمایش قرار گرفت. سه سویه قارچ رشته‌ای میکروسکوپی *Aspergillus niger*، *Fusarium culmorum* و *Alternaria alternata* و همچنین دو باکتری گرم منفی اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا بر علیه عصاره‌های اتانولی و متانولی چندین گل با استفاده از روش انتشار در آگار مورد آزمایش قرار گرفتند. عصاره اتانولی نسترن کوهی بهترین فعالیت ضد باکتریایی را در برابر سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی داشت (Rovná et al., 2015).

دمنوش‌های گیاهی رایج‌ترین جایگزین‌های طبیعی برای درمان بیماری‌های عفونی هستند و در حال حاضر به دلیل افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی اهمیت بسیاری دارند. نسترن کوهی یکی از ۳۱ جای گیاهی بود که برای خواص ضد میکروبی آنها در برابر سودوموناس آئروژینوزا، اسینتوباکتر بومانی، اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه، انتروکوکوس فکالیز، استافیلوکوکوس اورئوس حساس/مقاوم به متی‌سیلین و کاندیدا اورئوس تست شدند. از روش‌های انتشار دیسک و رقت میکروبراث برای تعیین خواص ضد باکتریایی چای‌ها استفاده شد. یافته‌ها نشان داد که چای سیاه، چای سبز و چای کیسه‌ای نسترن کوهی می‌توانند به عنوان کمک‌های ایمن و کارآمد برای درمان آمپی‌سیلین برای عفونت‌های باکتریایی استفاده شوند، اما نسترن کوهی و شکوفه‌های انار با سیپروفلوکساسین یا سفوروکسیم، دارای فعل و انفعالات متضاد هستند (Hacioglu, M et al., 2017).



۳-۶. اثرات ضد سرطانی و ضد تکثیر

دومین علت مرگ و میر در سراسر جهان سرطان است. توسعه سرطان ناشی از تغییرات متوالی ژنی است که نحوه عملکرد سلول‌ها را تغییر می‌دهد. در طول سال‌ها، دانشمندان توجه خود را به یافتن روش‌های ایمن و مؤثر برای درمان یا پیشگیری از سرطان معطوف کرده‌اند و گیاهان غنی از ترکیبات فعال زیستی را مطالعه می‌کنند که فعالیت ضد سرطانی یا ضد تکثیر دارند. آزمایشی به منظور ارزیابی و غربالگری تأثیر آپوپتوز و پتانسیل ضد سرطانی عصاره اتانولی نسترن کوهی بر رده‌های سلولی سرطان سینه انسان، MCF-7 و MDA-MB-468 انجام شد. نتایج مطالعه نشان داد که عصاره اتانولی نسترن کوهی بر روی رده‌های سلولی سرطانی MCF-7 و MDA-MB-468 بسته به دوز قرار گرفتن بدون تأثیر بر سلول‌های طبیعی، اثر سیتوتوکسیک دارد (Berkoz M et al., 2019).

۳-۷. اثرات محافظتی در برابر بیماری‌های کلیوی

اثرات مفید عصاره نسترن کوهی بر آسیب‌های بافتی، استرس اکسیداتیو و اختلالات عملکردی ناشی از ایسکمی کلیوی دو طرفه و خون‌رسانی مجدد بررسی و نمونه‌های خون و ادرار برای آنالیز بیوشیمیایی گرفته شد و بافت‌های کلیه برای آسیب‌های بافت‌شناسی مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. در مقایسه با گروه شاهد، گروه نسترن کوهی غلظت کراتینین و اوره خون پایینی را نشان داد، که باعث می‌شود عصاره نسترن کوهی محافظ بالقوه کلیه‌ها در برابر اختلالات عملکردی، استرس اکسیداتیو و آسیب‌های بافتی باشد (Negrean et al., 2024).

۳-۸. کاربردهای نسترن کوهی در صنایع غذایی و پزشکی

با رشد جمعیت جهانی و افزایش آگاهی از ارتباط بین تغذیه و سلامت کلی، تقاضا برای محصولات غذایی متنوع و ارتقاء دهنده سلامت افزایش یافته است. به این ترتیب، صنایع غذایی در تلاش است تا نیازهای مصرف‌کننده را برآورده کند و به دنبال منابع پایدار مواد با ارزش باشد. در این زمینه، نسترن کوهی به دلیل کارکردهای گسترده خود به عنوان یک نامزد بالقوه ظاهر می‌شود. تمرکز فزاینده بر روی شیوه‌های سازگار با محیط زیست در صنایع، علاقه به پتانسیل نسترن کوهی را در کاربردهای فراتر از طب سنتی برانگیخته است. علاوه بر خود میوه، محصولات جانبی نسترن کوهی پتانسیل قابل توجهی برای ارزش‌گذاری دارند. جایگزینی آرد در یک دستور پخت استاندارد شیرینی پزی با ۱۵ درصد پودر نسترن کوهی و ۲۵ درصد پودر هیپوسکوس نشان داد که محتوای فنلی کل، ظرفیت آنتی اکسیدانی را افزایش می‌دهد. در آزمایشی نشان داده شد که جایگزینی آرد گندم با پودر نسترن کوهی منجر به کاهش رطوبت، پروتئین و محتوای گلوتن مرطوب و افزایش خاکستر، فیبر و کربوهیدرات می‌شود. در مقایسه با نان شاهد، نان حاوی پودر نسترن کوهی افزایش معنی‌داری در ارتفاع، حجم، حجم مخصوص، رطوبت، اسیدیته و تخلخل و همچنین کاهش جزئی در کشسانی نشان داد. نتیجه‌گیری نشان داد که نسترن کوهی می‌تواند یک جایگزین بالقوه برای اسید آسکوربیک مصنوعی در صنعت نانوازی باشد (Vartolomei and Turtoi., 2021).



تحقیقاتی نیز در مورد تأثیر نستر کوهی بر محتوای بستی، فعالیت آنتی اکسیدانی و خواص فیزیکی، شیمیایی آن انجام شد. نستر کوهی در تولید بستی در درصدهای مختلف (۰، ۵ درصد، ۱۰ درصد و ۱۵ درصد) استفاده شد که نمونه ۱۵ درصد نستر کوهی بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را نشان داد (Ürkek B., 2021).

تخم مرغ یک غذای معمولی مشتق شده از حیوانات است که ارزان و دارای مواد زیست فعال با ارزش بیولوژیکی بالا مانند اسید چرب غیراشباع چندگانه (PUFA) است. با این حال، تخم مرغها تحت تغییرات فیزیوشیمیایی قرار می گیرند که ارزش آنها را در طول نگهداری کاهش می دهد. تأثیر وعده های غذایی نستر کوهی و کنجاله های دانه کتان بر ویژگی های کیفی تخم مرغ، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب، شاخص های مرتبط با سلامت، ظرفیت آنتی اکسیدانی، محتوای پلی فنل کل و ماندگاری تخم مرغ، مورد بررسی قرار گرفت. نشان داده شد که تخم مرغ های تغذیه شده با نستر کوهی و بذر کتان حاوی اسیدهای آمینه ضروری، اسیدهای آمینه آنتی اکسیدانی و اسیدهای آمینه سولفور هستند (Vlaicu P. A et al., 2022).

۴. بحث و نتیجه گیری

نستر کوهی و محصولات جانبی آن در سال های اخیر به دلیل فراوانی ترکیبات زیست فعال مانند پلی فنول ها، کاروتنوئیدها، ویتامین ها، توکوفرول ها، لیپیدهای ضروری و مواد معدنی مورد توجه قرار گرفته اند که با طیف گسترده ای از مزایای سلامتی از جمله فعالیت های ضد التهابی، آنتی اکسیدانی، ضد سرطانی همراه هستند. علیرغم مزایای سلامتی امیدوارکننده نستر کوهی، هنوز تحقیقات کافی در مورد ترکیبات زیست فعال و کاربردهای بالقوه آن در محصولات کاربردی وجود ندارد و نیاز به روش های استاندارد شده برای ارزیابی زیست فعالی این ترکیبات در مطالعات و کاربردهای مختلف وجود دارد. هزینه و پیچیدگی فنی موجود در تکنیک های استخراج و فرمولاسیون پیشرفته نیز ممکن است مقیاس پذیری و دوام تجاری محصولات مبتنی بر نستر کوهی را محدود کند. در نهایت، موانع نظارتی و نیاز به آزمایش های ایمنی و اثربخشی گسترده قبل از ورود به بازار، لایه دیگری از پیچیدگی را به توسعه درمان ها و غذاهای کاربردی مشتق شده از نستر کوهی اضافه می کند. تحقیقات بیشتری برای رسیدگی به این چالش ها و استفاده کامل از مزایای نستر کوهی در بهبود سلامت و رفاه انسان مورد نیاز است. برای بهره برداری کامل از پتانسیل عملکردی و تغذیه ای نستر کوهی، تحقیقات آینده باید بر شناسایی ترکیبات زیست فعال خاص و بهینه سازی روش های استخراج و خالص سازی آنها تمرکز کند. آزمایشات بالینی بیشتر برای اثبات اثربخشی و ایمنی نستر کوهی در غذاهای کاربردی و کاربردهای پزشکی ضروری است. علاوه بر این، توسعه فرمول ها و سیستم های تحویل جدید برای افزایش فراهمی زیستی و پایداری ترکیبات زیست فعال نستر کوهی بسیار مهم است. استفاده از فناوری های پیشرفته، مانند فناوری نانو و میکروکپسوله سازی، می تواند توسعه محصولات نوآورانه مبتنی بر نستر کوهی را تسهیل کند. با پرداختن به این توصیه ها، تحقیقات می تواند به سمت تولید محصولات موثر و ایمن نستر کوهی که سلامت و رفاه انسان را بهبود می بخشد، حرکت کند (Negrean et al., 2024).



منابع

- Alzamara, R., Demirci, T., and Akin, N. (2017). The radicals scavenging activity of yogurt fortified with *rose hip* marmalade during 21 Days of storage period. *Food Science and Quality Management*, 65, 22-32.
- Asghari, B., Salehi, P., Farimani, M. M., and Ebrahimi, S. N. (2015). α -Glucosidase Inhibitors from Fruits of *Rosa canina* L. *Records of natural products*, 9(3), 276.
- Ashtiyani, S. C., Najafi, H., Jalalvandi, S., and Hosseinei, F. (2013). Protective effects of *Rosa canina* L fruit extracts on renal disturbances induced by reperfusion injury in rats. *Iranian journal of kidney diseases*, 7(4), 290.
- Bagad, A. S., Joseph, J. A., Bhaskaran, N., and Agarwal, A. (2013). Comparative evaluation of anti-inflammatory activity of curcuminoids, turmerones, and aqueous extract of *Curcuma longa*. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2013(1), 805756.
- Berköz, M., Yilmaz, F., Hunt, A., Yildirim, M., Allahverdiyev, O., and Aslan, A. (2019). *Rosa canina* L. ethanolic extract induces the antiproliferative and apoptosis potential in MCF-7 and MDA-MB-468 cell lines. *Fresenius Environ Bull*, 28(5), 3718-3725.
- Bhave, A., Schulzova, V., Chmelarova, H., Mrnka, L., and Hajslova, J. (2017). Assessment of rosehips based on the content of their biologically active compounds. *Journal of food and drug analysis*, 25(3), 681-690.
- Butkevičiūtė, A., Urbšaitė, R., Liaudanskas, M., Obelevičius, K., and Janulis, V. (2022). Phenolic Content and Antioxidant Activity in Fruit of the Genus *Rosa* L. *Antioxidants*, 11(5), 912.
- Hacioglu, M., Dosler, S., Tan, A. S. B., and Otuk, G. (2017). Antimicrobial activities of widely consumed herbal teas, alone or in combination with antibiotics: an in vitro study. *PeerJ*, 5, e3467.
- Hassanpour, S. H., and Dehghani, M. (2017). Review of cancer from perspective of molecular. *Journal of cancer research and practice*, 4(4), 127-129.
- Igual, M., Chiş, M. S., Păucean, A., Vodnar, D. C., Muste, S., Man, S., Martínez-Monzó, J., and García-Segovia, P. (2021). Valorization of Rose Hip (*Rosa canina*) Puree Co-Product in Enriched Corn Extrudates. *Foods*, 10(11), 2787.
- Mármol, I., Sánchez-de-Diego, C., Jiménez-Moreno, N., Ancín-Azpilicueta, C., and Rodríguez-Yoldi, M. J. (2017). Therapeutic Applications of Rose Hips from Different *Rosa* Species. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6), 1137.
- Negrean, O.-R., Farcas, A. C., Nemes, S. A., Cic, D.-E., and Socaci, S. A. (2024). Recent advances and insights into the bioactive properties and applications of *Rosa canina* L. and its by-products. *Heliyon*.
- Rovná, K., Petrová, J., Terentjeva, M., and ĀĀernĀ, J. (2015). Antimicrobial activity of *Rosa canina* flowers against selected microorganisms. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 4(special issue 1 (Microbiology)), 62-64.
- Strugała, P., Gładkowski, W., Kucharska, A. Z., Sokół Łętowska, A., and Gabrielska, J. (2016). Antioxidant activity and anti-inflammatory effect of fruit extracts from blackcurrant, chokeberry, hawthorn, and rosehip, and their mixture with linseed oil on a model lipid membrane. *European journal of lipid science and technology*, 118(3), 461-474.
- Tabatabaee, S. M., Yusefi, M. J., and Motevalian, M. (2017). Anti-inflammatory and Anti-nociceptive activity of *Rosa Canina* aqueous extract in animal models. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 15(1), 1-6.
- Ürkek, B. (2021). Effects of the addition of rose hip on various nutritional and quality properties of ice cream. *Indian Journal of Traditional Knowledge (IJTK)*, 20(4), 1022-1030.
- Vartolomei, N., and Turtoi, M. (2021). The Influence of the Addition of Rosehip Powder to Wheat Flour on the Dough Farinographic Properties and Bread Physico-Chemical Characteristics. *Applied Sciences*, 11(24), 12035.
- Vlaicu, P. A., Untea, A. E., Turcu, R. P., Panaite, T. D., and Saracila, M. (2022). Rosehip (*Rosa canina* L.) Meal as a Natural Antioxidant on Lipid and Protein Quality and Shelf-Life of Polyunsaturated Fatty Acids Enriched Eggs. *Antioxidants*, 11(10), 1948.



اثر سیلیکون بر خصوصیات مورفو-فیتوشیمیایی به لیمو (*Lippia citriodora*) تحت تنش خشکی

جواد میر عرب رضی^۱، آیت اله رضایی^{۲*}

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

^{۲*} گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران (arezaei@shahed.ac.ir)

چکیده

به منظور بررسی برهمکنش فرم‌های مختلف سیلیکون و تنش خشکی بر بهبود خصوصیات مورفوفیتوشیمیایی گیاه به لیمو، این پژوهش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تیمار و ۳ تکرار تحت شرایط گلخانه انجام شد. تیمارهای مورد مطالعه شامل سطوح مختلف تنش خشکی (شاهد، ۶۰ (ملایم) و ۴۰ (شدید) درصد ظرفیت زراعی) و فرم‌های مختلف سیلیکون (شاهد، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در لیتر نانوسیلیکون و ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در لیتر سیلیکون) بود. اثر متقابل تنش خشکی و سیلیکون بر وزن تر اندام هوایی، شاخص پایداری غشا، شاخص تحمل به تنش خشکی، محتوای کلروفیل a، b و کل گیاه به لیمو معنی دار بود. گیاهان به لیمو در تیمارهای نانوسیلیکون و سیلیکون ۵۰ میلی گرم بر لیتر بیشترین محتوای آب نسبی برگ و تحمل به تنش را دارا بودند. بیشترین شاخص پایداری غشا مربوط به تیمار کاربرد نانوسیلیکون ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر لیتر در شرایط تنش ملایم بود. بیشترین درصد و عملکرد اسانس مربوط به کاربرد نانوسیلیکون با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر در شرایط تنش ملایم بود و کمترین میزان درصد و عملکرد آن نیز در تیمار شاهد سیلیکون در شرایط بدون تنش مشاهده شد. به طور کلی مشخص گردید که اعمال تنش ملایم خشکی به همراه کاربرد سیلیکون بویژه در فرم نانو (نانوسیلیکون ۵۰ میلی گرم در لیتر) سبب بهبود خصوصیات رشدی و دستیابی به بالاترین عملکرد اسانس گیاه دارویی به لیمو می شود.

واژگان کلیدی: تنش خشکی، خصوصیات رشدی، شاخص تحمل به تنش، عملکرد اسانس، نانو سیلیکون



۱. مقدمه

به‌لیمو (*Lippia citriodora*) گیاهی از خانواده شاهپسند بوده، ترکیبات ارزشمندی از جمله Limonene, Cineole, Spathulenol, b-guaiene, Neral, General و Cayophyllene oxide در اسانس آن وجود دارد، همچنین به‌لیمو به صورت خام و فرآوری شده موارد مصرف فراوانی در صنایع آرایشی-بهداشتی، غذایی و دارویی دارد (رضایی و جایمند، ۱۳۸۰؛ زارع و همکاران، ۱۳۹۳).

تنش‌های غیر زیستی از عوامل مهم کاهش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی هستند، به طوری که گاه‌ها تا ۷۰ درصد میزان تولید محصول در اثر این عوامل کاهش پیدا می‌کند (Francini and Sebastiani, 2019). از بین این تنش‌ها، خشکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده تولید و عملکرد محصولات کشاورزی در دنیاست. اثر تنش خشکی روی میزان اسانس و مواد موثره گیاهان دارویی ثابت شده و این اثر گذاری بسته به شرایط محیطی، نوع گونه گیاهی و شدت تنش متفاوت است (خوش اقبال قربابی و همکاران، ۱۳۹۹). در تحقیقی با بررسی اثر خشکی بر ترکیبات پلی فنلی و بیان ژن‌های مرتبط با بیوسنتز فلاونوئیدها در گیاه بومادران گزارش شد که بیشتر ژن‌ها و ترکیبات فنولی مربوط پس از سه هفته از اعمال تنش خشکی بیان شدند. بنابراین انتخاب بهینه‌ترین روش آبیاری با هدف دستیابی به بالاترین غلظت فلاونوئیدها مثل لوتئولین و ترکیبات فنلی از قبیل کلروژنیک اسید ساده است (Gharibi et al., 2019). بررسی اثر تنش خشکی بر خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه به‌لیمو حاکی از کاهش معنی‌دار وزن تر و محتوای نسبی آب با افزایش سطح تنش خشکی بود. همچنین در سطوح پایین تنش، میزان رنگرزه‌های گیاه افزایش معنی‌داری داشت (محمدي و همکاران، ۱۳۹۴).

سیلیکون (سیلیسیوم) با وجود ضروری نبودن برای رشد و نمو گیاه، به عنوان یک عنصر مفید نقش بسزایی در بیولوژی گیاه داشته، و دارای نقش ساختاری در فعل و انفعالات و پاسخ به تنش‌های زیستی (مقابله با آفات و بیماری‌ها) و غیرزیستی (خشکی، شوری و غیره) است (Zargar et al., 2019). تحقیقات پیشین پاسخ مثبت گیاهان مختلف به اثرات کاربرد خارجی سیلیکون را نشان می‌دهد. همچنین گزارش‌های متعددی مبنی بر اثر سیلیکون بر بهبود فتوسنتز، نرخ جذب و تحلیل خالص و بهبود کارایی مصرف آب گیاه تحت شرایط تنش خشکی وجود دارد (Habibi et al., 2022). دسکوی و همکاران (۲۰۲۱) اثر نانو سیلیکون بر لوبیا فاوا را تحت شرایط تنش خشکی و نرمال مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که کاربرد برگی نانو سیلیکون سبب بهبود شاخص تحمل به تنش و عملکرد در شرایط تنش خشکی شد (Desoky et al., 2021). در تحقیقی اثر سیلیکون بر تحمل به تنش خشکی در گیاه دارویی استویا مورد ارزیابی قرار گرفت و گزارش شد با اعمال تنش کم آبی خصوصیات رشدی کاهش معنی‌داری داشت. در مقابل کاربرد غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را در مقایسه با عدم استفاده از این ترکیب به طور معنی‌داری کاهش داد. به‌طوری‌که کاربرد ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت گلدانی سبب افزایش معنی‌دار ۸، ۲۲ و ۳۳ درصدی قند محلول، پرولین و کلروفیل b نسبت به عدم کاربرد سیلیکون شد (عسکرنژاد و همکاران، ۱۳۹۸).

باتوجه به موارد فوق، این پژوهش با هدف بررسی اثر برهمکنشی منابع مختلف سیلیکون با تنش خشکی بر خصوصیات مورفو-فیتوشیمیایی گیاه دارویی به‌لیمو تحت شرایط گلخانه انجام شد.



۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. مواد گیاهی و تیمارهای مورد مطالعه

به منظور بررسی برهمکنش سیلیکون با تنش خشکی بر خصوصیات مورفو-فیتوشیمیایی گیاه به‌لیمو تحت شرایط گلخانه، این پژوهش در گلخانه‌ی تجاری واقع در شهرستان کرج استان البرز در سال ۱۴۰۲ انجام شد. در این آزمایش، از گیاهان به‌لیمو که به صورت رویشی و از طریق قلمه تکثیر شده بودند، در گلدان‌های ۵ لیتری حاوی ترکیبی از ۵۰ درصد خاک مزرعه، ۲۵ درصد ماسه و ۱۵ درصد کود دامی پوسیده استفاده شد.

این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای مورد مطالعه شامل سطوح مختلف تنش خشکی شامل تنش ملایم (۶۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) به همراه شاهد (بدون تنش) و فرم‌های مختلف سیلیکون شامل شاهد، نانوسیلیکون در دو سطح (۲۵ و ۵۰ میلی گرم در لیتر) و سیلیکون در دو سطح (۲۵ و ۵۰ میلی گرم در لیتر) بود. در این آزمایش به منظور دستیابی به ظرفیت زراعی، یکی از گلدان‌ها تا حد اشباع آبیاری و با هدف خروج آب اضافی، روی گلدان به مدت ۲۴ ساعت توسط پلاستیک پوشانده شد. پس از آن وزن خاک گلدان‌ها اندازه‌گیری شد (TW). در نهایت، خاک گلدان‌ها در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت خشک شدند (DW). از فرمول زیر برای محاسبه‌ی میزان آب لازم برای رسیدن به ظرفیت زراعی استفاده شد:

$$FC = (TW - DW) / DW \times 100$$

آبیاری نهال‌ها تا قبل از اعمال تنش آبیاری بصورت ۲ روز در میان صورت گرفت. با شروع تنش، آبیاری در تیمار شاهد براساس ظرفیت زراعی انجام شد و تنش خشکی با استفاده از روش وزنی تا پایان آزمایش اعمال شد. تیمار سیلیکون و نانوسیلیکون یک مرحله سه روز قبل از شروع تنش به جهت فعال کردن مکانیسم‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی و سه مرحله پس از شروع تنش به فواصل ۱۵ روز بود.

۲-۲. صفات مورد مطالعه

صفات مورد مطالعه در این پژوهش که در پایان آزمایش اندازه‌گیری شد، شامل خصوصیات رشدی (وزن تر و خشک اندام هوایی، تعداد برگ و ارتفاع گیاه)، فیزیولوژیک (شاخص تحمل به تنش، محتوای آب نسبی برگ، شاخص پایداری غشاء و میزان کلروفیل برگ) و میزان و عملکرد اسانس بود. وزن تر و خشک اندام هوایی و ارتفاع گیاه به ترتیب با استفاده از ترازوی دیجیتال و متر پارچه‌ای اندازه‌گیری شد. جهت ارزیابی تحمل به تنش خشکی (STI)، شاخص تحمل با استفاده از میزان رشد گیاه به‌لیمو تحت شرایط بدون تنش (Y_p) و تنش (Y_s) براساس فرمول زیر ارزیابی شد (Rosielle and Hamlin, 1981).

$$STI = (Y_p \times Y_s) / (\bar{Y}_p^2)$$

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ از برگ‌های توسعه یافته ۳۰ دیسک برگ‌ی تهیه و وزن تر آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر غوطه‌ور شدند. نمونه‌ها بر روی دستمال کاغذی قرار داده شده و وزن اشباع آن‌ها اندازه‌گیری شد. در نهایت برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. محتوای نسبی آب برگ‌ها طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$RWC = ((TW - DW) / (FW - DW)) \times 100$$



شاخص پایداری غشاء (MSI) با اندازه گیری میزان نشت الکترولیت های برگ براساس پروتکل ارائه شده توسط سایرین و همکاران (Sairam et al., 2005) اندازه گیری شد. به منظور اندازه گیری میزان کلروفیل های a، b و کل و میزان کارتنوئید از میزان جذب نور عصاره برگ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر براساس پروتکل ارائه شده توسط (Lichtenthaler and Buschmann, 2001) استفاده شد.

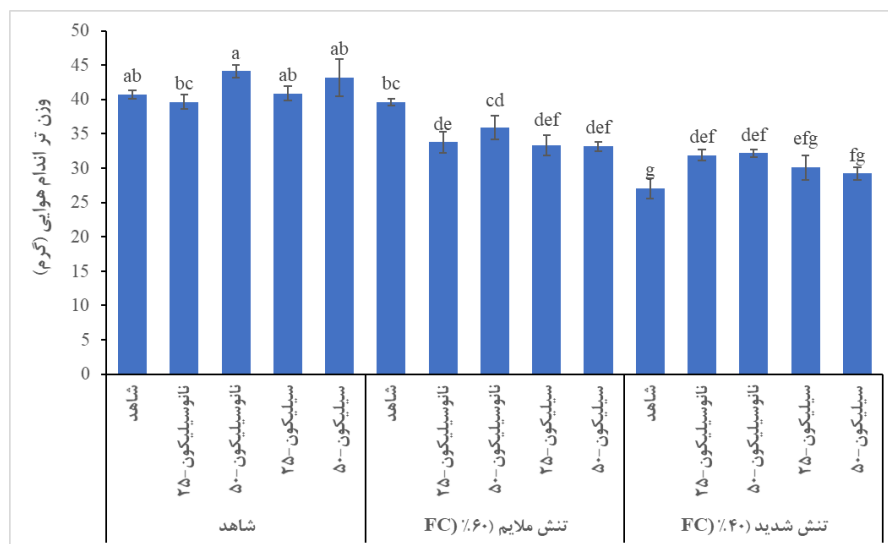
به منظور محاسبه میزان و عملکرد اسانس، استخراج اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر برای مدت ۳ ساعت انجام شد. آگیری اسانس با استفاده از سولفات سدیم خشک و نگهداری آن در دمای ۴ درجه سلسیوس صورت پذیرفت.

۲-۳. تجزیه و تحلیل داده ها

پس از ارزیابی صفات، ضمن انجام آزمون نرمال بودن داده ها، تجزیه واریانس داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از همین نرم افزار و آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گردید.

۳. نتایج

بررسی اثر متقابل تنش خشکی و سیلیکون بر وزن تر اندام هوایی نشان داد که بیشترین میزان این تیمار در تیمار بدون تنش بود و با افزایش شدت تنش به طور معنی داری وزن تر اندام هوایی کاهش یافت. بر همین اساس، بیشترین میزان وزن تر اندام هوایی مربوط به تیمار کاربرد سیلیکون ۵۰ میلی گرم در لیتر در شرایط بدون تنش بود که اختلاف معنی داری با تیمارهای سیلیکون ۲۵ میلی گرم در لیتر و نانو سیلیکون ۵۰ گرم در لیتر در تیمار شاهد نداشت (شکل ۱).



شکل ۱. اثر سیلیکون بر وزن تر اندام هوایی گیاه به لیمو تحت شرایط تنش خشکی.

بررسی اثر متقابل تنش خشکی و سیلیکون بر شاخص پایداری غشاء گیاه به لیمو نشان داد که بیشترین شاخص پایداری غشاء مربوط به تیمار کاربرد نانو سیلیکون ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر لیتر در شرایط تنش ملایم بود. براساس نتایج بدست آمده کاربرد سیلیکون سبب بهبود تحمل به تنش خشکی شد که در بین تیمارهای مختلف سیلیکون بیشترین شاخص تحمل به تنش خشکی



مربوط به کاربرد ۵۰ میلی گرم بر لیتر نانوسیلیکون بود. نتایج مشابهی از نظر محتوای کلروفیل برگ بدست آمد. بیشترین محتوای کلروفیل برگ در شرایط بدون تنش بود، اما در شرایط تنش محتوای کلروفیل برگ کاهش یافت که کاربرد سیلیکون بویژه به فرم نانوسیلیکون سبب بهبود کلروفیل برگ گیاه به لیمو تحت شرایط تنش خشکی شد (جدول ۱).

جدول ۱. اثر سیلیکون بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک گیاه به لیمو تحت شرایط تنش خشکی.

Drought	Silicon (mg/L)	MSI	STI	Leaf chlorophyll (mg/g FW)		
				a	b	total
Control	Control	50.54±0.27 ab	100±0.00 a	0.47±0.03 bc	0.26±0.01 bcde	0.73±0.03 cdef
	Nano Si-25	47.1±2.28 abcd	100±0.00 a	0.53±0.02 a	0.28±0.01 abc	0.81±0.02 ab
	Nano Si-50	42.78±0.43 cdef	100±0.00 a	0.53±0.01 a	0.29±0.01 abc	0.82±0.01 a
	Si-25	47.49±1.34 abcd	100±0.00 a	0.53±0.01 a	0.26±0.01 bcde	0.8±0.01 ab
	Si-50	49.34±0.49 ab	100±0.00 a	0.55±0.01 a	0.25±0.01 cde	0.8±0.01 ab
60% FC	Control	45.43±1.11 bcd	77.31±1.17 e	0.47±0.02 bc	0.22±0.03 ef	0.69±0.02 efg
	Nano Si-25	52.69±2.14 a	82.94±3.76 bc	0.44±0.01 bcd	0.29±0.01 abc	0.73±0.01 cde
	Nano Si-50	51.71±3.81 a	88.23±4.33 b	0.43±0.01 cd	0.31±0.01 a	0.75±0.01 cd
	Si-25	44.9±0.26 bcde	81.75±3.66 cd	0.45±0.01 bc	0.32±0.01 a	0.76±0.01 bc
	Si-50	48.49±0.54 abc	81.51±1.69 cd	0.4±0.01 d	0.27±0.01 abcd	0.68±0.01 fg
40 % FC	Control	38.4±0.52 fg	66.51±3.67 g	0.44±0.01 bcd	0.31±0.01 ab	0.75±0.02 cd
	Nano Si-25	40.39±1.18 efg	78.3±1.93 de	0.44±0.01 bcd	0.3±0.01 abc	0.74±0.01 cde
	Nano Si-50	42.25±1.65 defg	79.02±1.32 de	0.46±0.01 bc	0.26±0.03 bcde	0.72±0.02 cdef
	Si-25	36.82±3.71 g	73.95±4.39 f	0.48±0.00 b	0.19±0.00 f	0.67±0.01 g
	Si-50	45.14±1.2 bcde	71.73±2.23 f	0.48±0.01 b	0.23±0.03 def	0.71±0.03 defg

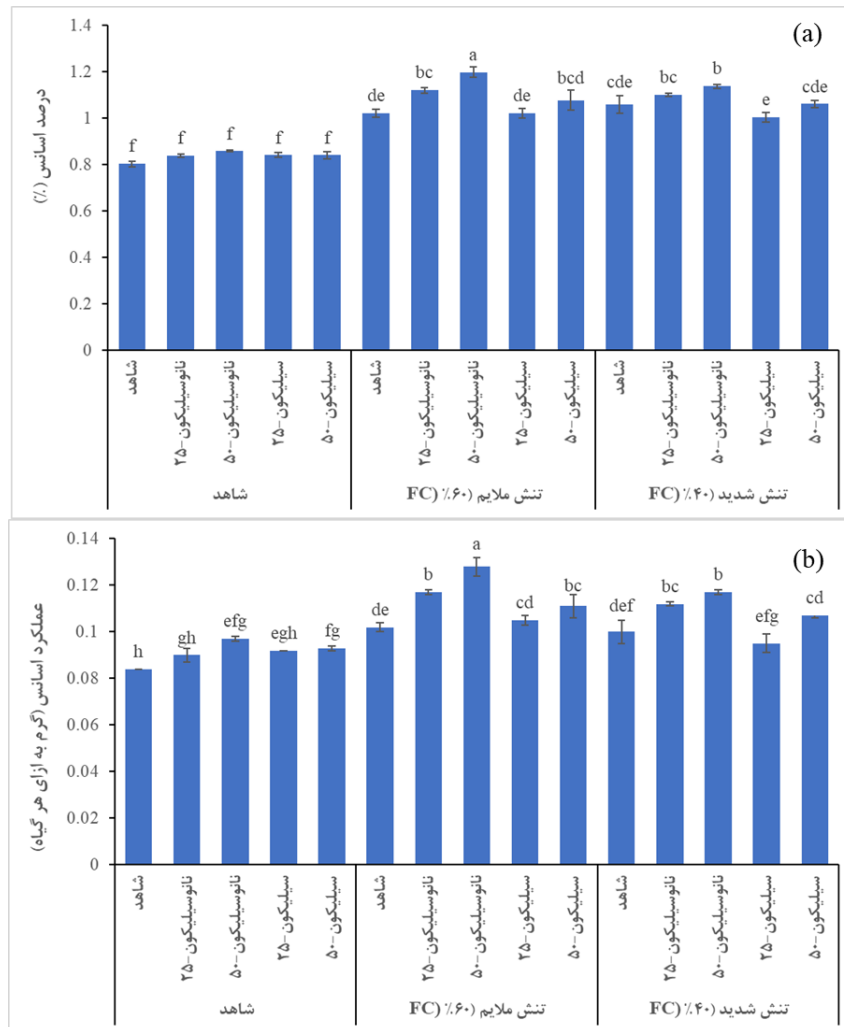
میانگینها در هر ستون با حداقل یک حرف مشابه در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده ها نشان داد که درصد و عملکرد اسانس در تیمار تنش خشکی بیشتر از شرایط بدون تنش بود. همچنین کاربرد تیمار سیلیکون بویژه نانوسیلیکون با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر سبب بهبود معنی دار درصد و عملکرد اسانس شد. بر همین اساس، بیشترین میزان اسانس مربوط به کاربرد نانوسیلیکون با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر در شرایط تنش ملایم بود و کمترین میزان درصد اسانس نیز در تیمارهای بدون تنش بود که اختلاف معنی داری بین سطوح مختلف تیمار سیلیکون در شاهد بدون تنش خشکی از نظر درصد اسانس مشاهده نشد (شکل ۲).

۴. بحث و نتیجه گیری

اثرات مفید سیلیسیم بر رشد و نمو، عملکرد و مقاومت به تنش ها در گستره ی وسیعی از گونه های گیاهی مشاهده شده است. سیلیسیم در بافت های اپیدرمی به صورت یک لایه نازک سیلیسیم - سلولز تجمع یافته و با پکتین و یون های کلسیم همراه می باشد. تشکیل لایه دو گانه کوتیکولی سیلیسیم دار گیاه را در برابر تنش های غیر زیستی و زیستی محافظت می کند. لایه سیلیسیم - سلولز در بافت های اپیدرمی از خروج بیش از حد آب از گیاه در اثر ترقق جلوگیری می کند. این عمل به سبب کاهش قطر روزنه ها و به دنبال آن کاهش ترقق برگ صورت می پذیرد (خوشگفتار منش، ۱۳۸۹). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نیز نشان داد که کاربرد سیلیسیم بویژه در فرم نانو سبب افزایش پایداری غشا و به دنبال آن تعدیل تنش خشکی در گیاه به لیمو شد. بعلاوه،

سیلیکون با بهبود کارایی مصرف آب، نرخ جذب و تحلیل خالص گیاه را در شرایط تنش خشکی حفظ کرده و با افزایش استحکام دیواره سلولی، سبب تعدیل اثرات منفی تنش خشکی میگردد (Habibi et al., 2022).



شکل ۲. اثر سیلیکون بر درصد (a) و عملکرد (b) اسانس گیاه به لیمو تحت شرایط تنش خشکی.

تنش های غیرزیستی به خصوص خشکی با توجه به کاهش بیش از پیش نزولات جوی، موضوع مهمی می باشد. خشکی یک مشکل جهانی است، که تولید و کیفیت محصولات باغی را به طور جدی محدود می کند و تغییرات اخیر آب و هوایی جهانی این وضعیت را جدی تر کرده است. تنش خشکی بر رشد، ماده خشک و عملکرد محصول در گیاهان تأثیر می گذارد. تحت تنش خشکی در گام اول کارایی مصرف آب گیاه افزایش می یابد و واکنش های سازشی در گیاه ایجاد می شود تا گیاه با شرایط جدید خود را تطبیق دهد و کارایی مصرف آب را در سطح بالا حفظ کند. مطالعات حاکی از آن است که فناوری نانو نقش بسزایی در بهینه سازی فرمولاسیون کودهای شیمیایی داشته و با رهاسازی تدریجی عناصر غذایی، ضمن افزایش راندمان مصرف کود، اثرات مضر کودهای شیمیایی مرسوم بر محیط زیست را کاهش می دهد. نتایج حاصل از پژوهش نیز حاکی از اثرات



مثبت فرم نانو کود نسبت به فرم معمولی سیلیکون بود. به طور کلی و با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش مشخص گردید که کاربرد سیلیکون بویژه در فرم نانو (نانوسیلیکون ۵۰ میلی گرم بر لیتر) نه تنها سبب بهبود خصوصیات رشدی گیاه به لیمو شد. بلکه سبب بهبود این خصوصیات در شرایط تنش خشکی گردید. به عبارت دیگر، اثرات منفی تنش خشکی را تعدیل کرد. همچنین نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که اعمال تنش ملایم به همراه کاربرد نانو سیلیکون با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر سبب بهبود عملکرد اسانس گیاه دارویی به لیمو می شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از دانشگاه شاهد برای حمایت از این تحقیق تشکر می کنند.

منابع

رضایی، م. و جابمند، ک. (۱۳۸۰). بررسی ترکیب های شیمیایی اسانس به لیمو *Lippia citriodora*. فصلنامه پژوهش و سازندگی، ۵۰: ۱۳-۱۴.

زارع، ع. ا.، ملکوتی، م. ج.، بهرامی، ح. ع.، سفیدکن، ف. و شاه حسینی، ر. (۱۳۹۳). ارزیابی عملکرد، کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی به لیمو (*Lippia citriodora* H.B.et K) تحت استفاده مصرف متعادل کود و پلیمر سوپرجاذب. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۰ (۶): ۹۹۹-۱۰۱۱.

محمدی، ع.، ابراهیم زاده، ح.، هادیان، ج. و میر معصومی، م. (۱۳۹۴). واکاوی اثر تنش خشکی بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه به لیمو *Lippia citriodora* H.B.K. پژوهش های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۸ (۳): ۶۱۷-۶۲۸.

Francini, A., and Sebastiani, L. (2019). Abiotic stress effects on performance of horticultural crops. *Horticulturae*, 5(4): 67.

Gharibi, S., Tabatabaei, B. E. S., Saeidi, G., Talebi, M., & Matkowski, A. (2019). The effect of drought stress on polyphenolic compounds and expression of flavonoid biosynthesis related genes in *Achillea pachecephala* Rech. f. *Phytochemistry*, 162: 90-98.

Habibi, M., Faghani, E., Rezaei, M., Mahmoudjanloo, M. and Razzaghi, M. (2022). Evaluation of Water Stress Memory in Compensation Response of Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) during Subsequent Water Deficiency. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 24(6):1413-1427.

Lichtenthaler, H.K. and Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1(1): F4-3.

Rosielle, A.A. And Hamlin, J. (1981). Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments. *Crop Science* 21:943-946.

Sairam, R.K., Srivastava G.C., Agarwal S. and Meena R.C. (2005). Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biologia Plantarum*, 49: 85-91.

Zargar, S.M., Mahajan, R., Bhat, J.A., Nazir, M. and Deshmukh, R. (2019). Role of silicon in plant stress tolerance: opportunities to achieve a sustainable cropping system. *3 Biotech*, 9(3): 73.



اثر منیزیم و اسید سالیسیلیک بر رشد و تولید برخی مواد موثره در گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)

الهه حسنی، آیت اله رضایی*، شاهپور خانقلی

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران (arezaei@shahed.ac.ir)

چکیده

اسید سالیسیلیک (SA) یکی از ایستورهای مهم است که در تنظیم پاسخهای فیزیولوژیکی گیاهان نقش دارد و باعث تحریک مکانیسمهای دفاعی گیاه و افزایش تولید متابولیتهای ثانویه میشود. از سوی دیگر، منیزیم (Mg) عنصر ضروری برای رشد گیاهان است که در فرآیندهای متابولیکی از جمله فتوسنتز نقش کلیدی دارد. در این مطالعه اثر اسید سالیسیلیک (۵/۰ و ۱ میلی مولار) به عنوان ایستور و سولفات منیزیم (۱۲۳، ۲۴۶ و ۴۹۲ میلی گرم در لیتر) به عنوان منبع عنصر غذایی به صورت مجزا و ترکیبی، به منظور افزایش رشد و تولید متابولیتهای ثانویه در گیاه بادرنجبویه بررسی شد. نتایج نشان داد که منیزیم و اسید سالیسیلیک به تنهایی باعث بهبود شاخصهای رشد و تولید ترکیبات زیست فعال و همچنین جذب دو عنصر معدنی منیزیم و کلسیم در گیاه شدند. با این حال، اثرات ترکیبی این دو تیمار (به ویژه در غلظت های بالاتر) به طور قابل توجهی قوی تر از اثرات جداگانه آنها بود. تیمار ترکیبی SA و Mg به ویژه در غلظت های بالاتر، تأثیر معناداری بر افزایش شاخصهای رشد مانند وزن خشک گیاه (۱۰/۲۶ گرم) و شاخص سطح برگ (۱۰/۱۴) داشت. اثر متقابل SA و Mg باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی تا ۵۵/۸۴ درصد، فنل کل و اسید رزمارینیک به ترتیب تا ۲۳/۵۸ و ۱۲/۳۸ میلی گرم در گرم وزن خشک و همچنین افزایش محتوای منیزیم تا ۱/۰۳ و کلسیم تا ۲/۱۱ درصد وزن خشک گیاه گردید. این یافته ها نشان می دهد که استفاده همزمان از Mg و SA می تواند راهکار مؤثری برای بهبود رشد، ترکیبات زیست فعال و جذب عناصر معدنی در گیاه بادرنجبویه باشد.

واژگان کلیدی: ایستور، رشد، گیاهان دارویی، متابولیت های ثانویه، تغذیه



۱. مقدمه

بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis*، یک گیاه چند منظوره با کاربردهای متنوع غذایی و دارویی است. این گیاه بیشتر در مناطق شمالی و غربی کشور یافت می شود. همچنین در مناطقی مانند یزد، مهریز و تفت نیز به عنوان سبزی خوردن استفاده می شود. بادرنبویه سرشار از ترکیبات زیست فعال است که به اثرات درمانی آن در طیف وسیعی از شرایط سلامتی کمک می کند. از جمله خواص دارویی کلیدی آن میتوان به اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی، خواص نوروپروتکتیو و آرام بخش و فعالیت های ضد میکروبی و ضد اسپاسم اشاره کرد (Castro-Muñoz et al., 2023; Zam et al., 2022).

منیزیم نقش مهمی در رشد و نمو گیاهان دارویی دارد و به طور قابل توجهی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی، سلامت و عملکرد آنها تأثیر می گذارد. منیزیم به عنوان یک عنصر ضروری برای تشکیل کلروفیل و فتوسنتز ضروری است، به عنوان یک کوفاکتور برای آنزیم های مختلف عمل می کند و به متابولیسم و ساختار سلولی کمک می کند (Ahmed et al., 2023).

منیزیم نقش مهمی در متابولیسم گیاهان دارویی دارد و بر رشد و تولید ترکیبات زیست فعال تأثیر می گذارد. بیوسنتز متابولیت های ثانویه، از جمله فلاونوئیدها و ترپنوئیدها، به طور قابل توجهی تحت تأثیر در دسترس بودن منیزیم است (Zhang et al., 2023). فلاونوئیدها که به دلیل خواص زیست فعال متنوع خود شناخته شده اند، از طریق مسیرهای متابولیکی مختلف سنتز می شوند و تولید آنها را می توان در شرایط منیزیم کافی افزایش داد. مطالعات نشان داده اند که تغذیه معدنی مناسب، از جمله منیزیم، برای بهینه سازی متابولیسم فلاونوئیدها در گیاهان دارویی ضروری است (Wang et al., 2018).

اسید سالیسیلیک یک ترکیب فنلی طبیعی است که به عنوان یک تنظیم کننده رشد گیاه، به ویژه در افزایش رشد و تولید متابولیت گیاهان دارویی، نقش اساسی دارد. SA که به دلیل توانایی آن در تعدیل فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف شناخته شده است، به طور قابل توجهی بر انعطاف پذیری گیاه در برابر عوامل استرس زای محیطی مانند شوری و خشکی تأثیر می گذارد (Li et al., 2022). ظرفیت آن برای افزایش رشد در حالی که سنتز متابولیت های ثانویه را افزایش می دهد، توجه قابل توجهی را در تحقیقات کشاورزی به خود جلب کرده است، و SA را به عنوان یک مؤلفه کلیدی در بهبود عملکرد و کیفیت محصول، به ویژه در گونه های دارویی مهم اقتصادی قرار داده است. علاوه بر این، نشان داده شده است که SA بر روی بیوسنتز متابولیت های مهم، از جمله فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی و آلکالوئیدها تأثیر می گذارد که برای دفاع از گیاهان حیاتی هستند و مزایای سلامتی قابل توجهی برای مصرف کنندگان دارند (Phong Lam et al., 2024; Spoel and Dong, 2024).

مطالعات نشان می دهد که SA می تواند به طور قابل توجهی جذب عناصر غذایی ضروری مانند کلسیم (Ca)، منیزیم (Mg) و روی (Zn) را بهبود بخشد، در حالی که به طور همزمان اثرات مضر یون های سمی مانند سدیم و منگنز را کاهش می دهد (Maruri-López et al., 2019). علاوه بر این، مشخص شده است که SA مسیرهای سیگنالینگ مختلفی را فعال میکند که عملکرد ریشه و فعالیت های ناقل عناصر غذایی را بهبود می بخشد و به افزایش جذب مواد معدنی کمک می کند (Khan et al., 2015). درک شرایط بهینه و مکانیسم های خاصی که توسط آن SA در گونه های مختلف گیاهی و زمینه های محیطی عمل می کند برای توسعه شیوه های کشاورزی موثر که از پتانسیل SA برای بهبود مقاومت محصول و کارایی استفاده از عناصر غذایی تحت شرایط نامطلوب استفاده میکند، ضروری است (Ali et al., 2023; Ghazijahani et al., 2014). با توجه به فشارهای جهانی فزاینده بر امنیت غذایی و پایداری کشاورزی به دلیل تغییرات آب و هوایی، اسید سالیسیلیک به عنوان ابزاری برای افزایش جذب عناصر غذایی معدنی پیامدهای قابل توجهی برای شیوه های کشاورزی ارائه میدهد. کاربرد اسید سالیسیلیک می تواند منجر به سلامت محصول و عملکرد بهتر در محیط های مختلف شود که در نهایت به سیستم های کشاورزی پایدارتر کمک می کند (Souri and Tohidloo, 2019). هدف از این تحقیق بررسی تأثیر منیزیم و اسید سالیسیلیک بر رشد و تولید



ترکیبات زیست فعال در گیاه بادرنجبویه و بررسی تعامل بین آنها به منظور درک بهتر اثر هم افزایی یا آنتاگونیستی بر شاخصهای مختلف آن میباشد.

۲. مواد و روشها

۲-۱. مواد گیاهی و شرایط رشد

مواد گیاهی: بذرهایی بادرنجبویه از شرکت پاکان بذر (اصفهان) تهیه شد. بذرها در خاک استریل شده کاشته شدند و در یک اتاقک رشد تحت شرایط کنترل شده با شرایط دما: 25 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی: $50 \pm 5\%$ ، دوره نوری: ۸/۱۶ ساعت (روشن/تاریک) و شدت نور: $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ جوانه زدند. پس از حدود چهار هفته، گیاهچه ها به گلدانهای جداگانه حاوی مخلوط کوکوپیت و پرلیت (۲:۱، v/v) منتقل شدند.

تیمارها شامل کنترل (آب مقطر)، سولفات منیزیم (MgSO_4) در غلظت های ۱۲۳، ۲۴۶ و ۴۹۲ میلی گرم در لیتر، اسید سالیسیلیک (SA) در غلظت های ۰/۵ و ۱ میلی مولار و تیمار ترکیبی: تلفیقی از SA و Mg در غلظت های فوق بود. هر تیمار سه بار تکرار شد که هر تکرار شامل ۵ بوته بود.

پس گذشت ۱۵ روز از انتقال گیاهچه ها به گلدان، بعد از ۶ برگی شدن گیاهچه ها، اعمال تیمار بر روی گیاهچه ها آغاز شد. تیمارها هر ۵ روز یکبار به میزان ۲۰۰ میلی لیتر به هر گلدان از طریق ریشه اعمال شد. بعد از گذشت یک ماه از تاریخ اعمال تیمارها که تغییرات ظاهری در گیاهان مشاهده شد برداشت شدند. گیاهان به منظور سنجش شاخصهای رشد، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی جمع آوری شده و برای انجام آزمایشات بیشتر در ازت مایع قرار داده شدند.

۲-۲. صفات مورد مطالعه

رشد گیاه با تعیین وزن خشک اندام هوایی و شاخص سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه گیری سطح برگی اندازه گیری شد. محتوای فنل کل با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu اندازه گیری شد (Brighente et al., 2007). محتوای فلاونوئید کل با استفاده از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم تعیین شد (Brighente et al., 2007). فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از روش مهار رادیکال DPPH (۱،۱-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل) ارزیابی شد (Liu et al., 2008). مقدار اسید رزمارینیک به کمک استاندارد اسید رزمارینیک مشخص گردید (Ozturk et al., 2010). مقدار کلسیم و منیزیم در گیاه به روش اسپکتروفتومتری جذب اتمی اندازه گیری شد (Zhong et al., 2016).

۲-۳. تجزیه و تحلیل داده ها

داده ها با استفاده از آنالیز واریانس و سپس آزمون چند دامنه ای دانکن برای مقایسه میانگین ها تجزیه و تحلیل شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد.

۳. نتایج

در این پژوهش، اثرات SA و Mg بر رشد و تولید ترکیبات زیست فعال در گیاه دارویی بادرنجبویه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که هر دو تیمار منیزیم و اسید سالیسیلیک به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر، تأثیرات معنی داری بر شاخص های رشد، جذب عناصر معدنی و تولید ترکیبات زیست فعال داشتند (جدول ۱).



جدول ۱. تجزیه واریانس اثر سالیسیلیک اسید و منیزیم بر رشد و خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه بادرنجبویه.

میانگین مربعات								df	تغییرات
منابع	شاخص	وزن خشک گیاه	فلاونوئید	فنل کل	اسید رزمارینیک	پتانسیل آنتی اکسیدانی	کلسیم		
تکرار	۰/۵۶۱ ^{ns}	۰/۱۱۸ ^{ns}	۰/۱۳۷ ^{ns}	۲/۷۳۵ ^{ns}	۱/۰۲ ^{ns}	۳/۰۵۸ ^{ns}	۰/۷۴ ^{ns}	۲	
SA	۴/۲۹*	۰/۴۱۸**	۱۴/۹۶**	۱۹/۵۰۹**	۳۷۳/۲۳**	۱۳۵/۵۳**	۷۲/۰۱**	۲	
Mg	۳/۳۸*	۰/۳۸۸*	۲/۰۳۷**	۲۳/۷۵۹**	۱۹/۴۹**	۸۵/۲۲*	۲/۱۳۴ ^{ns}	۲	
SA*Mg	۶/۹۹**	۰/۶۸۹**	۲/۲۱۰**	۱۶/۵۸۲**	۲۶/۸۲**	۹۷/۳۷**	۳۲/۱۳*	۴	
خطا	۱/۴۴	۰/۰۵۰	۰/۲۱۵	۱۸/۷۱۱	۰/۵۲	۸/۱۴	۱/۵۳	۱۶	
CV	۱۸/۵۸	۲۰/۵۱	۶/۷۵۰	۳/۴۳۲	۶/۳	۵/۶۴	۱۱/۲۴		

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد.

اثرات ساده و متقابل منیزیم و اسید سالیسیلیک به ویژه در غلظت‌های بالاتر، باعث افزایش معنادار وزن خشک گیاه شد. بیشترین وزن خشک (۱۰/۲۶ گرم) در تیمار ترکیبی با غلظت ۴۹۲ میلی گرم در لیتر منیزیم و ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد. شاخص سطح برگ نیز تحت تأثیر تیمارهای منیزیم و اسید سالیسیلیک قرار گرفت و بیشترین مقدار (۱۰/۱۴) در تیمار ترکیبی با غلظت‌های بالای منیزیم و اسید سالیسیلیک ثبت شد. محتوای فلاونوئید و فنل کل تحت تأثیر تیمارهای منیزیم و اسید سالیسیلیک قرار گرفت و بیشترین مقدار آنها به ترتیب ۱۲/۶۴ و ۲۳/۵۸ میلی گرم در گرم وزن خشک در تیمار ترکیبی با غلظت‌های بالای منیزیم و اسید سالیسیلیک مشاهده شد.

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر سالیسیلیک اسید و منیزیم بر صفات مورد بررسی در گیاه بادرنجبویه.

تیمار	شاخص سطح برگ	وزن خشک (گیاه/g)	فلاونوئید (mg/g FW)	فنل کل (mg/g FW)	اسید رزمارینیک (mg/g FW)	پتانسیل آنتی اکسیدانی (%)	Ca (%) DW	Mg (%) DW
SA (mM)								
۰	۵/۳۳b	۶/۱۲b	۷/۸۶c	۱۷/۴۱c	۵/۰۱c	۳۷/۶۸d	۱/۱۵b	۰/۲۴c
۰/۵	۷/۰۶ab	۸/۵۱a	۱۰/۸۱b	۲۱/۲۶b	۱۱/۴۴b	۵۱/۸۶b	۳/۱۱ab	۰/۳۶b
۱	۷/۲۷ab	۸/۴۲a	۱۲/۷۵a	۲۶/۰۸a	۱۷/۸۹a	۶۲/۱۱۹a	۳/۸۱a	۰/۵۸a
MgSO ₄ (mg/L)								
۱۲۳	۴/۲۵c	۵/۱۲b	۶/۸۳d	۱۵/۴۳d	۴/۲۴d	۳۵/۷۳d	۱/۸۲b	۰/۱۶d
۲۴۶	۷/۵۷ab	۶/۵۱b	۸/۶۱c	۱۸/۴۷c	۶/۶۱c	۴۱/۹۵c	۱/۳۷b	۰/۴۱b
۴۹۲	۸/۱۴a	۸/۱۵a	۱۰/۵۲b	۲۰/۱۵b	۱۰/۶۸b	۴۸/۳۸b	۱/۲۱b	۰/۶۳a

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن در سطح ۵٪ می‌باشد.

مقدار اسید رزمارینیک نیز به طور قابل توجهی افزایش یافت و بیشترین مقدار (۱۲/۳۸ میلی گرم در گرم وزن خشک) در تیمار ترکیبی با غلظت‌های بالای منیزیم و اسید سالیسیلیک ثبت شد. تیمار ترکیبی منیزیم و اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعالیت



آنتی اکسیدانی تا ۵۵/۸۴ درصد شد. این افزایش نشان دهنده تأثیر هم افزایی این دو تیمار در بهبود مقاومت گیاه در برابر استرس اکسیداتیو است. تیمار ترکیبی منیزیم و اسید سالیسیلیک باعث افزایش محتوای منیزیم در گیاه تا ۱/۰۳ درصد وزن خشک شد. محتوای کلیم نیز تحت تأثیر تیمارهای منیزیم و اسید سالیسیلیک قرار گرفت و بیشترین مقدار (۲/۱۱ درصد وزن خشک) در تیمار ترکیبی با غلظت های بالای منیزیم و اسید سالیسیلیک مشاهده شد. نتایج نشان داد که اثرات ترکیبی منیزیم و اسید سالیسیلیک به طور قابل توجهی قوی تر از اثرات جداگانه این دو تیمار بود (جداول ۲ و ۳).

جدول ۳. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سالیسیلیک اسید و منیزیم بر صفات مورد بررسی در گیاه بادرنجبویه.

شاخص	وزن خشک (گیاه/g)	فلاونوئید (mg/g FW)	فنل کل (mg/g FW)	رزمارینیک (mg/g FW)	اسید	پتانسیل آنتی اکسیدانی (%)	Ca (%) DW	Mg (%) DW		
									MgSO ₄ (mg/L)	SA (mM)
۴/۱۷c	۵/۳۵b	۷/۴۲d	۱۵/۷۲e	۴/۵۹d	۳۷/۲۶d	۱/۴۷b	۰/۱۷e	۱۲۳		
۷/۱۲ab	۶/۸۷b	۷/۹۷d	۱۷/۶۹d	۶/۱۲c	۴۰/۸۵c	۱/۲۶b	۰/۴۲c	۲۴۶		۰
۸/۳۹a	۷/۹۵ab	۱۰/۸۴b	۱۹/۶۴b	۱۰/۵۱ab	۴۶/۸۲b	۱/۱۴b	۰/۶۷b	۴۹۲		
۵/۳۶c	۶/۴۵b	۷/۲۳d	۱۶/۴۸d	۵/۴۷d	۳۹/۵۹d	۱/۷۸b	۰/۲۶d	۱۲۳		
۸/۲۷ab	۸/۴۲b	۸/۸۳c	۲۰/۸۹c	۷/۹۳b	۴۳/۵۷c	۱/۸۹b	۰/۷۳b	۲۴۶		۰/۵
۹/۵۱a	۹/۵۸a	۱۱/۸۳a	۲۲/۱۹b	۱۱/۸۱a	۵۱/۶۰a	۱/۹۵b	۰/۹۵a	۴۹۲		
۵/۸۴c	۶/۷۴b	۸/۵۱c	۱۷/۷۳d	۶/۳۶c	۴۱/۴۸cd	۲/۵۲a	۰/۳۱d	۱۲۳		
۹/۷۳a	۸/۷۱b	۱۰/۹۴b	۲۲/۸۴a	۸/۸۹b	۴۵/۶۲b	۲/۲۶a	۰/۹۸a	۲۴۶		۱
۱۰/۲۶a	۹/۷۹a	۱۲/۶۴a	۲۳/۵۸a	۱۲/۳۸a	۵۵/۸۴a	۲/۱۱a	۱/۰۳a	۴۹۲		

میانگین هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی دار با آزمون دانکن در سطح ۵٪ می باشد.

۴. بحث و نتیجه گیری

اسید سالیسیلیک به عنوان یک هورمون گیاهی موثر، نقش کلیدی در بهبود فرآیندهای فیزیولوژیکی و شیمیایی گیاه ایفا می کند. این ترکیب همچنین به عنوان الیستور با تحریک مسیرهای متابولیکی و آنزیم های کلیدی مرتبط با سنتز ترکیبات آنتی اکسیدانی و تنظیم جذب عناصر معدنی، به طور همزمان عملکرد فیزیولوژیکی گیاه را بهبود می بخشد (Spoel and Dong, 2024). تیمارهای منیزیم و اسید سالیسیلیک به طور جداگانه و در ترکیب با یکدیگر باعث بهبود شاخص های رشد مانند وزن خشک گیاه و شاخص سطح برگ، جذب عناصر غذایی، تولید ترکیبات زیست فعال و ظرفیت آنتی اکسیدانی شدند. در این مطالعه، ترکیب Mg و SA اثر هم افزایی معنی داری بر رشد و تولید ترکیبات زیست فعال در بادرنجبویه نشان دادند. تیمار ترکیبی (Mg ۴۹۲ mg/L + SA ۱ mM) بیشترین وزن خشک گیاه و شاخص سطح برگ را نسبت به تیمارهای منفرد داشت که نشان دهنده تقویت رشد گیاه از طریق اثر هم افزایی است. این تیمار ترکیبی باعث شد که فلاونوئید، فنل کل و اسید رزمارینیک به بالاترین مقدار خود برسند. این نتایج نشان می دهد که حضور SA اثر Mg را در رشد و تحریک تولید متابولیت های ثانویه و مسیرهای تولید این ترکیبات را تقویت کرده است. همچنین تیمار ترکیبی فوق الذکر فعالیت آنتی اکسیدانی را افزایش داد که بیشتر از اثرات جداگانه Mg و SA بود. Mg به تنهایی باعث افزایش محتوای منیزیم و کلیم در گیاه شد، اما تیمار ترکیبی مذکور مقدار Mg را بیشتر افزایش داد. این افزایش می تواند به دلیل بهبود عملکرد ریشه و افزایش کارایی جذب مواد معدنی تحت تأثیر SA باشد که انتقال و توزیع Mg و Ca را تسهیل می کند. همانند یافته های این تحقیق کاربرد SA باعث بهبود رشد



و عملکرد گیاه در گیاهان دارویی می شود. به عنوان مثال، در *Hemerocallis citrina* تیمار ۲ میلی گرم در لیتر SA به طور قابل توجهی رشد و عملکرد گیاه را افزایش داد (Miao et al., 2024). همچنین برانگیختن سلولهای مریم گلی توسط SA باعث افزایش تجمع ترکیبات فنلی از طریق تحریک فعالیت PAL شد (Yan et al., 2006). منیزیم نیز نقش مهمی در رشد و نمو گیاهان دارویی و همچنین در تولید ترکیبات زیست فعال آنها دارد. تغذیه کافی منیزیم باعث افزایش ۶۱ درصدی زیست توده کل گیاه در مقایسه با گیاهان با کمبود منیزیم گردید و با کوددهی مناسب منیزیم، زیست توده ریشه افزایش بیشتری (۷۷٪) نسبت به زیست توده اندام هوایی (۵۹٪) نشان داد. (Hauer-Jákli and Tränkner, 2019). کاربرد منیزیم عملکرد محصول را تقریباً ۸/۵٪ بهبود بخشید (Ishfaq et al., 2022). همچنین منیزیم بر سنتز و تجمع اجزای فعال در *Sophora tonkinensis* از جمله ماترین، اکسی ماترین، maackiain و trifolirhizin تأثیر معنی داری داشت (Qiao et al., 2024).

تایج این مطالعه نشان داد که SA و Mg، هر دو به صورت مستقل و در ترکیب با یکدیگر، تأثیرات مثبتی بر رشد، تولید متابولیت‌های ثانویه و جذب عناصر معدنی در گیاه دارویی بادرنجویه دارند. با این حال، تیمار ترکیبی SA و Mg اثرات هم افزایی قوی تری نسبت به تیمارهای منفرد نشان داد که نشان دهنده تعامل مثبت این دو ترکیب در بهبود فیزیولوژی و بیوشیمی گیاه است. این یافته‌ها نشان می‌دهد که استفاده همزمان از منیزیم و اسید سالیسیلیک می‌تواند راهکار مؤثری برای بهبود رشد، ترکیبات زیست فعال و جذب عناصر معدنی در گیاه بادرنجویه باشد. این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از منیزیم و اسید سالیسیلیک، به ویژه در ترکیب با یکدیگر، می‌تواند به عنوان یک راهکار مؤثر در بهبود کیفیت و کمیت محصول بادرنجویه مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از دانشگاه شاهد برای حمایت از این تحقیق تشکر می کنند.

منابع

- Ahmed, N., Zhang, B., Bozdar, B., Chachar, S., Rai, M., Li, J., Li, Y., Hayat, F., Chachar, Z., and Tu, P. (2023). The power of magnesium: unlocking the potential for increased yield, quality, and stress tolerance of horticultural crops. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1285512>
- Ali, E., Hussain, S., Jalal, F., Khan, M. A., Imtiaz, M., Said, F., Ismail, M., Khan, S., Ali, H. M., Hatamleh, A. A., Al-Dosary, M. A., Mosa, W. F. A., and Shah, F. (2023). Salicylic acid-mitigates abiotic stress tolerance via altering defense mechanisms in *Brassica napus* (L.). *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1187260>
- Brighente, I. M. C., Dias, M., Verdi, L. G., and Pizzolatti, M. G. (2007). Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Some Brazilian Species. *Pharmaceutical Biology*, 45(2): 156–161. <https://doi.org/10.1080/13880200601113131>
- Castro-Muñoz, R., Boczkaj, G., and Cabezas, R. (2023). A Perspective on Missing Aspects in Ongoing Purification Research towards *Melissa officinalis*. *Foods*, 12(9): 1916. <https://doi.org/10.3390/foods12091916>
- Ghazijahani, N., Hadavi, E., and Jeong, B. R. (2014). Foliar sprays of citric acid and salicylic acid alter the pattern of root acquisition of some minerals in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Frontiers in Plant Science*, 5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00573>
- Hauer-Jákli, M., and Tränkner, M. (2019). Critical Leaf Magnesium Thresholds and the Impact of Magnesium on Plant Growth and Photo-Oxidative Defense: A Systematic Review and Meta-Analysis From 70 Years of Research. *Frontiers in Plant Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00766>
- Ishfaq, M., Wang, Y., Yan, M., Wang, Z., Wu, L., Li, C., and Li, X. (2022). Physiological Essence of Magnesium in Plants and Its Widespread Deficiency in the Farming System of China. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.802274>



- Khan, M. I. R., Fatma, M., Per, T. S., Anjum, N. A., and Khan, N. A. (2015). Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462>
- Li, A., Sun, X., and Liu, L. (2022). Action of Salicylic Acid on Plant Growth. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.878076>
- Liu, X., Zhao, M., Wang, J., Yang, B., and Jiang, Y. (2008). Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) from six regions in China. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(3), 219–228. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2007.10.001>
- Maruri-López, I., Aviles-Baltazar, N. Y., Buchala, A., and Serrano, M. (2019). Intra and Extracellular Journey of the Phytohormone Salicylic Acid. *Frontiers in Plant Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00423>
- Miao, Y., Li, H., Pan, J., Zhou, B., He, T., Wu, Y., Zhou, D., He, W., and Chen, L. (2024). Salicylic acid modulates secondary metabolism and enhanced colchicine accumulation in long yellow daylily (*Hemerocallis citrina*). *AoB PLANTS*, 16(4). <https://doi.org/10.1093/aobpla/plae029>
- Phong Lam, V., Loi, D. N., Shin, J., Mi, L. K., and Park, J. (2024). Optimization of salicylic acid concentrations for increasing antioxidant enzymes and bioactive compounds of *Agastache rugosa* in a plant factory. *PLOS ONE*, 19(7), e0306340. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0306340>
- Qiao, Z., Zhou, P.-C., Fan, Z.-T., Wei, F., Qin, S.-S., Wang, J., Liang, Y., Chen, L.-Y., and Wei, K.-H. (2024). Multi-omics analysis uncovers the transcriptional regulatory mechanism of magnesium ions in the synthesis of active ingredients in *Sophora tonkinensis*. *Scientific Reports*, 14(1): 25527. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-76575-8>
- Souri, M. K., and Tohidloo, G. (2019). Effectiveness of different methods of salicylic acid application on growth characteristics of tomato seedlings under salinity. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 6(1): 26. <https://doi.org/10.1186/s40538-019-0169-9>
- Spoel, S. H., and Dong, X. (2024). Salicylic acid in plant immunity and beyond. *The Plant Cell*, 36(5): 1451–1464. <https://doi.org/10.1093/plcell/koad329>
- Wang, T., Li, Q., and Bi, K. (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(1): 12–23. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.08.004>
- Yan, Q., Shi, M., Ng, J., and Wu, J. Y. (2006). Elicitor-induced rosmarinic acid accumulation and secondary metabolism enzyme activities in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. *Plant Science*, 170(4): 853–858. <https://doi.org/10.1016/J.PLANTSCI.2005.12.004>
- Zam, W., Quispe, C., Sharifi-Rad, J., López, M. D., Schoebitz, M., Martorell, M., Sharopov, F., Fokou, P. V. T., Mishra, A. P., Chandran, D., Kumar, M., Chen, J.-T., and Pezzani, R. (2022). An Updated Review on The Properties of *Melissa officinalis* L.: Not Exclusively Anti-anxiety. *Frontiers in Bioscience-Scholar*, 14(2). <https://doi.org/10.31083/j.fbs1402016>
- Zhang, Y., Zhang, Q., Wang, Y., Lin, S., Chen, M., Cheng, P., Du, M., Jia, X., Ye, J., and Wang, H. (2023). Study on the effect of magnesium on leaf metabolites, growth and quality of tea tree. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1192151>
- Zhong, W.-S., Ren, T., and Zhao, L.-J. (2016). Determination of Pb (Lead), Cd (Cadmium), Cr (Chromium), Cu (Copper), and Ni (Nickel) in Chinese tea with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(1): 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.04.010>



اثر نانوذرات نقره بر محتوای رزمارینیک اسید و تغییرات فعالیت و بیان ژن آنزیم‌های

کلیدی مسیر بیوسنتز آن در *Salvia officinalis* L.سید حامد معظمی فرید^{۱*}، رویا کریمیان^{۲*}^۱ گروه زیست شناسی گیاهی و جانوری، دانشکده علوم و فناوریهای زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان (moazzami.hamed@gmail.com)^۲ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان (karamian.roya@gmail.com)

چکیده

نانوذرات نقره (AgNPs) به دلیل خواص منحصر به فرد خود در صنایع مختلف، از جمله پزشکی و کشاورزی، کاربرد گسترده‌ای یافته‌اند. با این حال، انتشار این نانوذرات در محیط می‌تواند بر فیزیولوژی گیاهان تأثیر بگذارد و مسیرهای متابولیکی آن‌ها را تغییر دهد. در این پژوهش، اثر وابسته به زمان AgNPs بر محتوای ترکیبات فنلی شامل فنل کل (TPC)، فلاونوئید کل (TFC)، آنتوسیانین کل (TAC) و رزمارینیک اسید (RA) در برگ‌های *Salvia officinalis* بررسی شد. همچنین، میزان فعالیت و بیان ژن‌های کلیدی مسیر بیوسنتز RA شامل فیل‌آلانین آمونیا-لیاز (PAL)، تیروزین آمینوترانسفراز (TAT) و رزمارینیک اسید سنتاز (RAS) در زمان‌های مختلف پس از تیمار مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تیمار با AgNPs موجب افزایش معنادار TPC، TFC و TAC در بیشتر زمان‌های بررسی شده شد. همچنین، محتوای RA در پاسخ به AgNPs افزایش یافت، که این تغییرات با افزایش فعالیت آنزیم‌های PAL، TAT و RAS همراه بود. بررسی بیان ژنی نیز نشان داد که بیان PAL و RAS در ساعات اولیه پس از تیمار افزایش داشته، در حالی که بیان TAT در زمان‌های دیرتر افزایش یافت. همبستگی مثبت بین افزایش محتوای RA و فعالیت آنزیم‌های درگیر در مسیر بیوسنتز آن تأیید شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که AgNPs می‌تواند از طریق تغییر در بیان ژن‌های کلیدی و فعالیت آنزیمی، متابولیسم ثانویه گیاه را تحت تأثیر قرار دهند. این مطالعه به درک بهتر اثرات AgNPs بر مسیرهای فیتوشیمیایی در گیاهان دارویی کمک کرده و کاربردهای بالقوه آن را در بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه برجسته می‌سازد.

واژگان کلیدی: رزمارینیک اسید، متابولیت‌های ثانویه، نانوذرات نقره، *Salvia officinalis*



۱. مقدمه

نانوذرات (NPs) به موادی با اندازه کوچک از ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر اطلاق می‌شوند. داشتن اندازه کوچک و خواص فیزیکوشیمیایی ویژه، این دسته از ذرات را برای استفاده در صنایع مختلف از جمله پزشکی و کشاورزی مناسب ساخته است (Joudeh & Linke, 2022). نانوذرات نقره (AgNPs) متعلق به گروهی از نانوذرات مهندسی شده هستند که به دلیل خواص منحصر به فرد و اثرات ضد میکروبی خود به طور گسترده در محصولات تجاری مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند (Gherasim et al., 2020). آنها در لوازم آرایشی، لوازم الکترونیکی، منسوجات و بسته‌بندی مواد غذایی یافت می‌شوند (Ateş et al., 2021). در حالی که AgNPs مزایای متعددی دارند اما نگرانی‌هایی در مورد اثرات زیست محیطی آنها وجود دارد.

نانوذرات منتشر شده در طبیعت می‌توانند به طور قابل توجهی بر رشد، نمو و فیزیولوژی گیاهان تأثیر بگذارند (Marslin et al., 2017). اگر این مواد توسط گیاهان جذب شوند، می‌توانند از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تنش اکسایشی را در سلول‌های گیاهی القا کنند. در پاسخ، گیاهان سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی خود را فعال می‌کنند (Sharma et al., 2019). علاوه بر این، ROS ناشی از NPs می‌تواند به عنوان مولکول‌های سیگنال دهنده عمل کند و به طور بالقوه متابولیسم ثانویه گیاه را تغییر دهد (Marslin et al., 2017). درک این مکانیسم‌ها برای ارزیابی تأثیر اکولوژیکی نانوذرات و کاربردهای بالقوه آنها در کشاورزی، به ویژه برای بهبود تحمل به تنش گیاهی بسیار مهم است (Jalil & Ansari, 2019).

Hayat et al., 2021 گزارش کردند که AgNPs ساخته شده به روش سبز می‌توانند محتوای متابولیت‌های ثانویه نظیر ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاه *Artemisia absinthium* را افزایش دهند. همچنین آنالیز فیتوشیمیایی کالوس‌های *Caralluma tuberculata* نشان داد که محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا-لیاز (PAL) تحت تیمار AgNPs افزایش یافت (Ali et al., 2019). در *Arabidopsis thaliana*، ژن‌های مربوط به بیوسنتز آنتوسیانین و فلاونوئید نیز در پاسخ به AgNPs تنظیم شدند (García-Sánchez et al., 2015). تا به امروز، با وجود افزایش تولید و استفاده از AgNPs و انتشار آنها در محیط، تعداد محدودی از مطالعات بر روی اثرات فیزیولوژیکی و مولکولی AgNPs بر روی گیاهان متمرکز شده است.

گیاه *Salvia officinalis* L. گونه‌ای متعلق به تیره Lamiaceae است که دارای خواص دارویی متنوع می‌باشد. در طب سنتی از این گیاهان برای درمان بیماری‌های مختلف از جمله تشنج، زخم و التهاب استفاده می‌شده است (Ghorbani & Esmaeilzadeh, 2017). این گیاه حاوی ترکیبات زیست فعال متعددی است؛ مطالعات نشان داده است که رزمارینیک اسید (RA) فراوان‌ترین اسید فنلی شناسایی شده در این گیاهان می‌باشد. بیوسنتز RA شامل مسیرهای فنیل پروپانوئید و مشتق از تیروزین است که توسط آنزیم‌های کلیدی مانند فنیل آلانین آمونیا-لیاز (PAL)، تیروزین آمینوترانسفراز (TAT) و رزمارینیک اسید سنتاز (RAS) کاتالیز می‌شود (Moradbeygi et al., 2020). عوامل تنش‌زای محیطی مانند قرار گرفتن در معرض نانوذرات می‌تواند به طور قابل توجهی بر تولید RA در گیاهان Lamiaceae تأثیر بگذارند. به عنوان مثال، AgNPs پاسخ‌های تنش اکسیداتیو را القا کردند و تجمع RA را در مریم گلی افزایش دادند (Moazzami Farida et al., 2020).

با توجه به اینکه زمان برداشت گیاه پس از تیمار با محرک‌های مختلف از جمله AgNPs می‌تواند بر پاسخ‌های گیاه در سطوح فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی موثر باشد و همچنین با توجه به اینکه اطلاعات اندکی در این رابطه وجود دارد، فلذا هدف از این مطالعه بررسی اثر وابسته به زمان AgNPs بر محتوای ترکیبات فنلی شامل فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل و RA در *S. officinalis*



تعیین شد. همچنین، میزان فعالیت و سطح بیان ژن آنزیم‌های کلیدی در گیر در مسیر بیوستتر RA (PAL، TAT و RAS) نیز در برگ‌های برداشت شده در زمان‌های مختلف پس از تیمار مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. مواد گیاهی و تیمار AgNPs

بذر *S. officinalis* از باغ گیاهان دارویی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. پس از ضدعفونی و جوانه‌زنی بذرهای نهال‌های سالم جوانه زده به گلدان‌های پلاستیکی (قطر ۱۲/۵ cm × ارتفاع ۱۴ cm) پر از خاک باغچه، کوکویت و پرلیت (۳:۱:۱) منتقل شدند. گلدان‌ها در گلخانه، تحت دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵-۲۲ °C و رطوبت نسبی $5 \pm 65\%$ نگهداری شدند. AgNPs از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان (مشهد، ایران) خریداری شد. براساس نتایج مطالعه قبلی (Moazzami Farida et al., 2020)، غلظت ۱۰۰ mg/L به عنوان غلظت بهینه AgNPs تعیین شد و پس از تیمار گیاهان به صورت افشانه برگ‌ها، برداشت نمونه‌ها در زمان‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۶۸ ساعت پس از تیمار انجام شد.

۲-۲. سنجش محتوای متابولیت‌های ثانویه

محتوای فنل کل (TPC) با روش (Singleton et al., 1999) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و داده‌ها به صورت میلی گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک (mg GA/g DW) نمونه گزارش شد. فلاونوئید کل (TFC) با روش (Zhishen et al., 1999) مورد ارزیابی قرار گرفت و مقدار آن به صورت میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک (mg Q/g DW) نمونه بیان شد. محتوای آنتوسیانین کل (TAC) نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در ۵۱۱ نانومتر اندازه‌گیری شد و با توجه به ضریب خاموشی M-1 33000 cm^{-1} محاسبه شد (Hara et al., 2003). همچنین، بررسی کمی RA در نمونه‌ها توسط دستگاه HPLC (Knauer، آلمان) مجهز به C18 MZ-Analysentechnik انجام شد. محتوای این اسید فنلی در نمونه‌های تیمار شده با استفاده از منحنی استاندارد RA محاسبه و به صورت میلی گرم در یک گرم وزن خشک (mg/g DW) نمونه گزارش گردید.

۲-۳. سنجش فعالیت آنزیم‌های کلیدی مسیر بیوستتر اسیدهای فنلی

سنجش فعالیت فعالیت آنزیم PAL (EC 4.3.1.5) در عصاره پروتئینی گیاهان تیمار شده با روش (Heide et al., 1989) انجام شد. فعالیت این آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی فنیل آلانین (سوبسترای فرآیند آنزیمی) $10900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه و بر اساس نانوکاتال در میلی گرم پروتئین (nKat/mg) گزارش شد. میزان فعالیت آنزیم TAT (EC 2.6.1.5) با روش (Diamondstone, 1966) و با استفاده از ضریب خاموشی ۴-هیدروکسی بنزالدئید (ماده تولید شده از فرآیند آنزیمی) $229900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه و بر اساس نانوکاتال در میلی گرم پروتئین (nKat/mg) گزارش شد. فعالیت آنزیم RAS (EC 2.3.1.140) بر اساس تغییرات تولید RA از تراکم کافنیل-CoA و ۳ و ۴ دی‌هیدروکسی فنیل لاکتیک اسید، بر اساس روش توصیف شده توسط (Petersen & Alfermann, 1988) برآورد شد. محتوای RA تولید شده در واکنش RAS با استفاده از دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیم بر اساس نانوکاتال در میلی گرم پروتئین (nKat/mg) گزارش شد.



۴-۲. بررسی تغییرات بیان ژن آنزیم‌های کلیدی مسیر بیوستز اسیدهای فنلی

استخراج RNA کل از برگ‌های *S. officinalis* با استفاده از کیت RNeasy Plant Mini (Qiagen، آلمان) و طبق دستورالعمل پیشنهادی شرکت سازنده استخراج شد. کیفیت و غلظت RNA با روش طیف سنجی نوری مورد بررسی قرار گرفت. ساخت cDNA از RNAهای استخراج شده با استفاده از کیت PrimeScript™ RT (TaKaRa، ژاپن) انجام شد. پرایمرهای مورد استفاده برای RT-qPCR در جدول ۱ فهرست شده‌اند. بیان نسبی ژن‌های *PAL*، *TAT* و *RAS* با استفاده از روش Real Time PCR و مقایسه سطح بیان ژن‌های مورد مطالعه با ژن خانه‌دار *rbcl* تعیین شد.

آنزیم‌های کلیدی دخیل در مسیر mRNA جدول ۱. لیست پرایمرهای مورد استفاده برای بررسی سطح رونویسی *Salvia officinalis* بیوستز رزمارینیک اسید در گیاه

Primer name	Sequence (5'→3')
<i>SoPAL</i> -RTF	CATGAGTAAGGGCACCGACAG
<i>SoPAL</i> -RTR	AGTAGCCTTGGAGGAGGGTGTT
<i>SoTAT</i> -RTF	TCAGCACCTGAAAGAAGATTG
<i>SoTAT</i> -RTR	AACCAGGAACCAACCATCTC
<i>SoRAS</i> -RTF	CAGTTGACTCGGTTCAAATGCGG
<i>SoRAS</i> -RTR	TGATGAAGTGGAGAGCGGAG
<i>Sorbcl</i> -RTF	TTGGCAGATTCCGAGTAAC
<i>Sorbcl</i> -RTR	TGCTAAGTCCATCGGTCCAC

۵-۲. تجزیه و تحلیل‌های آماری

تمامی آزمایش‌ها با ۳ تکرار مستقل و در قالب طرح به‌طور کامل تصادفی انجام شد. معنی‌دار بودن آماری داده‌ها بر اساس آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و در سطح احتمال $P < 0.05$ مشخص شد. آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای رتبه‌بندی میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفت. به منظور رسم نقشه حرارتی ارتباط بین همه شاخص‌های مورد بررسی در این پژوهش، ضریب همبستگی پیرسون با نرم افزار R (<https://www.r-project.org/>)، (<https://www.rstudio.com/>) RStudio محاسبه شد.

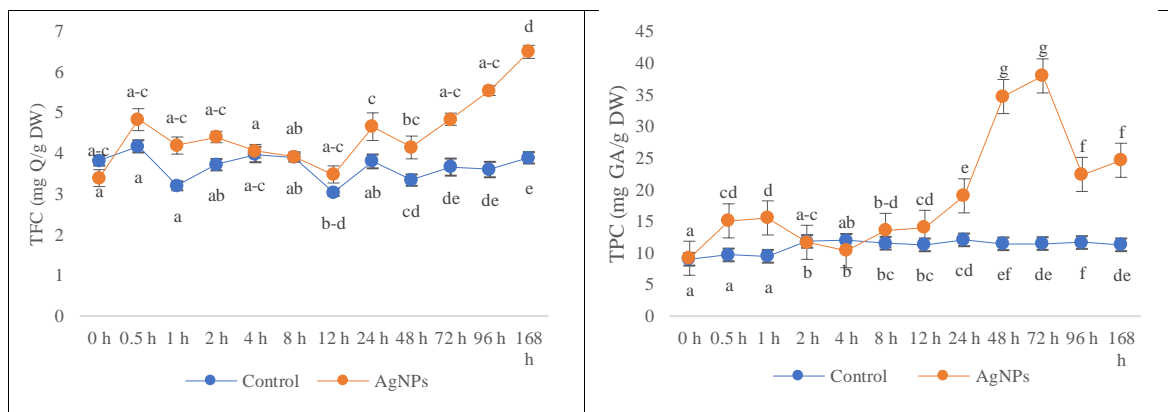
۳. نتایج

۳-۱. ارزیابی اثر AgNPs بر محتوای فنل، فلاوونوئید و آنتوسیانین کل و رزمارینیک اسید

به منظور بررسی اثر AgNPs بر محتوای پاداکسیدان‌های غیر آنزیمی شامل TPC، TFC و آنتوسیانین کل و RA در برگ گیاهان *S. officinalis* تیمار شده بررسی شد. به طور کلی تیمار با AgNPs، بجز در گیاهان برداشت شده ۲ و ۴ ساعت پس از تیمار، موجب افزایش

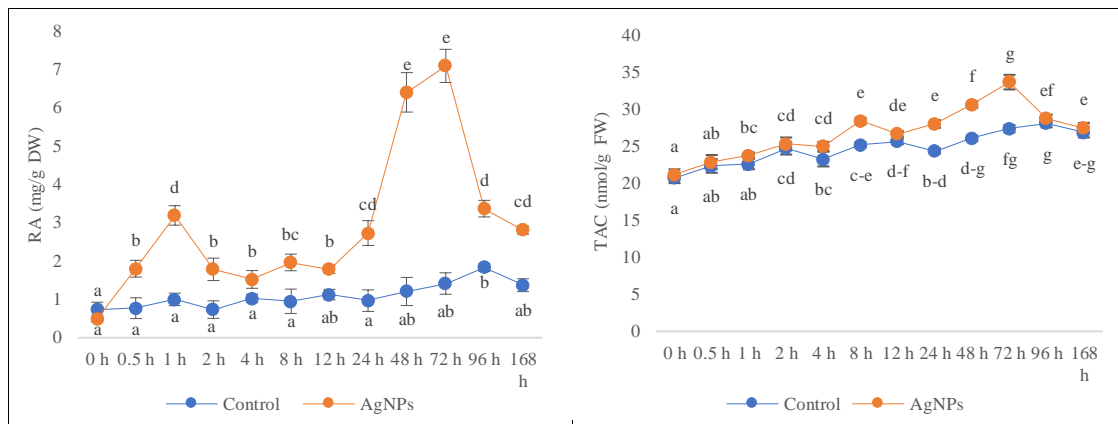


TPC در برگ گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد شد. براساس شکل ۱، الگوی تغییرات TPC در گیاهان تیمار شده با AgNPs در دو پله افزایشی بود. اولین پله در بازه زمانی بین ۰/۵ تا ۲ ساعت پس از تیمار و دومین در فاصله زمانی ۱۲ ساعت تا ۳ روز پس از تیمار بود. بیشترین محتوای فنل کل در برگ گیاهان برداشت شده ۷۲ ساعت پس از تیمار (۳/۳۱ برابر بیش از مقدار بدست آمده برای گیاهان شاهد) مشاهده شد. علاوه بر این، نتایج حاصل نشان داد که تغییر معنی داری ($P < ۰/۰۵$) در TFC در گیاهان برداشت شده ۱۲-۴ ساعت پس از تیمار با AgNPs، نسبت به گیاهان شاهد مشاهده نشد. همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است، روند افزایشی TFC در گیاهانی گزارش شد که در ساعات ابتدایی تیمار (نیم تا ۲ ساعت پس از تیمار) و در ۴ دوره زمانی آخر (۱۶۸-۴۸ ساعت پس از تیمار) برداشت شده بودند. بیشترین TFC در گیاهانی بدست آمد که یک هفته پس از تیمار با AgNPs برداشت شده بودند. مقادیر بدست آمده در این نمونه‌ها ۱/۶۷ برابر بیش از مقدار گزارش شده در گیاهان شاهد بود.



در *S. officinalis* (در برگ گیاهان TFC) و فلاوونوئید کل (TPC) بر محتوای فنل کل (AgNPs) شکل ۱. اثر تیمار (میان ۰/۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸، ۰/۱۲، ۰/۲۴، ۰/۴۸، ۰/۷۲ و ۱۶۸ ساعت پس از تیمار. حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P < ۰/۰۵$) میانگین داده‌ها می‌باشد.

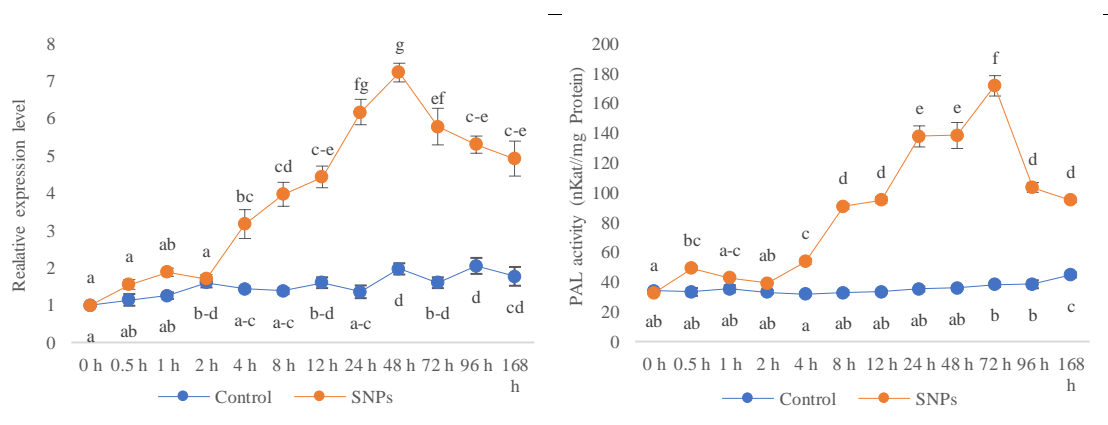
نتایج حاصل از اثر AgNPs بر TAC در گیاهان تیمار شده نشان داد که تا ۴ ساعت پس از تیمار با AgNPs، تفاوت معنی داری در محتوای این ترکیبات در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد وجود نداشت. همچنین، TAC در گیاهان تیمار شده تا سه روز پس از تیمار دارای روند افزایشی و پس از آن روند کاهشی بود. بیشترین TAC در گیاهان برداشت شده سه روز پس از تیمار (۱/۲۳ برابر بیش از مقدار بدست آمده برای گیاهان شاهد) یافت شد (شکل ۲). همچنین، نتایج نشان داد که تیمار با AgNPs نیز توانست موجب افزایش معنی دار در محتوای RA در برگ گیاهان تیمار شده در مقایسه با گیاهان برداشت شده در زمان صفر و شاهد شود. این روند افزایشی در دو بازه زمانی ۵-۱ و ۷۲-۱۲ ساعت پس از تیمار مشاهده شد. بیشترین مقدار RA در برگ نمونه‌هایی مشاهده شد که ۴۸ ساعت پس از تیمار برداشت شده بودند و مقدار آن ۵/۳۰ برابر بیش از سطح گزارش شده در برگ گیاهان شاهد بود (شکل ۲).



شکل ۱. اثر تیمار AgNPs بر محتوای آنتوسیانین کل (TAC) و رزمارینیک اسید (RA) در برگ گیاهان *S. officinalis* در ۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۶۸ ساعت پس از تیمار. حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) میان میانگین داده‌ها می‌باشد.

۳-۲. ارزیابی اثر AgNPs بر میزان فعالیت و بیان ژن آنزیم‌های کلیدی مسیر بیوسنتز رزمارینیک اسید

به منظور بررسی اثر تیمار AgNPs بر میزان فعالیت و سطح رونوشت برداری آنزیم‌های کلیدی دخیل در مسیر بیوسنتز RA، سطح فعالیت آنزیم‌های PAL، TAT و RAS مورد مطالعه قرار گرفت. الگوی تغییرات میزان فعالیت آنزیم PAL در گیاهان تیمار شده با AgNPs نشان داد که سطح فعالیت این آنزیم نیم ساعت پس از تیمار، نسبت به گیاهان شاهد، افزایش یافت اما میزان فعالیت PAL در گیاهان برداشت شده تا ۲ ساعت پس از تیمار اختلاف معنی‌داری با نتایج بدست آمده برای گیاهان شاهد نداشت. در فاصله زمانی ۴ ساعت تا ۳ روز پس از تیمار با نانوذرات، افزایش معنی‌دار و قابل توجهی در سطح فعالیت این آنزیم مشاهده شد بطوری‌که میزان فعالیت آنزیم در گیاهان برداشت شده ۳ روز پس از تیمار ۴/۴۸ برابر بیش از میزان گزارش شده برای گیاهان شاهد بود (شکل ۳).

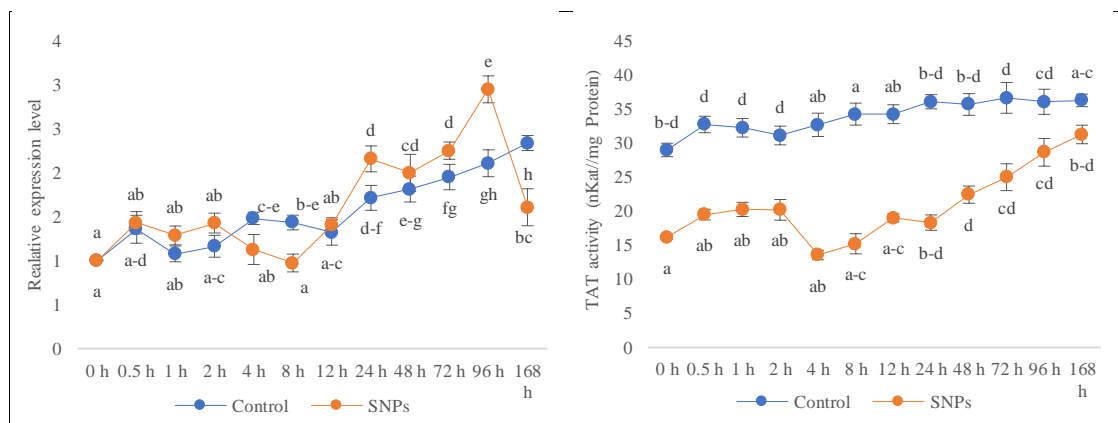


شکل ۳. اثر تیمار AgNPs بر میزان فعالیت و سطح بیان ژن آنزیم PAL در برگ گیاهان *S. officinalis* در ۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۶۸ ساعت پس از تیمار. حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) میان میانگین داده‌ها می‌باشد.



علاوه بر این، الگوی تغییرات سطح بیان ژن *PAL* در گیاهان تیمار شده با AgNPs نشان داد که تفاوت معنی داری در سطح بیان ژن این آنزیم در گیاهان برداشت شده تا دو ساعت پس از تیمار در مقایسه با گیاهان شاهد وجود نداشت. براساس شکل ۳، سطح بیان ژن آنزیم *PAL* در گیاهان برداشت شده در فاصله زمانی ۲ ساعت تا ۲ روز پس از تیمار یک روند افزایشی و پس از آن (۷-۳ روز پس از تیمار) یک روند کاهشی را نشان دادند. بیشترین سطح بیان ژن آنزیم *PAL* در گیاهانی گزارش شد که ۲۴ ساعت پس از تیمار برداشته شده بودند که ۴/۵۵ برابر کمتر از میزان ثبت شده برای گیاهان شاهد بود.

بررسی داده‌های بدست آمده نشان داد، تیمار با AgNPs موجب کاهش معنی دار در سطح فعالیت آنزیم *TAT* شد. هر چند با گذشت زمان سطح فعالیت این آنزیم افزایش یافت، اما در نمونه‌های برداشت شده یک هفته پس از تیمار نیز میزان فعالیت *TAT* کمتر از گیاهان شاهد و ۰/۸۶ سطح گزارش شده برای این گیاهان بود (شکل ۴). الگوی مربوط به گیاهان تیمار شده با AgNPs نشان داد که سطح بیان ژن آنزیم *TAT* در گیاهان برداشت شده در بازه زمانی ۸-۴ و ۱۶۸ ساعت پس از تیمار کمتر از سطح بیان گزارش شده در گیاهان شاهد بود. سطح بیان ژن این آنزیم در گیاهان برداشت شده ۰/۵ و ۱۲ ساعت پس از تیمار اختلاف معنی داری با گیاهان شاهد نداشت. همانطور که در شکل ۴ قابل مشاهده است، بیشترین سطح بیان ژن آنزیم *TAT* در گیاهانی گزارش شد که ۹۶ ساعت پس از تیمار برداشته شده بودند که ۱/۴۰ برابر بیش از میزان گزارش شده برای گیاهان شاهد بود.

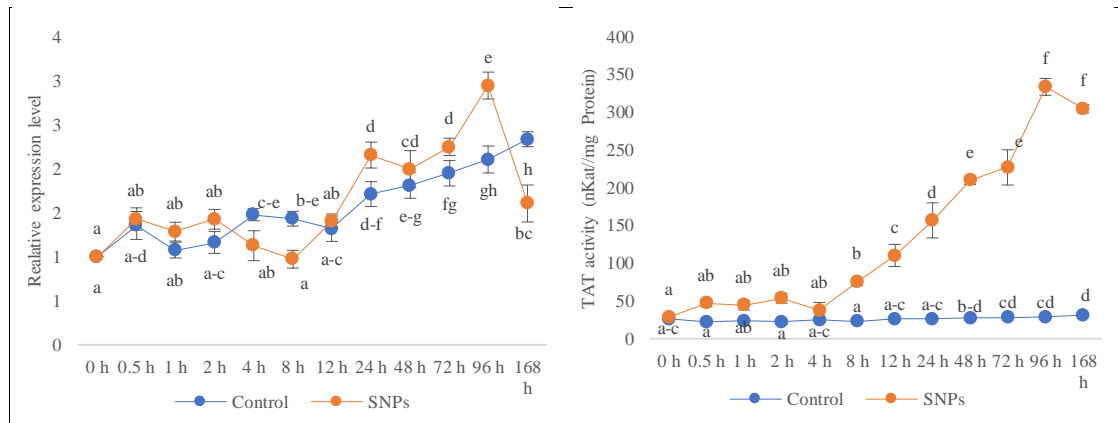


شکل ۴. اثر تیمار AgNPs بر میزان فعالیت و سطح بیان ژن آنزیم *TAT* در برگ گیاهان *S. officinalis* در ۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۶۸ ساعت پس از تیمار. حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) میان میانگین داده‌ها می‌باشد.

همانطور که در شکل ۵ نشان داده شده است، در ساعات آغازین تیمار با AgNPs (۴-۰ ساعت)، اختلاف معنی داری در میزان فعالیت آنزیم *RAS* در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد مشاهده نشد. در مقایسه با نتایج حاصل از گیاهان شاهد، AgNPs موجب افزایش معنی دار در سطح فعالیت آنزیم *RAS* در گیاهان برداشت شده ۹۶-۸ ساعت پس از تیمار شد. بیشترین فعالیت این آنزیم در نمونه‌های برداشت شده ۴ روز پس از تیمار (۱۱/۶۹ برابر بیشتر از شاهد) گزارش شد. بررسی اثر AgNPs بر سطح بیان ژن آنزیم *RAS* در گیاهان تیمار شده نشان داد که سطح بیان ژن این آنزیم در گیاهان برداشت شده ۰/۵ و ۲ ساعت پس از تیمار بدون اختلاف معنی داری با گیاهان شاهد بود، در حالیکه در سایر نمونه‌ها این میزان بیش از سطح اندازه گیری شده در گیاهان شاهد یافت شد. بیشترین سطح بیان ژن آنزیم *RAS*



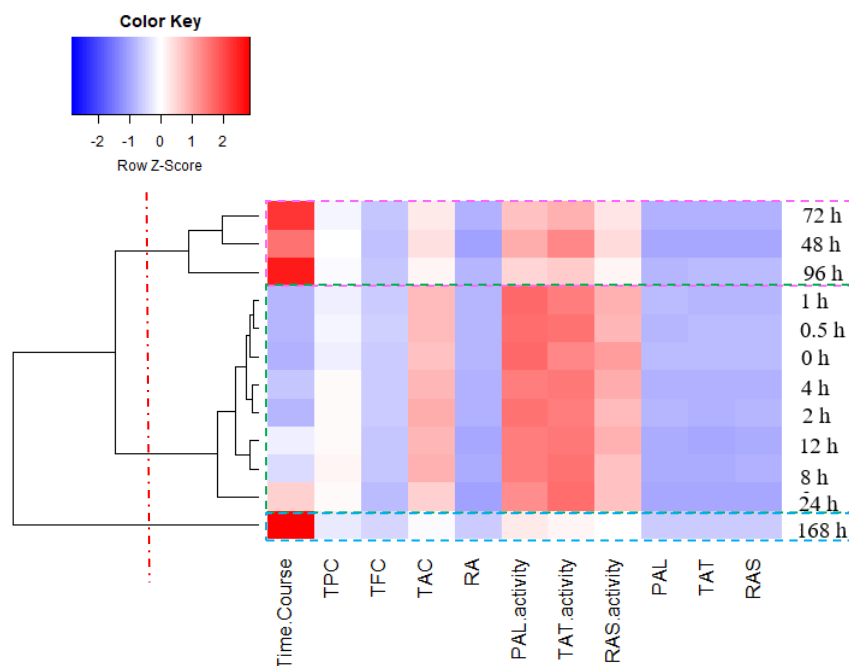
در گیاهان برداشت شده دو روز پس از تیمار گزارش شد. میزان بدست آمده در این گیاهان ۸/۵۸ برابر بیشتر از سطح ارزیابی شده در گیاهان شاهد بود.



شکل ۱.۵ اثر تیمار AgNPs بر میزان فعالیت و سطح بیان ژن آنزیم RAS در برگ گیاهان *S. officinalis* در ۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۶۸ ساعت پس از تیمار. حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) میان میانگین داده ها می باشد.

۳-۳. بررسی همبستگی داده های حاصل از گیاهان تیمار شده با AgNPs

برای بررسی بیشتر، ارتباط و همبستگی میان پارامترهای ارزیابی شده، نقشه حرارتی برای طبقه بندی پاسخ های بیوشیمیایی و مولکولی گیاهان تیمار شده با AgNPs رسم شد (شکل ۶). براساس زمان برداشت پس از تیمار، گیاهان تیمار شده با AgNPs را می توان در سه گروه اصلی طبقه بندی کرد. گروه اول شامل گیاهان برداشت شده در ساعات مختلف پس از تیمار در روز اول بود. گیاهان برداشت شده ۲، تا ۴ روز پس از تیمار AgNPs گروه دوم را تشکیل دادند. همانطور که در نقشه حرارتی رسم شده قابل مشاهده می باشد، تنش القاشده توسط AgNPs موجب افزایش تولید ترکیبات فنلی از جمله RA در گیاهان این گروه شد. به طوریکه بیشترین محتوای این اسید فنلی و همینطور بیشترین فعالیت آنزیم های PAL و RAS در نمونه هایی مشاهده شد که ۳ روز پس از تیمار برداشت شده بودند. همچنین، گروه سوم نیز شامل گیاهانی بود که ۱ هفته پس از تیمار برداشت شده بودند.



شکل ۶. نقشه حرارتی و ضریب همبستگی پیرسون (p) برای نمونه‌های تیمار شده با AgNPs

۴. بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از AgNPs برای اهداف کشاورزی، صنعتی و خانگی، آلاینده‌های جدیدی را به محیط زیست معرفی کرده است که به طور بالقوه سلامت گیاه را در هر دو اکوسیستم مدیریت شده و طبیعی به خطر می‌اندازد (Cox et al., 2016). اثرات AgNPs برای چندین گونه گیاهی نشان داده شده است و استفاده روزافزون از AgNPs مستلزم مطالعه در مورد آثار وابسته به غلظت و زمان این ذرات بر سلامت گیاهان است. در مطالعه حاضر، ما پاسخ‌های وابسته به زمان گیاهان *S. officinalis* به قرار گرفتن در معرض AgNPs را مورد بررسی قرار دادیم. پاسخ‌های گیاه به تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط AgNPs به صورت غیر خطی بود و در زمان‌های مختلف پاسخ‌های متفاوتی مشاهده شد.

۴-۱. تغییرات محتوای ترکیبات فنلی در پاسخ به AgNPs

یکی از راه‌های پاسخ گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی تغییر در میزان تولید متابولیت‌های ثانوی به ویژه ترکیبات فنلی است. نتایج نشان داد که در برگ‌های *S. officinalis* تیمار شده با AgNPs نشان داد که تا ۱۲ ساعت پس از تیمار، TPC تفاوت زیادی با گیاهان شاهد نداشت، اما پس از آن و تا ۳ روز پس از تیمار محتوای این ترکیبات در گیاهان تیمار شده افزایش قابل توجهی نسبت به گیاهان شاهد داشتند. مشابه این روند در TFC نیز مشاهده شد. محتوای این ترکیبات در گیاهان برداشت شده در بازه زمانی یک روز تا یک هفته پس از تیمار با این الیستور در مقایسه با گیاهان شاهد تفاوت معنی‌داری نشان دادند. گزارش‌ها نشان می‌دهند که تولید ترکیبات فنلی و همچنین فلاونوئیدها در شرایط تنش اکسایشی ناشی از تیمار نانوذرات در سلول‌های گیاهی افزایش می‌یابد (Fan et al., 2018; Ghorbanpour & Hadian, 2015).



همچنین، AgNPs باعث افزایش محتوای RA در برگ‌های تیمار شده، به طور میانگین، تا ۲/۵۶ برابر محتوای این ترکیب در برگ گیاهان شاهد شد. می‌توان اظهار داشت به دلیل خاصیت بالای احیاکنندگی اسیدهای فنلی بویژه RA، این ترکیبات به عنوان مولکول‌های پاداکسایشی قوی عمل کرده‌اند (Nicolai et al., 2016). به طور کلی، ترکیبات فنلی در شرایط تنش اکسایشی به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عمل کرده و به حفظ و پایداری سلول کمک کرده و در تجزیه ROS‌ها نقش دارند (Sharma et al., 2012). بر همین اساس، تولید ROS ناشی از AgNPs در گیاهان مطالعه شده می‌تواند مسئول تغییر در محتوای ترکیبات فنلی مانند فنل کل، فلاونوئیدها و RA باشد.

علاوه بر این، TAC در گیاهان برداشت شده تا ۱۲ ساعت پس از تیمار با AgNPs اختلاف معنی‌داری با گیاهان شاهد نداشتند اما پس از آن TAC در گیاهان تیمار شده افزایش یافت. به طور مشابه، انباشت آنتوسیانین در *Brassica rapa* (Thiruvengadam et al., 2015) تیمار شده با AgNPs نیز مشاهده شد. آنتوسیانین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنژیمی رایجی هستند که در افزایش تحمل گیاهان به چندین تنش زیستی و غیرزیستی، مانند گیاهخواران و عوامل بیماری‌زا، خشکی، سرما، اشعه ماوراء بنفش (UV) و فلزات سنگین نقش دارند (Thiruvengadam et al., 2015). این ترکیبات در شرایط تنش‌زا به عنوان حذف‌کننده رادیکال‌های سوپراکسید، دهنده هیدروژن و همبندکننده فلز عمل می‌کنند (Chuanxin et al., 2015).

۲-۴. تغییرات فعالیت و بیان ژن آنزیم‌های کلیدی دخیل در مسیر بیوسنتز RA در پاسخ به تیمار AgNPs

در این مطالعه، میزان بیان ژن و سطح فعالیت آنزیم‌های PAL و TAT بعنوان آنزیم‌های کاتالیزکننده مرحله آغازین مسیر تولید RA و RAS به عنوان آنزیم کاتالیزکننده آخرین مرحله مسیر تولید این اسید فنلی در برگ‌های *S. officinalis* که با AgNPs تیمار شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاضر نشان داد که AgNPs به طور قابل توجهی بیان ژن و فعالیت آنزیم‌های مذکور را تحت تاثیر قرار داد. بر اساس نتایج چندین مطالعه، PAL به عنوان آنزیمی کلیدی در تولید بسیاری از ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها، لیگنان‌ها، کومارین‌ها و اسیدهای فنلی شناخته می‌شود. قبلاً نیز تأیید شده است که PAL آنزیمی کلیدی در مسیر تولید RA محسوب شده و واکنش تبدیل فنیل آلانین به پیش‌ساز ترکیبات فنلی را کاتالیز می‌کند (Nourozi et al., 2019).

نتایج حاصل از بررسی الگوی تغییرات سطح فعالیت و بیان ژن آنزیم‌های اصلی دخیل در مسیر تولید RA نشان داد که الگوی تغییرات سطح بیان ژن با میزان فعالیت آنزیم‌های PAL، TAT و RAS در برگ‌های تیمار شده با نانوذرات مشابه بوده و با یکدیگر همبستگی داشتند. دو آنزیم PAL و RAS دارای بیشترین تغییرات در میزان فعالیت و سطح بیان ژن بودند. داده‌های حاصل تأیید کرد که هر AgNPs با اثر قابل توجه بر سطح فعالیت و بیان ژن آنزیم RAS موجب تغییر در محتوای RA شد. همچنین، میان فعالیت و بیان ژن آنزیم PAL با محتوای RA، یک رابطه مثبت و قوی مشاهده شد. همچنین، در مطالعات قبلی توضیح داده شده‌است که TAT در مسیر بیوسنتز RA نقش دارد و سطح رونوشت TAT به گونه گیاهی و سطح تنش اعمال شده به گیاه بستگی دارد (Shi et al., 2019).

با توجه به داده‌های بدست آمده و می‌توان نتیجه گرفت AgNPs از طریق تغییر در سطح فعالیت و بیان ژن‌های آنزیم‌های کلیدی در گیر در مسیر بیوسنتز RA در گیاه *S. officinalis* باعث افزایش محتوای این ترکیبات می‌شود. از بین سه آنزیم مطالعه شده، آنزیم RAS نیز به عنوان آنزیم محوری این مسیر در تولید RA نقش کلیدی را ایفا می‌کند.

منابع

Ali, A., Mohammad, S., Khan, M. A., Raja, N. I., Arif, M., Kamil, A., & Mashwani, Z.-u.-R. (2019). Silver nanoparticles elicited *in vitro* callus cultures for accumulation of biomass and secondary metabolites in

- Caralluma tuberculata*. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 47(1), 715-724. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1577884>
- Ateş, M., Yılmaz, E., Kar, B., & Durukan, İ. K. (2021). Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles and Coating with Chitosan. Politeknik Dergisi, 24(4), 1401-1408. <https://doi.org/https://doi.org/10.2339/politeknik.632079>
- Chuanxin, M., Parkash, D. O., & Baoshan, X. (2015). Metal-Based Nanotoxicity and Detoxification Pathways in Higher Plants. Environmental Science & Technology, 49 (13). 7109-7122. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00685>
- Cox, A., Venkatachalam, P., Sahi, S., & Sharma, N. (2016). Silver and titanium dioxide nanoparticle toxicity in plants: a review of current research. Plant Physiology and Biochemistry, 107, 147-163. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.05.022>
- Diamondstone, T. I. (1966). Assay of tyrosine transaminase activity by conversion of p-hydroxyphenylpyruvate to p-hydroxybenzaldehyde. Analytical Biochemistry, 16(3), 395-401. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697\(66\)90220-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697(66)90220-X)
- Fan, X., Xu, J., Lavoie, M., Peijnenburg, W., Zhu, Y., Lu, T., Fu, Z., Zhu, T., & Qian, H. (2018). Multiwall carbon nanotubes modulate paraquat toxicity in *Arabidopsis thaliana*. Environmental Pollution, 233, 633-641. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.10.116>
- García-Sánchez, S., Bernal, I., & Cristobal, S. (2015). Early response to nanoparticles in the *Arabidopsis* transcriptome compromises plant defence and root-hair development through salicylic acid signalling. BMC Genomics, 16, 1-17. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s12864-015-1530-4>
- Gherasim, O., Puiu, R. A., Bîrcă, A. C., Burduşel, A.-C., & Grumezescu, A. M. (2020). An updated review on silver nanoparticles in biomedicine. Nanomaterials, 10(11), 2318. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/nano10112318>
- Ghorbani, A., & Esmaeilzadeh, M. (2017). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 7(4), 433-440. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.12.014>
- Ghorbanpour, M., & Hadian, J. (2015). Multi-walled carbon nanotubes stimulate callus induction, secondary metabolites biosynthesis and antioxidant capacity in medicinal plant *Satureja khuzestanica* grown *in vitro*. Carbon, 94, 749-759. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbon.2015.07.056>
- Hara, M., Oki, K., Hoshino, K., & Kuboi, T. (2003). Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyl. Plant Science, 164 (2), 259-265. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00408-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00408-9)
- Hayat, K., Ali, S., Ullah, S., Fu, Y., & Hussain, M. (2021). Green synthesized silver and copper nanoparticles induced changes in biomass parameters, secondary metabolites production, and antioxidant activity in callus cultures of *Artemisia absinthium* L. Green Processing and Synthesis, 10(1), 61-72. <https://doi.org/https://doi.org/10.1515/gps-2021-0010>
- Heide, L., Nishioka, N., Fukui, H., & Tabata, M. (1989). Enzymatic regulation of shikonin biosynthesis in *Lithospermum erythrorhizon* cell cultures. Phytochemistry, 28(7), 1873-1877. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97877-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97877-4)
- Jalil, S. U., & Ansari, M. I. (2019). Nanoparticles and abiotic stress tolerance in plants: synthesis, action, and signaling mechanisms. Plant Signaling Molecules, 549-561. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816451-8.00034-4>
- Joudeh, N., & Linke, D. (2022). Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. Journal of Nanobiotechnology, 20(1), 262-291. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>
- Marslin, G., Sheeba, C. J., & Franklin, G. (2017). Nanoparticles alter secondary metabolism in plants via ROS burst. Frontiers in Plant Science, 8, 832. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00832>
- Moazzami Farida, S. H., Karamian, R., & Albrechtsen, B. R. (2020). Silver nanoparticle pollutants activate oxidative stress responses and rosmarinic acid accumulation in sage. Physiologia Plantarum, 170(3), 415-432. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ppl.13172>



- Moradbeygi, H., Jamei, R., Heidari, R., & Darvishzadeh, R. (2020). Fe₂O₃ nanoparticles induced biochemical responses and expression of genes involved in rosmarinic acid biosynthesis pathway in Moldavian balm under salinity stress. *Physiologia Plantarum*, 169(4), 555-570. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ppl.13077>
- Nicolai, M., Pereira, P., Vitor, R. F., Reis, C. P., Roberto, A., & Rijo, P. (2016). Antioxidant activity and rosmarinic acid content of ultrasound-assisted ethanolic extracts of medicinal plants. *Measurement*, 89, 328-332. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.measurement.2016.04.033>
- Nourozi, E., Hosseini, B., Maleki, R., & Mandoulakani, B. A. (2019). Pharmaceutical important phenolic compounds overproduction and gene expression analysis in *Dracocephalum kotschy* hairy roots elicited by SiO₂ nanoparticles. *Industrial Crops and Products*, 133, 435-446. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.05>
- Petersen, M., & Alfermann, A. (1988). Two new enzymes of rosmarinic acid biosynthesis from cell cultures of *Coleus blumei*: hydroxyphenylpyruvate reductase and rosmarinic acid synthase. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 43(7-8), 501-504. <https://doi.org/https://doi.org/10.1515/znc-1988-7-804>
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012(1), 217037. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2012/217037>
- Sharma, S., Singh, V. K., Kumar, A., & Mallubhotla, S. (2019). Effect of nanoparticles on oxidative damage and antioxidant defense system in plants. *Molecular plant abiotic stress: Biology and Biotechnology*, 315-333. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781119463665.ch17>
- Shi, M., Huang, F., Deng, C., Wang, Y., & Kai, G. (2019). Bioactivities, biosynthesis and biotechnological production of phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(6), 953-964. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1474175>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Elsevier. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Thiruvengadam, M., Gurunathan, S., & Chung, I.-M. (2015). Physiological, metabolic, and transcriptional effects of biologically-synthesized silver nanoparticles in turnip (*Brassica rapa* ssp. *rapa* L.). *Protoplasma*, 252, 1031-1046. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00709-014-0738-5>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)



اثرات درمان با عصاره آبی الکلی مریم نخودی بر درد دهانی صورتی القا شده با فرمالین در موش‌های صحرایی

راضیه کوشکی^{*۱}

^{*۱} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم آباد (Kooshki.r@lu.ac.ir)

چکیده

درد های دهانی صورتی از انواع شدید و ناتوان کننده دردها هستند که اغلب ناشی از علل زمینه ای مختلف مانند اختلالات دندانی، اختلال عملکرد مفصل گیجگاهی فکی یا آسیب عصبی می باشند. امروزه، گیاهان دارویی به علت دارا بودن ترکیبات زیست فعال و عوارض جانبی کمتر به عنوان جایگزین مقرون به صرفه ای داروهای شیمیایی برای مدیریت درد شناخته شده اند. این مطالعه با هدف بررسی پتانسیل درمانی استفاده از عصاره آبی-اتانولی کلپوره (مریم نخودی) در کاهش درد دهانی صورتی ناشی از تزریق فرمالین در لب در موش های صحرایی نر بالغ انجام شد. جهت القا درد، تزریق محلول ۱.۵ درصد فرمالین به ناحیه پرینزال حیوان صورت گرفت و سپس مدت زمان صرف شده برای رفتارهای مرتبط با درد (مالش صورت) به مدت یک ساعت اندازه گیری شد. نتایج نشان داد تزریق فرمالین به لب بالایی موش یک الگوی مشخص از رفتار مالش صورت نسبت به گروه کنترل ایجاد می کند. درمان با تزریق داخل صفاقی عصاره کلپوره در دوزهای ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم مدت زمان رفتار درد دهانی صورتی القا شده با فرمالین را کاهش داد. نتایج به دست آمده نشان می دهد که استفاده از عصاره گیاه کلپوره می تواند در کاهش علائم درد دهانی صورتی القا شده با فرمالین در موش های صحرایی موثر باشد.

واژگان کلیدی: مریم نخودی، آنتی اکسیدان، درد دهانی صورتی، موش صحرایی



۱. مقدمه

درد دهانی به درد موضعی در صورت، دهان یا ناحیه فک اشاره دارد که اغلب ناشی از علل زمینه‌ای مختلف مانند اختلالات دندانی، اختلال عملکرد مفصل گیجگاهی فکی یا آسیب عصبی است. درد دهان به طور قابل توجهی بر کیفیت زندگی افراد تأثیر می‌گذارد و در فعالیت‌های ضروری مانند صحبت کردن، غذا خوردن و تعاملات اجتماعی اختلال ایجاد می‌کند. از مدل‌های تجربی رایج برای مطالعه درد دهانی صورتی، مدل درد ناشی از فرمالین است که شامل تزریق فرمالین به بافت‌هایی مانند لب برای برانگیختن پاسخ درد است (Lobbezoo et al., 2024; Romero-Reyes et al., 2023; Wang et al., 2024).

قرن هاست که از گیاهان برای کاهش درد و التهاب استفاده می‌شود. پتانسیل درمانی آنها در محتوای غنی از ترکیبات زیست فعال از جمله فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و اسیدهای فنولیک نهفته است. این ترکیبات خواص دارویی مختلفی مانند اثرات ضد التهابی، ضد درد و آنتی اکسیدانی از خود نشان می‌دهند که آنها را به منابع ارزشمندی برای توسعه درمان‌های جدید درد تبدیل می‌کند. در واقع، امروزه، گیاهان دارویی با عوارض جانبی کمتر به عنوان جایگزین مقرون به صرفه‌ای داروهای شیمیایی برای مدیریت درد شناخته می‌شوند (Dumbraveanu et al., 2023; Goyal et al., 2023).

گیاه مریم نخودی (*Teucrium*) که با نام کلپوره نیز شناخته می‌شود یک گیاه دارویی چند ساله است که به طور گسترده در منطقه مدیترانه، خاورمیانه و بخش‌هایی از آسیا پراکنده شده است. به طور سنتی، در طب عامیانه برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها، از جمله اختلالات گوارشی، التهاب و درد استفاده می‌گردد. عصاره آبی-اتانولی این گیاه حاوی مواد شیمیایی گیاهی متنوعی مانند فلاونوئیدها، تانن‌ها و ساپونین‌ها است که به خواص دارویی آن کمک می‌کند. اثرات ضد دردی کلپوره در برخی مطالعات تجربی گزارش شده است (Belguidoum et al., 2024; Ersoy et al., 2023; Fattollah Gol et al., 2024; Houshmand et al., 2015). با این وجود اثرات این گیاه بر درد دهانی صورتی تاکنون بررسی نشده است. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی پتانسیل عصاره آبی-اتانولی کلپوره در کاهش دردهای دهانی ناشی از تزریق فرمالین در لب بالا انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱ حیوانات

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر بالغ سالم با وزن ۲۷۰-۲۳۰ گرم استفاده شد. موش‌ها در قفس‌های پلی اتیلن با دسترسی آسان به آب و غذا و در اتاق با دمای محیط کنترل‌شده (23 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد)، تحت یک چرخه ۱۲ ساعته نور و تاریکی نگهداری شدند. آزمایش‌ها بین ساعت ۹:۰۰ تا ۱۲:۰۰ انجام شد.

حیوانات به طور تصادفی در ۴ گروه (۶ سر در هر گروه) دسته‌بندی شدند شامل گروه دست‌نخورده (کنترل): این گروه هیچ گونه تیماری دریافت نکردند، گروه شاهد: به شکل درون صفاقی نرمال سالین دریافت کردند، گروه فرمالین: در این گروه ۵۰ میکرولیتر از محلول فرمالین رقیق شده ۱.۵ درصد با استفاده از سوزن تزریق انسولین در لب فوقانی سمت راست و در سمت راست بینی تزریق می‌گردد، گروه‌های درمان شده با عصاره آبی الکلی کلپوره: این گروه‌ها به مدت یک هفته تحت درمان با دوزهای ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم



کلپوره قرار گرفتند و سپس ۵۰ میکرولیتر از محلول فرمالین رقیق شده ۱.۵ درصد در لب فوقانی دریافت کردند. پس از تزریق فرمالین حیوانات در جعبه ارزیابی درد قرار گرفتند و رفتار درد به مدت ۶۰ دقیقه ارزیابی شد.

۳-۲ جمع آوری گیاه و تهیه عصاره آبی الکی کلپوره

برگ های تازه گیاه کلپوره در اواخر فصل بهار جمع آوری و پس از تأیید توسط متخصص گیاه شناسی ابتدا در دمای آزمایشگاه خشک و سپس آسیاب شد. از پودر حاصله ۴۰ میلی گرم در محلول ۶۰ درصد آب و ۴۰ درصد محلول الکل اتیلیک (۹۸ درصد) به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد در تاریکی قرار گرفت. پس از صاف کردن با کاغذ صافی معمولی، محلول به دست دست آمده روی کاغذ آلومینیم قرار داده شد و روی حمام آب ۴۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت تا تلخیص و خشک گردد. از عصاره به دست آمده، محلول های با غلظت ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم تهیه شد.

۴-۲ القای درد دهانی صورتی

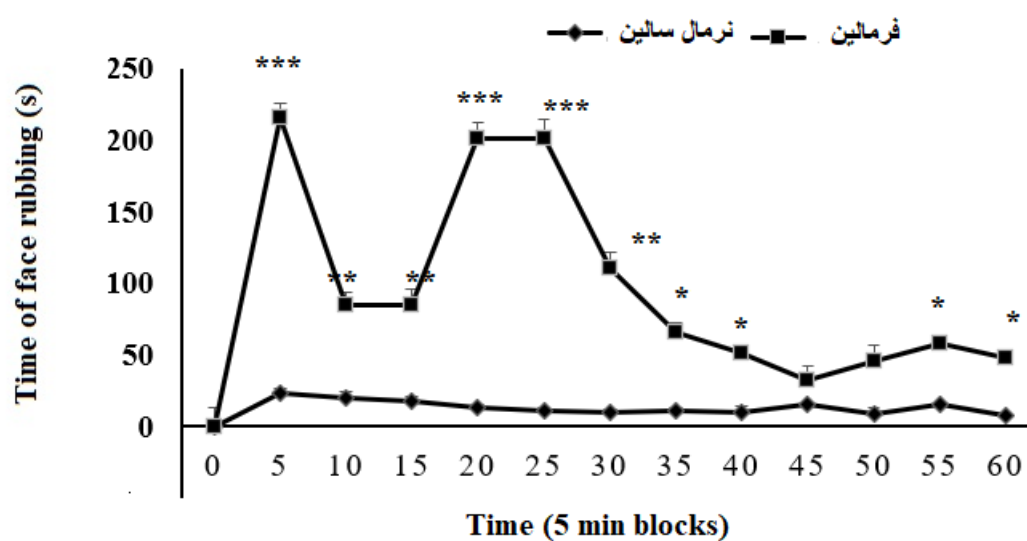
برای القای درد دهانی صورتی از آزمون فرمالین استفاده شد. قبل از این که موش ها مورد آزمایش درد قرار گیرند، جهت سازش با محیط آزمایشگاه، آنها به مدت ۳ روز (هر روز نیم ساعت) در محفظه های پلکسی گلاس (۳۰ × ۳۰ × ۳۰ سانتی متر) قرار گرفتند تا درد ناشی از استرس به حداقل برسد. جهت انجان آزمایش، ۵۰ میکرولیتر از محلول فرمالین رقیق شده ۱.۵ درصد با استفاده از سوزن تزریق انسولین در لب فوقانی سمت راست و در سمت راست بینی تزریق شد. در زیر سطحی که محفظه ای پلاستیکی گلاس قرار داشت یک آینه ای با زاویه ۴۵ درجه قرار داده شد تا دید بدون مانعی از ناحیه دهانی صورت بگیرد. مدت زمانی که هر حیوان با پاهای جلویی همان طرف مالش صورت انجام داد با استفاده از کرومومتر ثبت گردید. مجموع مدت زمان درد در فواصل ۵ دقیقه ای متوالی در مدت ۱ ساعت ثبت شد و به عنوان شاخص درد در نظر گرفته شد. تزریق فرمالین یک پاسخ کلیشه ای را القا کرد که با دو فاز کاملاً متمایز مشخص می شود. در مطالعه حاضر، داده های جمع آوری شده بین ۰ تا ۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین، فاز اول و داده ها بین ۱۵ تا ۳۵ دقیقه پس از تزریق فاز دوم درد را نشان می دهند.

۵-۲ تجزیه و تحلیل داده ها

داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین ارائه شده است. تجزیه و تحلیل آماری آزمون درد با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و سپس آزمون تعقیبی توکی انجام شد. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

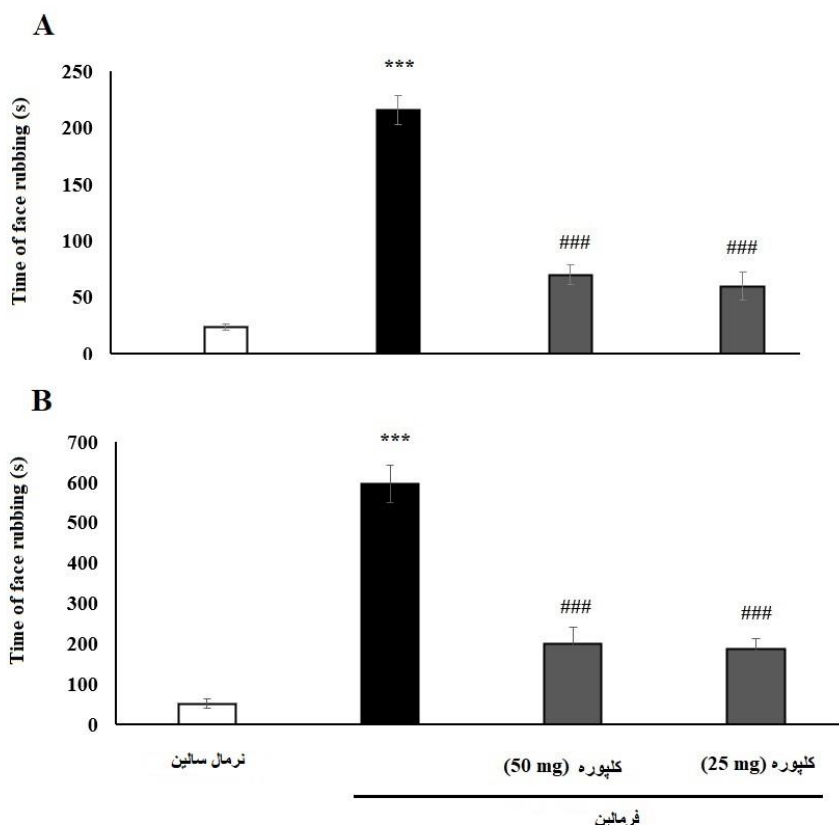
۳. نتایج

تزریق زیر پوستی نرمال سالیین تفاوت معنی داری در رفتار مالش صورت ایجاد نکرد. با تزریق فرمالین رقیق شده به لب بالایی موش یک الگوی مشخص از رفتار مالش صورت ایجاد شد که نشان دهنده پاسخ درد می باشد. در واقع، رفتار درد ناشی از فرمالین یک دوره زمانی دو فازی را نشان داد: فاز اول بلافاصله پس از تزریق فرمالین شروع شد و در حدود ۵ دقیقه کاهش یافت، در حالی که فاز دوم حدود ۱۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین شروع شد و حدود ۲۰ دقیقه طول کشید و تا پایان کاهش یافت. تفاوت معنی داری در مالش صورت بین بلوک های ۵ دقیقه ای اول، چهارم، پنجم و ششم با سایر بلوک های پس از تزریق زیر جلدی فرمالین مشاهده شد ($P < 0/001$) (شکل ۱). درمان با تزریق داخل صفاقی کلپوره در هر دو دوز ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم مدت زمان رفتار درد دهانی صورتی القا شده با فرمالین را در فازهای اول و دوم کاهش داد (شکل ۲).



شکل ۱. مقایسه رفتار درد دهانی صورتی القا شده با تزریق زیرپوستی نرمال سالین و فرمالین در لب بالا در موش های صحرایی. داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین ارائه شده است. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ عدد می باشد.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل



شکل ۲. اثرات عصاره کلپوره بر فاز اول (A) و فاز دوم (B) درد دهانی صورتی القا شده با فرمالین در موش‌های صحرایی. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین ارائه شده است. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ عدد می‌باشد.

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ در مقایسه با گروه نرمال سالین

$P < 0.001$ در مقایسه با گروه فرمالین

۴. بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر درمان با تزریق داخل صفاقی عصاره گیاه مریم نخودی مدت زمان درد دهانی صورتی القا شده با فرمالین را در موش‌های صحرایی کاهش داد. آزمون فرمالین یک روش شناخته شده برای ارزیابی پاسخ درد در جوندگان است که شامل دو مرحله مجزا است، یک فاز حاد فوری ناشی از فعال شدن مستقیم گیرنده درد، و به دنبال آن یک فاز التهابی طولانی‌تر ایجاد می‌گردد. این مدل به طور موثر هر دو مولفه درد حسی و التهابی را شبیه‌سازی می‌کند و آن را برای ارزیابی پتانسیل ضد درد ترکیبات مختلف مناسب می‌سازد. در راستای نتایج مطالعه حاضر، نشان داده شده است که تجویز عصاره کلپوره می‌تواند به طور قابل توجهی رفتارهای درد را در هر دو مرحله آزمایش فرمالین کاهش دهد. به عنوان مثال، مطالعه ای که اثرات ضد درد عصاره کلپوره را بر روی موش‌ها با استفاده از تست فرمالین ارزیابی کرد، نشان داد که دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی منجر به کاهش قابل توجهی در نمرات درد در هر دو مرحله شد. اثرات ضد درد با داروهای مسکن استاندارد مانند آسپرین قابل مقایسه بود که نشان دهنده اثربخشی عصاره در مدیریت اجزای درد حاد و مزمن است (Houshmand et al., 2015).



عصاره کلپوره شامل چندین ترکیب زیست فعال از جمله فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی است که با مکانیسم های عمل متعدد مانند مهار واسطه های التهابی و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی می تواند باز بین بردن رادیکال های آزاد و صدمات استرس اکسیداتیو به کاهش درد و التهاب کمک کنند (Esmaeili et al., 2009; Shah & Shah, 2015). همچنین، فلاونوئیدهای موجود در عصاره کلپوره می توانند آنزیم هایی مانند سیکلواکسیژناز (COX) و لیپو کسیژناز را مهار کنند که منجر به کاهش سنتز پروستاگلاندین ها و لکوترین ها می شود (Barrera et al., 2024; Khodadadi et al., 2018). علاوه بر این، فلاونوئیدهای موجود در عصاره کلپوره ممکن است نیتریک اکسید سنتاز را مهار کرده و سطح NO را کاهش دهند. از آنجایی که NO می تواند به عنوان واسطه درد عمل کند، کاهش آن به اثر ضد درد کمک می کند (Simonyan & Chavushyan, 2015). علاوه بر این، مطالعات نشان داده اند که عصاره کلپوره می تواند فعالیت انتقال دهنده های عصبی در گیر در درک درد، مانند سروتونین را تعدیل کند و به اثرات ضد درد آن کمک کند (Alatawi et al., 2024; Doursout et al., 2003; Tepe et al., 2021).

به طور کلی، در این مطالعه، عصاره کلپوره پتانسیل قابل توجهی در کاهش درد دهانی صورتی ناشی از فرمالین در موش های صحرایی نشان داد. این اثر می تواند از طریق ترکیبی از مکانیسم های ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و تعدیل کننده انتقال دهنده عصبی ایجاد شده باشد. با این وجود، تحقیقات بیشتر در مورد استفاده از کلپوره در کنترل درد دهانی صورتی مورد نیاز است.

منابع

- Alatawi, A., Ajarem, J., Alarifi, S., Al-Shaebi, E., Khadrawy, S., Wang, C., & Maodaa, S. (2024). Teucrium polium extract ameliorates neurobehavioral, neurochemical induced by nicotine in brain of mice. *Indian Journal of Animal Research*, 58(6), 982-990 .
- Barrera, S. D., Cepeda, L. J. B., Báez, D. A. D., Kwon, J., Siddiq, A., Parra, J. E. C., Marya, A., & Chaurasia, A. (2024). Herbal extracts in orofacial pain: a systematic review and direct and indirect meta-analysis. *Scientific Reports*, 14(1), 29656 .
- Belguidoum, M., Harchaoui, L., Khattabi, L., Touahria, T., Abid, A., Zahnit, W., Bensaci, C., Boussebaa, W., Menaa, S., & Laichi, Y. (2024). Teucrium pseudochamaepitys L.: chemical composition, acute toxicity, antioxidant, anti-inflammatory, and analgesic properties. *Chemical Papers*, 78(3), 1989-2003 .
- Doursout, M.-F., Liang, Y., & Chelly, J. E. (2003). NOS inhibitors exhibit antinociceptive properties in the rat formalin test. *Canadian Journal of Anesthesia*, 50(9), 909-916 .
- Dumbraveanu, C., Strommer, K., Wonnemann, M., Choconta, J. L., Neumann, A., Kress, M., Kalpachidou, T., & Kummer, K. K. (2023). Pharmacokinetics of orally applied cannabinoids and medical marijuana extracts in mouse nervous tissue and plasma: relevance for pain treatment. *Pharmaceutics*, 15(3), 853 .
- Ersoy, E., Ozkan, E. E., Karahan, S., Şahin, H., Cinar, E., Canturk, Y. Y., Kara, E. M., Zengin, G., & Boga, M. (2023). Phytochemical analysis of essential oils and the extracts of an



- ethnomedicinal plant, *Teucrium multicaule* collected from two different locations with focus on their important biological activities. *South African Journal of Botany*, 153, 124-135 .
- Esmaeili, M. A., Zohari, F., & Sadeghi, H. (2009). Antioxidant and protective effects of major flavonoids from *Teucrium polium* on β -cell destruction in a model of streptozotocin-induced diabetes. *Planta medica*, 75(13), 1418-1420 .
- Fattollah Gol, P., Asgarpanah, J., & Mousavi, Z. (2024). Anti-inflammatory and Anti-nociceptive Effects of *Teucrium orientale* L. Ethanolic Extract in Experimental Animals. *Journal of Medicinal plants and By-Products*, 13(2), 429-437 .
- Goyal, S., Goyal, S., Goins, A. E., & Alles, S. R. (2023). Plant-derived natural products targeting ion channels for pain. *Neurobiology of Pain*, 13, 100128 .
- Houshmand, G., Goudarzi, M., Forouzandeh, H., Nazari, A., & Norolahi, V. (2015). Evaluation of the analgesic effects of *Teucrium* extract on rats using the formalin test. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 17(6), 33-39 .
- Khodadadi, S., Zabihi, N. A., Niazmand, S., Abbasnezhad, A., Mahmoudabady, M., & Rezaee, S. A. (2018). *Teucrium polium* improves endothelial dysfunction by regulating eNOS and VCAM-1 genes expression and vasoreactivity in diabetic rat aorta. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 103, 1526-1530 .
- Lobbezoo, F., Parisius, K. G., & Verhoeff, M. C. (2024). Orofacial pain and dysfunction in patients with special needs, with a focus on interdisciplinarity. *Pain*, 165(11S), S15-S22 .
- Romero-Reyes, M., Arman, S., Teruel, A., Kumar, S., Hawkins, J & Akerman, S. (2023). Pharmacological management of orofacial pain. *Drugs*, 83(14), 1269-1292 .
- Shah, S. M. M., & Shah, S. M. H. (2015). Phytochemicals, antioxidant, antinociceptive and anti-inflammatory potential of the aqueous extract of *Teucrium stocksianum* bioss. *BMC complementary and alternative medicine*, 15, 1-7 .
- Simonyan, K., & Chavushyan, V. (2015). Neuroprotective activity of hydroponic *Teucrium polium* following bilateral ovariectomy. *Metabolic Brain Disease*, 30(3), 785-792 .
- Tepe, A. S., Ozaslan, M., Kılıc, I. H., & Oguzkan, S. B. (2021). Traditional uses, phytochemistry, and toxic potential of *Teucrium polium* L.: A comprehensive review. *International Journal of Plant Based Pharmaceuticals*, 1(1), 1-41 .
- Wang, J., Liu, X., Gou, J., Deng, J., Li, M., Zhu, Y., & Wu, Z. (2024). Role of neuropeptides in orofacial pain: A literature review. *Journal of Oral Rehabilitation*, 51(5), 898-908 .

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی چهار گونه بومادران (*Achillea* spp.) با روش های مختلف

مرضیه باباش پور اصل

^۱ گروه علوم باغبانی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران ((babashpour@iau.ac.ir))

چکیده

این مطالعه به بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی چهار گونه بومادران (*Achillea* spp.) با استفاده از روش های مختلف پرداخته است. نمونه های گیاهی شامل سرشاخه های گل دار گونه های *A. millefolium* و *A. tenuifolia* از دامنه کوه سهند مراغه، گونه *A. wilhelmsii* از منطقه عیسی کندی مهاباد و گونه *A. biebersteinii* از منطقه نلاس سردشت در تابستان ۱۴۰۲ جمع آوری شدند. عصاره های متانولی با استفاده از آزمون های روبندگی رادیکال آزاد DPPH، مهار اکسیداسیون β -کاروتن/اسید لینولئیک و قدرت احیا کنندگی FRAP مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تفاوت های معناداری ($P < 0.05$) در فعالیت آنتی اکسیدانی بین گونه ها وجود دارد، به طوری که *A. tenuifolia* و *A. biebersteinii* دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به *A. wilhelmsii* و *A. millefolium* بودند. مقادیر IC_{50} در محدوده ۳۵۹/۷۹۲ تا ۶۰۰/۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر متغیر بود که نشان دهنده تنوع قابل توجه در توانایی اهدا کنندگی هیدروژن بین گونه ها است. همچنین، *A. tenuifolia* بالاترین پتانسیل را برای مهار پراکسیداسیون لیپیدها نشان داد که این امر آن را به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی با پتانسیل بالا در صنایع غذایی و دارویی معرفی می کند. این تحقیق بر پتانسیل درمانی گونه های بومادران تأکید می کند و ضرورت بررسی بیشتر پروفایل های فیتوشیمیایی و مکانیزم های عمل آن ها را مورد تأکید قرار می دهد.

واژگان کلیدی: بتاکاروتن، رادیکال آزاد، قدرت احیا کنندگی، آنتی اکسیدانت



۱. مقدمه

گیاهان دارویی به عنوان یکی از مهم ترین هدف های جستجوی منابع جدید متابولیت های ثانویه محسوب می شوند (Trumbeckaite et al., 2011). بومادران متعلق به تیره Asteraceae است که در سراسر جهان پراکنده شده است (Rechinger, 1963). بیش از ۱۰۰ گونه در این جنس شناسایی شده است (Rechinger, 1963; Rahimmalek et al., 2009). ۱۹ گونه از جنس بومادران در مناطق مختلف جغرافیایی و اکولوژیکی ایران شناسایی و توزیع شده اند (Rechinger, 1963). تا به امروز، کاربردهای دارویی مختلف گیاه بومادران، از جمله اثرات اسپاسمولیتیک، کولرتیک، درمان زخم ها و فعالیت های ضدالتهابی، این گیاه را به عنوان یک گیاه دارویی مهم مطرح کرده است (Rahimmalek et al., 2009; Benedek et al., 2006). گزارش های اخیر نشان داده اند که جنس *Achillea* دارای فعالیت آنتی اکسیدانی است که این ویژگی به محتوای کل ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی آن نسبت داده می شود. علاوه بر این، ترکیباتی که به عنوان آنتی اکسیدان شناخته می شوند، به طور گسترده ای برای جلوگیری از اکسیداسیون به عنوان افزودنی در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می گیرند (Trumbeckaite et al., 2011). آنتی اکسیدان ها نه تنها از اکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می کنند، بلکه ممکن است فواید سلامتی مرتبط با پیشگیری از آسیب های ناشی از تخریب های زیستی را نیز فراهم کنند (Shahidi & Wanasundara 1992; Ceriello, 1993). این ترکیبات نقش مهمی در پیشگیری از بیماری های مزمن از طریق کاهش آسیب های اکسیداتیو ناشی از مولکول های شدیداً واکنش گر مانند گونه های فعال اکسیژن (ROS) ایفا می کنند (Konczak et al., 2010). امروزه، آنتی اکسیدان های سنتزی مانند BHA, BHT و TBHQ به طور گسترده در صنعت غذا مورد استفاده قرار می گیرند. با این حال، هنوز این بحث وجود دارد که آیا این ترکیبات برای استفاده در محصولات غذایی ایمن هستند یا خیر (Kosar et al., 2012). در سال های اخیر، ترکیبات فنولی طبیعی به عنوان مواد فراسودمند و غذا دارو (مواد غذایی دارویی) و جایگزین طبیعی آنتی اکسیدان های سنتزی در صنعت غذا مورد استفاده قرار گرفته اند. این آنتی اکسیدان ها عموماً به عنوان مؤلفه های چند عملکردی در نظر گرفته می شوند و فعالیت آن ها به پارامترهای مختلفی مانند عوامل ژنتیکی و محیطی بستگی دارد. بنابراین، هر گیاه یا عصاره آن باید به طور دقیق با استفاده از روش های متعددی برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی مورد بررسی قرار گیرد (Trumbeckaite et al., 2011). هدف از انجام این تحقیق بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی ۴ گونه بومادران با روش های مختلف است.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. مواد گیاهی

سرشاخه های گل دار دو گونه بومادران از دامنه کوه سهند مراغه و دو گونه از مناطق مهاباد و سردشت در مرداد ماه سال ۱۴۰۲ جمع آوری گردید. هویت گیاهان در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه تبریز شناسایی شدند. گیاهان در شرایط سایه در دمای اتاق (۲۳-۲۵ درجه سانتی گراد) خشک گردیدند. شماره هرباریومی گیاهان و مشخصات جغرافیایی مناطق جمع آوری به دست آمده از Google map در جدول ۱ ثبت شده است.



جدول ۱. مشخصات جغرافیایی مناطق مختلف جمع آوری گیاهان

گونه	منطقه جمع آوری	کد هرباریومی	ارتفاع از سطح دریا (m)	طول جغرافیایی (شرقی)	عرض جغرافیایی (شمالی)	متوسط بارندگی ی (mm)	متوسط دما (°C)
<i>A. millefolium</i>	مراغه-سهند	TPZ2345	۱۴۷۸	۴۶°۲۴'	۳۷°۳۹'	۳۵۰/۱۲	۱۴/۱۲
<i>A. tenuifolia</i>	مراغه-سهند	TPZ2987	۱۴۷۸	۴۶°۲۴'	۳۷°۳۹'	۳۵۰/۱۲	۱۴/۱۲
<i>A. wilhelmsi</i>	مهاباد-عیسی کندی	TPZ2631	۱۵۶۷	۴۵°۵۹'	۳۶°۳۹'	۲۳۶/۹۱	۱۴/۱۳
<i>A. biebersteinii</i>	سردشت-نلاس	TPZ1876	۱۰۷۶	۴۵°۴۹'	۳۶°۲۶'	۵۶۲/۸۳	۱۴/۴۶

۲-۲. تهیه عصاره‌های گیاهی

مواد گیاهی خشک شده در هوا با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی آسیاب شدند تا پودری یکنواخت به دست آید. نمونه‌هایی به وزن تقریبی ۰/۱ گرم با استفاده از ۱۰ میلی لیتر متانول ۷۰ درصد تحت فرایند اولتراسونیکاسیون در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه استخراج شدند. عصاره‌ها از طریق فیلترهای سرنگی نایلونی با اندازه منافذ ۰/۲۲ میکرومتر (Carl Roth GmbH & Co. KG, Germany) صاف شده و تا زمان انجام آنالیز در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

۳-۲. اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی

۱-۳-۲. روش روبندگی رادیکال آزاد DPPH

فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های گیاهی و آنتی اکسیدان استاندارد بر اساس اثر جذب رادیکال آزاد ۱،۱-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH) ارزیابی شد (Pinelo et al., 2004). عصاره سرشاخه‌های گل دار بومادران (500 ppm) در متانول آماده شد. BHT به عنوان آنتی اکسیدان استاندارد در محلول‌های ۱۰۰-۱ میکروگرم بر میلی لیتر استفاده شد. ۵ میلی لیتر از محلول متانولی ۰/۱ میلی مولار DPPH با ۰/۱ میلی لیتر از نمونه‌ها و محلول‌های استاندارد به ترتیب مخلوط شدند. این محلول‌ها در شرایط تاریک برای ۳۰ دقیقه نگهداری شدند و سپس جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت جذب رادیکال عصاره‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\% \text{ Radical scavenging activity} = (\text{control OD} - \text{sample OD} / \text{control OD}) \times 100$$

متانول ۸۰ درصد و محلول DPPH (0.1 mM, 5 ml) به ترتیب به صورت جدا به عنوان بلانک و شاهد مورد استفاده

قرار گرفت.

$$\text{FRAP \% reduction} = \text{AC} - \text{AS} / \text{AC} \times 100$$

AC جذب شاهد و AS جذب عصاره است.

۲-۳-۲. روش بتا-کاروتن-لینولئیک اسید



این آزمایش بر اساس روش Gursoy و همکاران (۲۰۰۹) با اندکی تغییرات انجام شد. برای انجام این آزمایش، ۰/۵ میلی گرم بتا-کاروتن در ۱ میلی لیتر کلروفرم حل شد و ۲۵ میکرولیتر لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی گرم توین ۸۰ به آن اضافه شد تا محلول اصلی آماده شود. محلول با استفاده از روتاری تبخیر شد و سپس ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر با تکان دادن شدید اضافه شد. سپس ۲/۵ میلی لیتر از مخلوط واکنش به لوله های آزمایشی توزیع گردید و ۰/۵ میلی لیتر از عصاره ها و BHT به آن اضافه شد. سپس مخلوط در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد انکوبه شد. جذب در زمان صفر ($t=0$) در طول موج ۴۹۰ نانومتر اندازه گیری شد. اندازه گیری جذب به فاصله های ۲۵ دقیقه ای ادامه یافت تا زمانی که رنگ بتا-کاروتن در لوله های شاهد محو شد ($t=125 \text{ min}$). فعالیت آنتی اکسیدانی به صورت درصد مهار نسبت به شاهد، بر اساس معادله ای که توسط Kulisic و همکاران (۲۰۰۴) پیشنهاد شده است، بیان شد:

$$\% \text{ Inhibition} = [(AA(125) - AC(125) / (AC(0) - AC(125))] \times 100$$

$AC(0)$ = جذب شاهد در لحظه آماده سازی محلول

$AC(125)$ = جذب شاهد بعد از ۱۲۵ دقیقه

$AA(125)$ = جذب نمونه بعد از ۱۲۵ دقیقه

۳-۳-۲. روش قدرت احیا کنندگی

۲/۵ لیتر از عصاره ها و BHT با ۲/۵ میلی لیتر از فری سیانید پتاسیم یک درصد و ۲/۵ میلی لیتر از بافر فسفات سدیم ۲۰۰ میلی مولار ($\text{pH} = 6.6$) مخلوط شدند و در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد برای ۲۰ دقیقه انکوبه شدند. سپس ۲/۵ میلی لیتر از تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد اضافه شد و مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. لایه بالایی (۲/۵ میلی لیتر) با ۲/۵ میلی لیتر آب دیونیزه شده و ۰/۵ میلی لیتر کلرید آهن ۰/۱ درصد مخلوط شد. جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر نسبت به بلانک اندازه گیری شد. افزایش جذب مخلوط واکنش با قدرت احیا کنندگی بیشتر همبستگی دارد (Ardestani and Yazdanparas, 2007).

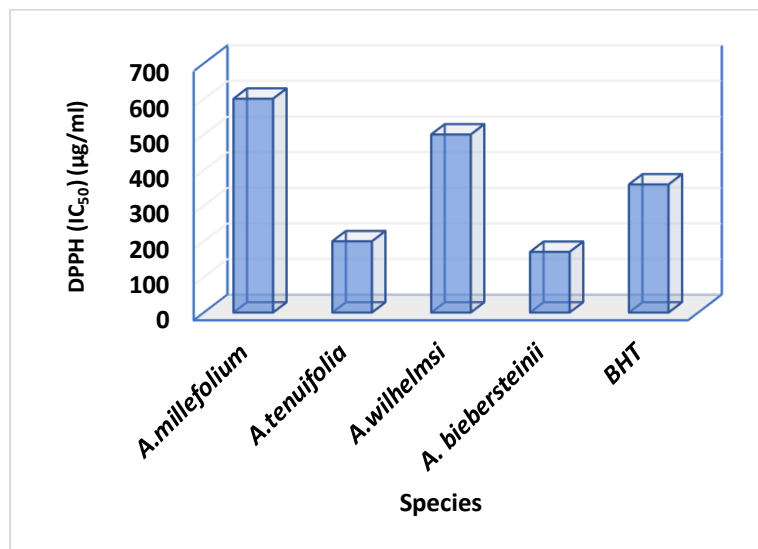
۳-۴. طرح آزمایشی

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نمودارها با نرم افزار Excel 2016 ترسیم گردید.

۳. نتایج

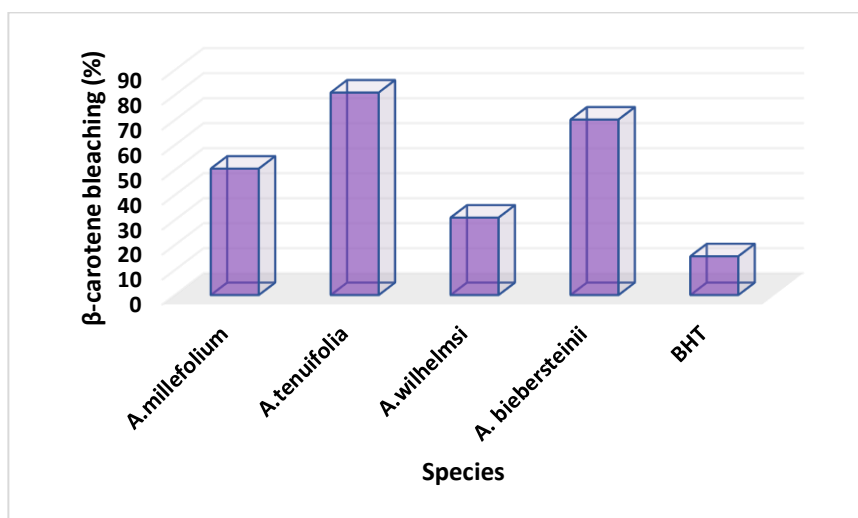
روش DPPH یک روش آسان، سریع و حساس برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی یک ترکیب خاص یا عصاره های گیاهی است. در این تست، آنتی اکسیدان ها با رادیکال DPPH واکنش می دهند و آن را به یک ترکیب زرد رنگ دی فنیل پیکریل هیدرازین تبدیل می کنند. میزان واکنش به توانایی اهدای هیدروژن آنتی اکسیدان ها بستگی دارد و می توان آن را با اندازه گیری کاهش جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری کرد (Bouteche et al., 2024). در مطالعه حاضر، توانایی عصاره های متانولی چهار گونه بومادران در از بین بردن رادیکال آزاد DPPH مقایسه شد (شکل ۱). با ترسیم نمودار غلظت عصاره ها در برابر فعالیت از بین بردن دگی، غلظت خاصی از نمونه که نیاز به ۵۰ درصد مهار دارد (IC_{50}) محاسبه شد. فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر با

غلظت پایین تر ترکیبات فنلی برای دستیابی به ۵۰ درصد مهار نشان داده شده است. تمام عصاره ها از نظر خواص مهارکنندگی تفاوت معنی داری نشان دادند ($P < 0.05$). مقدار IC_{50} در محدوده ۳۵۹/۹۲ تا ۶۰۰/۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر متغیر بود (شکل ۱). بر اساس مقادیر IC_{50} تنها دو گونه *A. tenuifolia* و *A. biebersteinii* فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری (مقادیر IC_{50} پایین تر) نسبت به BHT نشان دادند. بالاترین و پایین ترین فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب در گونه های *A. biebersteinii* و *A. millefolium* مشاهده شد. Gharibi و همکاران (۲۰۱۳) فعالیت آنتی اکسیدانی سه گونه بومادران بومی ایران را گزارش کردند. مشابه با نتایج این مطالعه، در تحقیق آن ها نیز هر سه گونه فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری در مقایسه با BHT نشان دادند. تفاوت در مقادیر IC_{50} میان گونه ها ممکن است به تفاوت در میزان ترکیبات پلی فنولی آن ها نسبت داده شود (Doğan and Meydan).



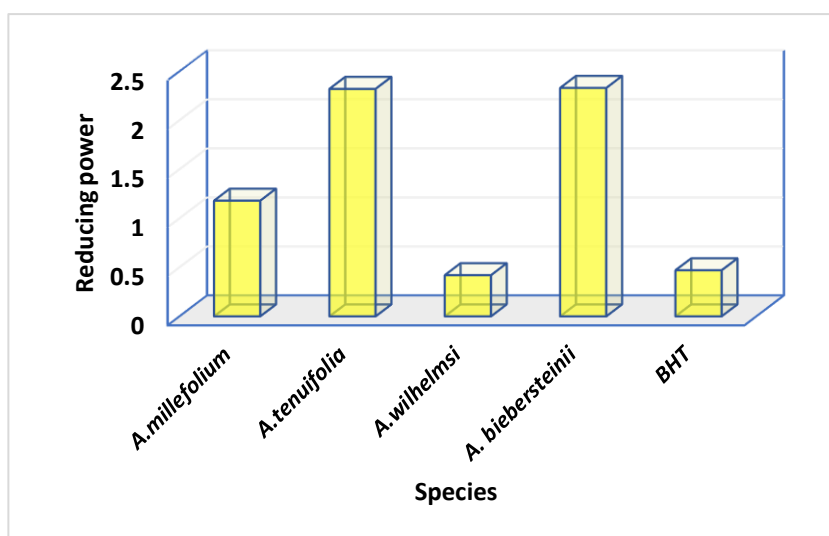
شکل ۱. فعالیت روبندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره های متانولی گونه های مختلف بومادران در مقایسه با BHT

اثر آنتی اکسیدانی عصاره های بومادران و همچنین BHT در سیستم مدل β -کاروتن/اسید لینولئیک در شکل ۲ نشان داده شده است. در این روش، عصاره های متانولی گونه های بومادران توانایی بیشتری در جلوگیری از اکسیداسیون اسید چرب در مقایسه با BHT نشان دادند. در میان گونه ها، *A. tenuifolia* بالاترین و *A. wilhelmsi* پایین ترین فعالیت آنتی اکسیدانی را داشت. احتمالاً BHT دارای قطبی بودن بالاتر نسبت به عصاره های متانولی بومادران بود و بنابراین فعالیت پایین تری در از بین بردن رادیکال های آزاد در فاز روغن β -کاروتن/اسید لینولئیک نشان داد (Gharibi et al., 2015).



شکل ۲. اثر بازدارندگی عصاره‌های متانولی بومادران بر روی سفیدکنندگی بتا کاروتن در مقایسه با BHT

توانایی فراکسیون آنتی اکسیدانی در احیاء Fe^{3+} به Fe^{2+} نشان دهنده قدرت احیاکنندگی آنتی اکسیدان است. در این روش، ظرفیت احیاکنندگی با تغییرات رنگ محلول از زرد به طیف‌های مختلف سبز و آبی در حضور عصاره متانولی گونه‌های بومادران و آنتی اکسیدان شاهد تعیین می‌شود (Ardestani and Yazdanparast, 2007). تغییرات رنگی را می‌توان با اندازه‌گیری جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر مشاهده نمود (Zhu et al., 2011). در این سیستم مدل، *A. wilhelmsi* قدرت احیاکنندگی کمتری نسبت به BHT نشان دادند (شکل ۳). مشابه آزمون DPPH، قوی‌ترین قدرت برای *A. biebersteinii* و *A. tenuifolia* در غلظت ۵۰۰ ppm یافت شد، در حالی که *A. wilhelmsi* ضعیف‌ترین فعالیت را نشان داد.



شکل ۳. قدرت احیاکنندگی عصاره متانولی گونه‌های مختلف بومادران در مقایسه با BHT



۴. بحث و نتیجه گیری

گیاهان دارویی با فعالیت آنتی اکسیدانی قوی، جایگزین طبیعی امیدبخشی برای آنتی اکسیدانهای سنتزی در صنایع غذایی و دارویی محسوب می شوند. این مطالعه به ارزیابی پتانسیل آنتی اکسیدانی چهار گونه بومادران با استفاده از روش های مختلف پرداخت و تفاوت های قابل توجهی را در توانایی روبندگی رادیکال آزاد و قدرت احیا کنندگی آنها آشکار ساخت. آزمون روبندگی رادیکال DPPH تفاوت های چشمگیری را در فعالیت های آنتی اکسیدانی گونه های مختلف بومادران نشان داد. مقادیر IC₅₀ در محدود ۳۵۹/۹۲ تا ۶۰۰/۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر متغیر بود که نشان دهنده تنوع قابل توجه در توانایی اهدای هیدروژن است. گونه های *A. tenuifolia* و *A. biebersteinii* مطلوب ترین فعالیت های آنتی اکسیدانی را نشان دادند و به عملکرد آنتی اکسیدان استاندارد BHT بسیار نزدیک بودند. این تغییرات احتمالاً ناشی از تفاوت در محتوای ترکیبات پلی فنولیک و فلاونوئیدی است که تأثیر قابل توجهی بر ظرفیت های آنتی اکسیدانی دارند. روش سفید کنندگی بتا-کاروتن/اسید لینولئیک بینش هایی در مورد توانایی گونه ها برای مهار پراکسیداسیون لیپیدی ارائه داد. به طور جالب توجه، تمام گونه های بومادران عملکرد برتری نسبت به BHT در جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدی نشان دادند. *A. tenuifolia* بالاترین فعالیت را داشت که نشان دهنده پتانسیل بالای آن به عنوان یک پایدار کننده لیپیدی طبیعی است. آزمون قدرت احیا کنندگی فریک (FRAP) نیز پتانسیل آنتی اکسیدانی این گونه ها را تأیید کرد. *A. biebersteinii* و *A. tenuifolia* در غلظت ۵۰۰ پی پی ام قوی ترین توان احیا کنندگی را نشان دادند که بیانگر توانایی آنها در تبدیل آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی است. عملکرد مداوم و بالای *A. biebersteinii* و *tenuifolia* در آزمون های مختلف آنتی اکسیدانی نشان می دهد که این گونه ها حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات زیست فعال با خواص آنتی اکسیدانی قوی هستند.

منابع

- Ardestani, A. and Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. Food Chemistry, (104): 21-29.
- Benedek, B., Kopp, B. and Melzig, M.F. (2007). *Achillea millefolium* L. s.l.-Is the antiinflammatory activity mediated by protease inhibition? Journal of Ethnopharmacology, 113: 312-317.
- Benzie, F. and Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay, Analytical Biochemistry, 239(1): 70-76.
- Bouteche, A., Touil, A., Akkal, S., Bensouici, C., and Nieto, G. (2024). Phenolic Constituents, Photoprotective Effect, and Antioxidant Capacities of *Achillea ligustica* All. Molecules, 29(17), 4112.
- Ceriello, A. 1993. Coagulation activation in diabetes mellitus: the role of hyperglycaemia and therapeutic prospects. Diabetologia, (36): 1119-1125.
- Doğan, D., and Meydan, İ. (2021). Antioxidant effect of *Achillea biebersteinii* in different extracts and extinguhishing activity on DPPH. Journal of Agriculture, 4(1), 1-9.
- Gharibi, S., Tabatabaei, B.E.S., Saeidi, G., Goli, S.A.H. and Talebi, M. (2013). Total phenolic content and antioxidant activity of three Iranian endemic *Achillea* species. Industrial Crop Production, (50): 154-158
- Gursoy, N., Sarikurcu, C., Cengiz, M. and Solak, M.H. (2009). Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven *Morchella* species. Food and Chemical Toxicology, (47): 2381-2388
- Konczak, I., Zabaras, D., Dunstan, M. and Aguas, P. (2010). Antioxidant capacity and phenolic compounds in commercially grown native australian herbs and spices. Food Chemistry, (122): 260-266.



- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V. and Milos, M. (2004). Use of different method for testing antioxidative activity of *oregano* essential oil. Food Chemistry, (85): 633–640.
- Pinelo, M., Rubilar, M., Sineiro, J. and Núñez, M.J. (2004). Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). Food Chemistry, (85): 267–273
- Rahimmalek, M., Sayed Tabatabaei, B.E., Etemadi, N., Goli, S.A.H., Arzani, A. and Zeinali, H. (2009). Essential oil variation among and within six *Achillea* species transferred from different ecological regions in Iran to the field conditions. Industrial Crop Production, 29: 348–355.
- Rechinger, KH. (1963). Flora Iranica. No. 158. Akademische Druke-U. Verlagsanstalt, Wien, Austria, pp. 49–71.
- Shahidi, F. and Wanasundara, P. (1992). Phenolic antioxidants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, (32): 67–103.
- Trumbeckaite, S., Benetis, R., Bumblauskiene, L., Burdulis, D., Janulis, V., Toleikis, A., Viškelis, P. and Jakštas, V. (2011). *Achillea millefolium* L. s.l. herb extract: Antioxidant activity and effect on the rat heart mitochondrial functions. Food Chemistry, 15: 1540–1548.
- Zhu, KX., Lian, C.X., Guo, X.N., Peng, W. and Zhou H.M. (2011). Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. Food Chemistry, (126): 1122–1126.



نانوآمولسیون های روغن در آب حاوی بربرین در روغن زیتون: مکانیسم های اتصال به آلبومین سرم انسانی یا هولوترانسفرین و شبیه سازی های QMMD

آتنا شریفی راد^۱، جمشید مهرزاد^{۱*}، مجید درودی^۲، محمد رضا صابری^۳، جمشید خان چمنی^۴

^۱گروه بیوشیمی دانشکده علوم واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی نیشابور (mehrzhadjam@yahoo.com)

^۲مرکز پژوهش پزشکی هسته ای دانشگاه علوم پزشکی، مشهد، مشهد

^۳گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد

^۴گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد

چکیده

بربرین در طب سنتی برای درمان دیابت مورد استفاده قرار می گیرد. هدف این مطالعه توسعه ی روشی برای تهیه ی نانوذرات بربرین (Nano-Ber) به منظور بهبود حلالیت آن در فاز آبی و بررسی نحوه ی تشکیل کمپلکس آن با آلبومین سرم انسانی (HSA) و هولوترانسفرین (HTF) از منظر رفتارهای تعاملی است. برای تهیه Nano-Ber، روغن زیتون به عنوان فاز روغنی، توپین ۸۰ به عنوان سورفکتانت و اسپن ۶۰ به عنوان کوسورفکتانت استفاده شد. نانوذرات بربرین با شکل کروی و اندازه ی متوسط 376 ± 43 نانومتر به دست آمدند که نسبت بهینه ی روغن: سورفکتانت: کوسورفکتانت در آن ها ۱:۲:۲ (w/w/w) بود. اثرات سمیت سلولی Nano-Ber و بربرین روی سلول های HepG2 از طریق آزمون MTT بررسی شد و در غلظت های تا ۰/۱ میلی مولار آشکار شد. ثابت های اتصال برای تشکیل کمپلکس های HSA-Nano-Ber و Ber-HTF-Nano-Ber به ترتیب $10^4 \times (2/93 \pm 0/02)$ و $10^4 \times (9/62 \pm 0/03)$ M^{-1} تعیین شدند. نیروهای غالب در کمپلکس های HSA-Nano-Ber و Ber-HTF-Nano-Ber، پیوندهای هیدروژنی و برهم کنش های واندروالسی بودند و نتایج شبیه سازی نشان داد که مولکول های Nano-Ber از طریق برهم کنش های هیدروفیل و هیدروفوب بر سطح تجمعات نهایی تثبیت می شوند.

واژگان کلیدی: آلبومین سرم انسانی، بربرین، روغن زیتون، نانوآمولسیون.



۱. مقدمه

هیدروکلرید بربرین (بربرین) جزء فعال اصلی Rhizoma Coptidis است که به عنوان یکی از مهم ترین ترکیبات دارویی در جنوب ایران برای درمان دیابت و التهاب استفاده می شود. با این حال، حلالیت پایین بربرین در آب، نرخ انحلال و فراهمی زیستی خوراکی آن را تحت تأثیر قرار داده و کاربرد بالینی آن را محدود می کند. این ترکیب در متانول به صورت اندک، در اتانول کمی و در آب بسیار کم محلول است. از دیدگاه زیست داروسازی، بربرین ترکیبی آب دوست است و مقدار $\log P$ آن برابر با ۱/۵- بوده که آن را در دسته داروهای کلاس III طبقه بندی می کند. داروهای این دسته معمولاً لیپوفوب بوده و نفوذپذیری غشایی کمتری دارند که منجر به جذب محدود آن ها در مسیر پاراسلولار روده و در نتیجه فراهمی زیستی پایین می شود. بنابراین، توسعه ی یک سامانه ی نوین انتقال دارو به منظور بهبود حلالیت و فراهمی زیستی بربرین از اهمیت بالایی برخوردار است. در سال های اخیر، مطالعات نشان داده اند که کاهش اندازه ی ذرات بربرین تا مقیاس نانو، حلالیت و فراهمی زیستی آن را به طور چشمگیری بهبود می بخشد. نانوامولسیون ها سیستم هایی پایدار از نظر ترمودینامیکی هستند که در آن ها ذرات روغن و آب با اندازه های کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر در حضور یک سورفکتانت تثبیت شده اند. این سامانه ها راهکاری امیدبخش برای انتقال داروهای نامحلول در آب به منظور بهبود فراهمی زیستی و تنظیم ویژگی های رهایش دارو محسوب می شوند. از آنجا که پروتئین های سرم نظیر آلبومین انسانی (HSA) و هولوترانسفرین (HTF) نقش کلیدی در انتقال و پخش داروها دارند، بررسی نحوه ی برهم کنش بربرین با این پروتئین ها حائز اهمیت است. تاکنون اطلاعات گسترده ای در مورد فعالیت زیستی-Nano-Ber ارائه شده، اما بررسی تعاملی آن با HSA و HTF هنوز به طور کامل مطالعه نشده است. هدف این پژوهش، توسعه ی یک سامانه ی نانوامولسیونی برای انتقال Nano-Ber با استفاده از روغن زیتون به عنوان فاز روغنی و بررسی تعاملات آن با HSA و HTF با استفاده از روش های اسپکتروسکوپی و شبیه سازی دینامیک مولکولی است.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. مواد مورد استفاده

• بربرین (خلوص > ۹۹٪، Sigma Chemical Co, USA)

• توین ۸۰ و اسپن ۶۰ (Merck, Germany)

• روغن زیتون (Golsorkh Exir Co., Iran)

• آلبومین سرم انسانی (HSA) و هولوترانسفرین (HTF) (Sigma-Aldrich, USA)

۲-۲. تهیه ی نانوذرات بربرین (Nano-Ber)

Nano-Ber با استفاده از روش نانوامولسیون روغن در آب تهیه شد. فاز روغنی شامل روغن زیتون، توین ۸۰ و اسپن ۶۰

در نسبت ۱:۲:۲ (w/w/w) مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه تحت تکان دادن قرار گرفت.



سپس ۳۲۰ میلی گرم بربرین به این فاز اضافه شد و محلول به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه هم زده شد. پس از رسیدن به تعادل در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، نمونه سانتریفیوژ شده و بربرین نامحلول از طریق فیلتر غشایی ۰/۴۵ میکرونی حذف شد. سپس نمونه در حمام التراسونیک قرار گرفت تا محلولی همگن به دست آید.

۲-۳. مشخصه یابی نانوذرات

• اندازه گیری اندازه ی ذرات و زتا پتانسیل: با استفاده از دستگاه Zetasizer Nano ZS

• بررسی مورفولوژی: از طریق میکروسکوپ الکترونی عبور (TEM)، میکروسکوپ الکترونی نشر میدانی (FESEM)

و میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM)

۲-۴. فعالیت آنتی اکسیدانی و سنجش سمیت سلول

فعالیت پاکسازی رادیکال های آزاد (RSA) نانوذرات از طریق کاهش DPPH^0 با استفاده از روش طیف سنجی ساده مورد بررسی قرار گرفت (Joung؛ 1995، Berset و Cuvelier، Brand-Williams و همکاران، ۲۰۱۶). برای این کار، محلول متانولی تازه ای از رادیکال های DPPH^0 با غلظت ۰/۱ میلی مولار تهیه شد. در غیاب ترکیبات آنتی اکسیدانی، این رادیکال برای بیش از ۳ ساعت پایدار باقی ماند. برای ارزیابی فعالیت پاکسازی رادیکال، ۱۰۰ میکرو لیتر از هر نمونه با ۵۰۰ میکرو لیتر محلول متانولی (0.1 DPPH^0 میلی مولار) مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و با تکان دادن شدید نگهداری شد. سپس، میزان کاهش جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از طیف سنج فرابنفش-مرئی (Jasco, V-630, Japan) اندازه گیری شد. درصد مهار رادیکال DPPH^0 محاسبه شد: اگر مقدار انحراف معیار بیشتر از ۱۰٪ بود، آزمایشات مجدداً برای تأیید صحت مقادیر تکرار شدند. هر نمونه سه بار مورد آزمایش قرار گرفت و میانگین نتایج همراه با انحراف معیار ارائه شد. سنجش سمیت سلولی: سلول های کبدی انسان (HepG2) از مؤسسه پاستور تهران، ایران تهیه شدند. این سلول ها در محیط DMEM حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) و آنتی بیوتیک پنی سیلین / استرپتومایسین (۱۰۰ واحد در میلی لیتر) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵٪ CO_2 کشت داده شدند. تمامی تیمارها در شرایط مشابه و با تراکم سلولی مناسب برای رشد نمای انجام شدند. برای بررسی سمیت نانوذره بربرین (Nano-Ber)، از روش MTT استفاده شد (Pal و همکاران، ۲۰۱۹). به طور خلاصه، حدود سلول در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه ای کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵٪ CO_2 در معرض Nano-Ber قرار گرفتند. سپس، ۱۰ میکرو لیتر از محلول (MTT 1 میلی گرم در میلی لیتر) به سلول ها اضافه شد و برای ۴ ساعت دیگر در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵٪ CO_2 انکوبه شد. پس از شستشو با PBS، بلورهای تشکیل شده در بافر حلال MTT حل شدند و جذب نوری آن ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از میکرو پلیت خوان اندازه گیری شد داده ها با گروه کنترل مقایسه شدند.

۲-۵. اندازه گیری های طیف سنجی فلورسانس

آزمایش های فلورسانس با استفاده از طیف سنج فلورسانس (Hitachi F-2500) مجهز به لامپ زنون ۱۵۰ وات و سل کوارتزی با طول مسیر ۱ سانتی متر انجام شد. شکاف های ورودی و خروجی طیف سنج بر روی ۱۰ نانومتر تنظیم شدند. برای این آزمایش، ۲ میلی لیتر از محلول حاوی غلظت مناسب از پروتئین های پلازما به طور دستی با نانوذره بربرین (Nano-Ber) تیترا شد



(با غلظت نهایی میلی مولار). طول موج تحریک برای تریپتوفان ۲۸۰ نانومتر و طول موج نشر بین ۳۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر تنظیم شد. برای کاهش اثرات جذب درونی، شدت‌های فلورسانس تصحیح شده محاسبه شد: که در آن: • شدت تصحیح شده فلورسانس • شدت مشاهده شده فلورسانس • جذب در طول موج تحریک • جذب در طول موج نشر دی کرویسیم دایره‌ای (CD): طیف‌های دی کرویسیم دایره‌ای (CD) در بازه ۲۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر با فاصله ۰/۲ نانومتر به وسیله دستگاه Jasco J-815 مجهز به واحد کنترل دما ثبت شدند. نرم افزار Jasco Spectra Manager برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. سرعت اسکن ۵۰ نانومتر بر دقیقه، پهنای باند ۱ نانومتر و زمان پاسخ ۲ ثانیه تنظیم شد. دستگاه با استفاده از اسید کافور سولفونیک D-10 کالیبره شد. برای ثبت طیف‌ها از کووت کوارتزی با مسیر ۱ میلی متر استفاده شد.

۲-۶. طراحی سیستم

شبیه سازی سیستم شبیه سازی دینامیک مولکولی (MD) شامل روغن زیتون، سورفکتانت‌های اسپن ۶۰ و توئین ۸۰ و بربرین بود. مطالعات تجربی نشان دادند که نسبت بهینه روغن به سورفکتانت برای حل شدن بربرین ۱:۵:۲ است. به طور تئوری، ترکیب روغن زیتون شامل: ۰/۱۳/۸٪ اسیدهای چرب اشباع شده ۰/۷۳٪ اسیدهای چرب تک غیر اشباع ۰/۹/۷٪ اسیدهای چرب امگا-۶ • ۰/۷٪ اسیدهای چرب امگا-۳ است. مهم ترین اسیدهای چرب اشباع و چند غیر اشباع موجود در آن شامل اسید پالمیتیک، اسید استئاریک و اسید لینولئیک هستند. علاوه بر این، روغن زیتون سرشار از اسید اولئیک است. برای شبیه سازی نانومولسیون تجربی، غلظت هر ترکیب با استفاده از عدد آوگادرو به تعداد مولکول‌ها تبدیل شد. سیستم شبیه سازی نهایی بر اساس جدول ۱ در یک جعبه مکعبی با حجم نانومتر مکعب طراحی شد.

جدول ۱: تعداد هر جزء از سیستم نانومولسیون آماده شده برای شبیه سازی MD

Compound	Palmitic acid	Stearic acid	Oleic acid	Linoleic acid	Span 60	Tween 80	Berberine	Water	Na ⁺
No. of molecules	17	4	94	20	27	27	20	103134	115

۲-۷. شبیه سازی دینامیک مولکولی (MD Simulation)

ساختارهای اولیه مولکول‌ها در نرم افزار ChemDrawTM ترسیم شدند و پس از حداقل سازی اولیه انرژی، مولکول‌ها برای بهینه سازی نهایی به نرم افزار MOE 2015.1 وارد شدند. در این فرآیند، میدان نیروی Amber برای هر مولکول اعمال شد و تمامی هیدروژن‌های قطبی و غیر قطبی به ساختار اضافه شدند. از آنجایی که میدان نیروی مشخصی برای مولکول‌های کوچک تعریف نشده است، فایل‌های توپولوژی و مختصات ترکیبات با استفاده از سرور آنلاین SwissParam تولید شدند.

اجرای شبیه سازی دینامیک مولکولی: شبیه سازی دینامیک مولکولی (MD) با استفاده از نرم افزار GROMACS 2019 و بر اساس میدان نیروی (Vanommeslaeghe & MacKerell, 2012 Charmm all-atom) انجام شد (Thays Helena Borges et al. , 2019). اندازه جعبه شبیه سازی در نظر گرفته شد و مدل آب (TIP3P, 2014 Harrach & Drossel) برای پر کردن جعبه اضافه شد. حداقل سازی انرژی با استفاده از الگوریتم نزولی تندترین شیب (steepest descent algorithm) انجام شد. سپس، سیستم با استفاده از ترموستات NVT در دمای ۳۰۰ کلوین برای ۱۰۰ پیکوثانیه (ps) گرم شد تا به تعادل برسد. در مرحله دوم تعادل سازی، از ترموستات NPT برای حفظ فشار ۱ بار در طول زمان شبیه سازی استفاده شد. در نهایت، شبیه سازی

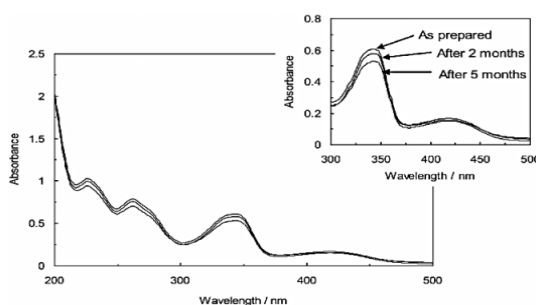
دینامیک مولکولی به مدت ۱۰۰ نانوثانیه (ns) با انتگرال گیر Leap-Frog انجام شد. در تمامی مراحل شبیه سازی، فایل های خروجی هر ۲ فمتوثانیه (fs) نوشته شدند و الگوریتم (Hess, Bekker, Berendsen, & Fraaije, 1997 LINCS) برای اعمال محدودیت بر روی تمامی پیوندها به کار گرفته شد. • برای برهم کنش های الکترواستاتیکی کوتاه برد و واندروالس، برش (1 cutoff نانومتر) در نظر گرفته شد. • برای برهم کنش های الکترواستاتیکی بلند برد، از روش (Particle-Mesh-Ewald) (Essmann et al., 1995) استفاده شد. • دما و فشار سیستم در طول شبیه سازی با استفاده از الگوریتم های جفت شدگی Berendsen, van Postma, van Gunsteren, DiNola,) ثابت نگه داشته شدند (Parrinello-Rahman, 1981; Haak, 1984; Parrinello & Rahman, 1981). تحلیل داده های شبیه سازی: برای بررسی مسیر حرکت مولکول ها، مرزهای تناوبی (Periodic Boundaries) حذف شدند و تعداد خوشه ها (clusters) در طول زمان شبیه سازی شمارش شد. مولکول های مجاور که فاصله ای کمتر از ۳/۵ آنگستروم (Å) از یکدیگر داشتند، به عنوان یک خوشه در نظر گرفته شدند. برای درک بهتر مکانیزم تجمع (Aggregation Mechanism)، تصاویر مختلفی از سیستم ثبت شدند و با نرم افزار MOE 2015.1 تجزیه و تحلیل شدند.

۳. نتایج

۳-۱. تشکیل و پایداری Nano-Ber

تشکیل نانوذرات بربرین را می توان از طریق اندازه گیری حداکثر پیک جذب با استفاده از طیف سنجی فرابنفش-مرئی (UV- Vis) در بازه ی طول موج ۲۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر بررسی کرد. Nano-Ber تهیه شده یک پیک جذب مشخص در طول موج ۳۴۰ نانومتر نشان داد (شکل ۱).

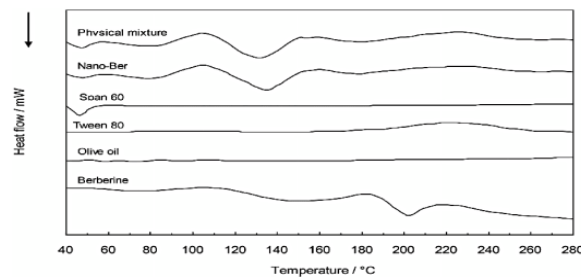
بررسی پایداری Nano-Ber در pH = 6.90 نشان داد که جذب این ترکیب در طولانی مدت کاهش یافته و پس از ۵ ماه افت بیشتری پیدا می کند. این موضوع حاکی از پایداری نسبی نانوامولسیون بربرین طی ماه های اولیه ذخیره سازی است.



شکل ۱. طیف مرئی UV نانوبربرین تهیه شده به وسیله / یک نانوامولسیون (بعد از ۲ ماه و ۵ ماه). طیف جذبی برای طول موج بین ۳۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر در قسمت داخلی نشان داده شده است.

۳-۲. تحلیل گرماسنجی روبشی تفاضلی (DSC)

تحلیل DSC برای بررسی رفتار حرارتی Nano-Ber و سایر اجزای سازنده انجام شد. در ترموگرام‌های ارائه شده، دما روی محور افقی و جریان حرارتی (افزایش گرماگیر) روی محور عمودی نمایش داده شده است. نتایج نشان داد که بربرین دارای یک پیک گرماگیر واضح در دمای حدود ۱۹۰ درجه‌ی سانتی گراد است که به نقطه‌ی ذوب آن نسبت داده می‌شود. حضور پیک‌های گرماگیر در بازه‌ی ۹۰ تا ۱۲۰ درجه‌ی سانتی گراد مربوط به از دست دادن آب از ساختار بربرین بود. با این حال، در ترموگرام Nano-Ber، این پیک حذف شده که نشان‌دهنده‌ی تغییر فاز بربرین از حالت بلوری به آمورف (بی‌شکل) است. این تغییر باعث افزایش حلالیت بربرین می‌شود.



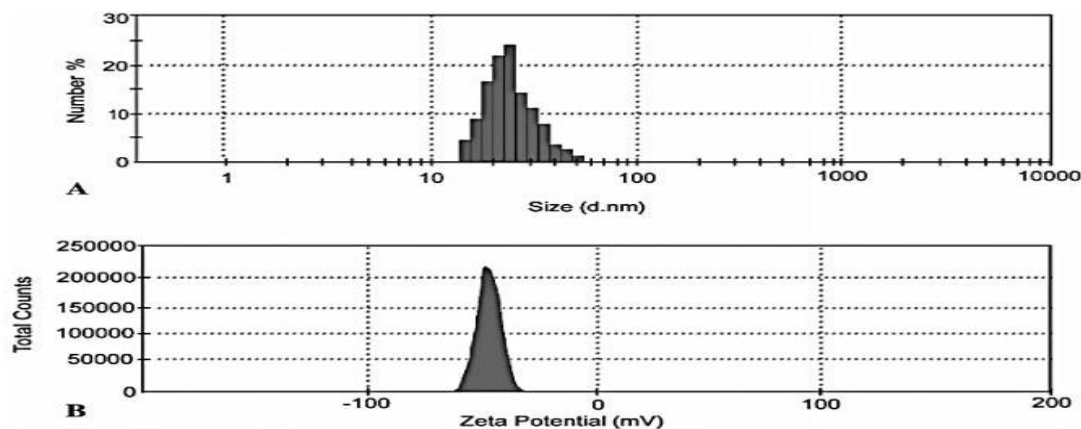
شکل ۲. پوششی از ترموگرام‌های DSC بربرین، روغن زیتون، توئین ۸۰، اسپن ۶۰، نانوبربرین و مخلوط فیزیکی آنها

۳-۳. اندازه‌گیری اندازه‌ی ذرات و زتا پتانسیل

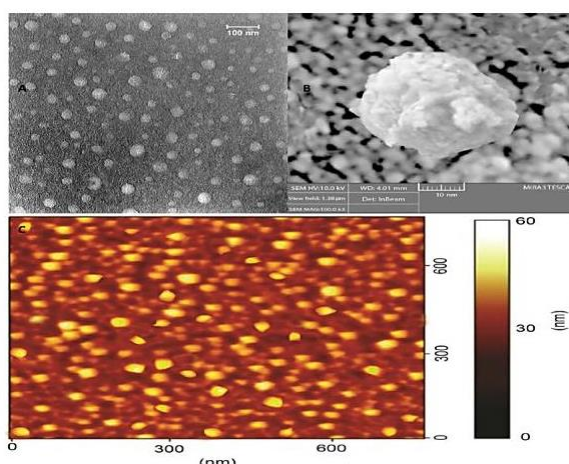
میانگین اندازه‌ی ذرات Nano-Ber برابر با $43/7 \pm 3/6$ نانومتر و شاخص پراکندگی (PDI) آن $0/425 \pm 0/101$ بود (شکل ۳ A)) مقدار پایین PDI نشان‌دهنده‌ی توزیع یکنواخت اندازه‌ی ذرات است. مقدار زتا پتانسیل Nano-Ber برابر با $-4/57 \pm 0/26$ میلی‌ولت بود (شکل ۳ B)) که نشان‌دهنده‌ی بار منفی سطح ذرات است. این مقدار بیانگر پایداری مناسب نانوامولسیون بوده و از تجمع ذرات جلوگیری می‌کند.

۳-۴. بررسی مورفولوژی Nano-Ber

بررسی‌های انجام شده با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، میکروسکوپ الکترونی نشر میدانی (FESEM) و میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) نشان داد که Nano-Ber دارای شکل کروی و توزیع یکنواخت است (شکل ۴). این ویژگی‌ها در افزایش سطح تماس و بهبود انحلال بربرین نقش دارند.



شکل ۳. خصوصیات نانوبربرین، A) نمودار تعداد ذرات بر حسب اندازه ذرات نانوبربرین، B) پتانسیل زتا نانوبربرین

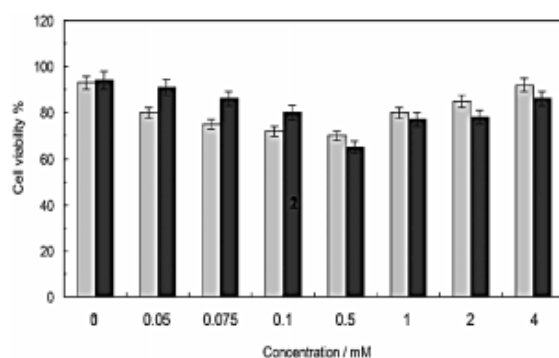


شکل ۴. (A) تصویر TEM با وضوح بالا، (B) تصویر FESEM، (C) تصویر AFM از نانوبرین آماده شده

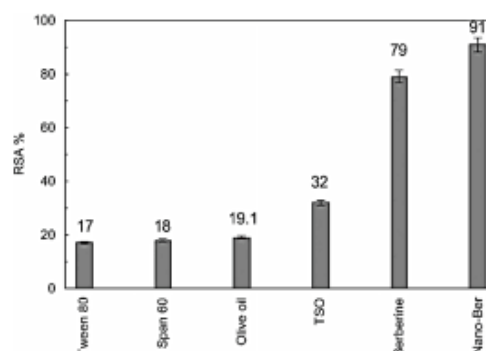
۳-۵. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و سمیت سلولی

فعالیت آنتی اکسیدانی Nano-Ber با آزمون DPPH بررسی شد (شکل ۵). نتایج نشان داد که Nano-Ber فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به بربرین دارد (حدود ۱۴٪ افزایش). این ویژگی به دلیل کاهش اندازه ذرات و افزایش گروه های OH قابل دسترس است که می توانند رادیکال های آزاد را کاهش دهند.

آزمون سمیت سلولی (MTT) نیز نشان داد که Nano-Ber در غلظت های پایین (تا ۰/۱ میلی مولار) سمیت قابل توجهی ندارد (شکل ۶). این نتایج بیانگر امکان استفاده از Nano-Ber در کاربردهای زیست پزشکی نظیر سیستم های انتقال دارو است.



(۶)



(۵)

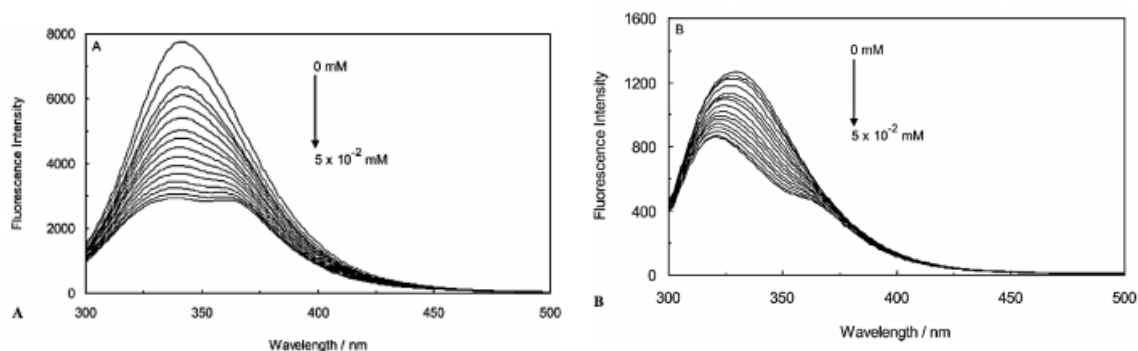
شکل ۵. سنجش DPPH بربرین، نانوبرین و سایر معرف های مورد استفاده. داده ها به صورت میانگین نشان داده میشود (SD±n=۳)

شکل ۶. اثر بربرین و نانوبرین بر زنده ماندن سلولهای HEPG2 همانطور که با روش MTT پس از ۴ ساعت ارزیابی شده. بربرین (ستون با رنگ خاکستری)، نانوبرین (ستون با رنگ مشکی)

۶-۳. بررسی خاموشی فلورسانس HSA و HTF در برهم کنش با Nano-Ber

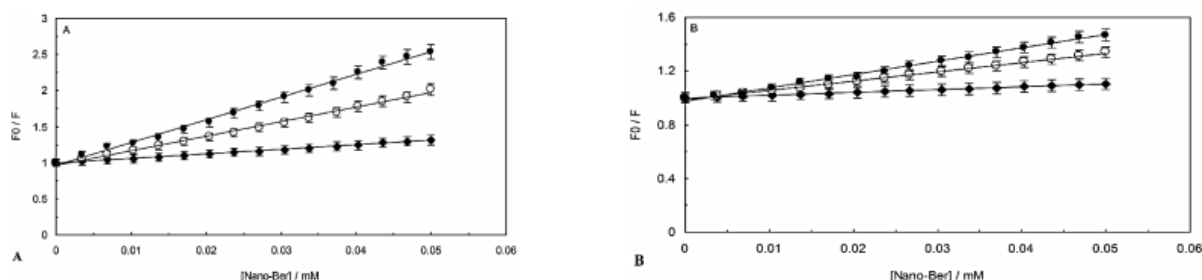
اسپکتروسکوپی فلورسانس برای مطالعه‌ی نحوه‌ی برهم کنش Nano-Ber با HSA و HTF استفاده شد. طیف‌های

فلورسانس نشان داد که با افزایش غلظت Nano-Ber، شدت نشر فلورسانس HSA و HTF کاهش می‌یابد (شکل ۷)



شکل ۷. طیف نشری فلورسانس از HSA (A) و HTF (B)، در غلظت‌های مختلف نانوبربری

جهت فلش افزایش غلظت نانوبربرین را نشان می‌دهد. $\lambda_{ex} = 280 \text{ nm}, T = 298 \text{ K}, PH = 7.4, [HSA] = [HTF] = 0.1 \text{ mM}$



شکل ۸. نمودار استرن ولمر برای: HAS-Nano-Ber (A) و HTF-Nano-Ber (B) در سه دمای مختلف: ۲۹۸ کلوین (دایره پر)، ۳۰۳ کلوین

(دایره خالی)، ۳۰۸ کلوین (لوزی پر)، $PH = 7.4; [HSA] = [HTF] = 0.1 \text{ mM}, [Nano - Ber] = 0.5 \times 10^{-2} \text{ mM}$

جدول ۲. ثابت خاموشی دینامیک و استاتیک استرن ولمر و پارامترهای ترمودینامیکی در برهم کنش با نانوبربرین در دماهای

مختلف

System	T (K)	$K_{sv} (M^{-1})$	$k_q (M^{-1}s^{-1})$	$K_s (M^{-1})$	$\Delta G^0 (kJ \text{ mol}^{-1})$	$\Delta H^0 (kJ \text{ mol}^{-1})$	$\Delta S^0 (J \text{ mol}^{-1}K^{-1})$
HSA-(Nano-Ber)	298	$(3.16 \pm 0.02) \times 10^4$	$(3.16 \pm 0.02) \times 10^{12}$	$(2.93 \pm 0.02) \times 10^4$	-25.48	-122.76	-325.49
	303	$(2.01 \pm 0.02) \times 10^4$	$(2.01 \pm 0.02) \times 10^{12}$	$(1.95 \pm 0.02) \times 10^4$	-24.86		
	308	$(0.63 \pm 0.02) \times 10^4$	$(0.63 \pm 0.02) \times 10^{12}$	$(0.57 \pm 0.02) \times 10^4$	-22.14		
HTF-(Nano-Ber)	298	$(9.89 \pm 0.03) \times 10^3$	$(9.89 \pm 0.03) \times 10^{12}$	$(9.62 \pm 0.03) \times 10^3$	-22.72	-125.09	-343.37
	303	$(6.91 \pm 0.03) \times 10^3$	$(6.91 \pm 0.03) \times 10^{12}$	$(6.55 \pm 0.03) \times 10^3$	-22.14		
	308	$(2.08 \pm 0.03) \times 10^3$	$(2.08 \pm 0.03) \times 10^{12}$	$(1.86 \pm 0.03) \times 10^3$	-19.28		

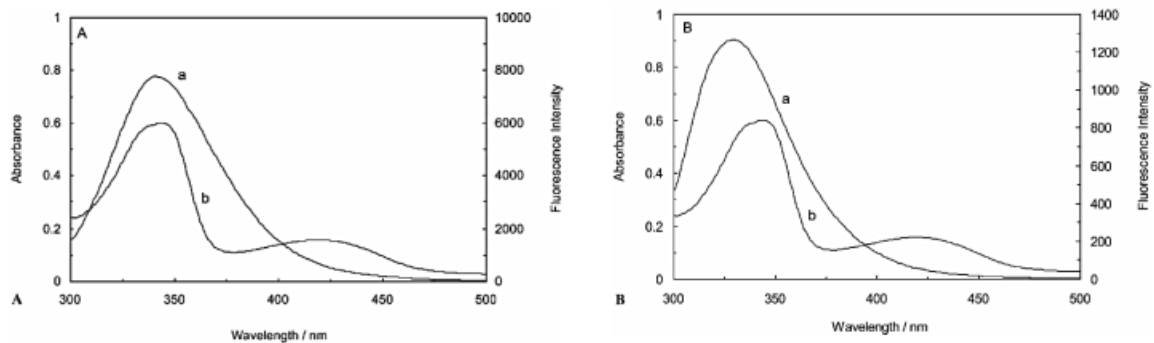


نتایج تحلیل‌های مدل استرن-ولمر نشان داد که فرآیند کوئچینگ (خاموشی فلورسانس) در کمپلکس‌های HSA-Nano-Ber و HTF-Nano-Ber از نوع استاتیک بوده و ثابت‌های اتصال در محدوده 10^3 تا 10^4 مول $^{-1}$ قرار دارند (جدول ۲). پارامترهای ترمودینامیکی نیز نشان دادند که برهم‌کنش‌ها عمدتاً تحت تأثیر پیوندهای هیدروژنی و نیروهای واندروالسی هستند. مقدار انرژی آزاد گیبس منفی بود که نشان‌دهنده فرآیند خودبه‌خودی تشکیل کمپلکس‌ها است.

۷-۳. انتقال انرژی بین Nano-Ber و HSA یا HTF

طیف جذبی نانوبربرین در محدوده ۲۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر در بافر فسفات با $\text{pH} = 7.4$ ثبت شد. فاصله کمتر از ۸ نانومتر بود و این بررسی هم‌پوشانی طیف‌های جذبی و نشر فلورسانس نشان داد که انتقال انرژی بین Nano-Ber و پروتئین‌ها به‌طور مؤثر رخ می‌دهد و یک خاموشی ایستا را گزارش می‌دهد. (شکل ۹).

فاصله‌ی بین دهنده (HSA/HTF) و گیرنده (Nano-Ber) به ترتیب $1/82$ و $2/16$ نانومتر تعیین شد که مطابق با نظریه‌ی انتقال انرژی غیرتابشی فورستر (FRET) است.

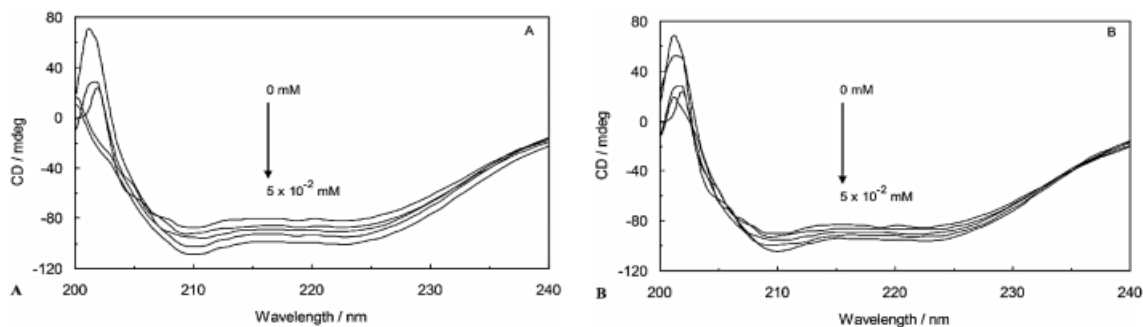


شکل ۹. همپوشانی طیف نشری فلورسانس (منحنی a) از HAS (A) و HTF (B)، با طیف جذبی (منحنی b) از نانوبربرین.

$$[HSA] = [HTF] = [Nano - Ber] = 5 \times 10^{-2} \text{ mM}$$

۸-۳. بررسی دورنگ نمای دورانی (CD) برای تغییرات ساختاری پروتئین‌ها

طیف سنجی CD برای بررسی تغییرات ساختاری HSA و HTF انجام شد (شکل ۱۰). نتایج نشان داد که اتصال Nano-Ber باعث افزایش محتوای آلفا-هلیکسی پروتئین‌ها شده که نشان‌دهنده‌ی پایداری ساختاری بالاتر آن‌ها است (جدول ۳).



شکل ۱۰. طیف سنجی CD از HAS (A) و HTF (B) پس از اتصال به نانوبربرین. جهت فلش افزایش غلظت نانوبربرین را نشان می‌دهد.

جدول ۳. ساختار ثانویه HSA و HTF در حضور و غیاب نانوبرین در غلظت های مختلف

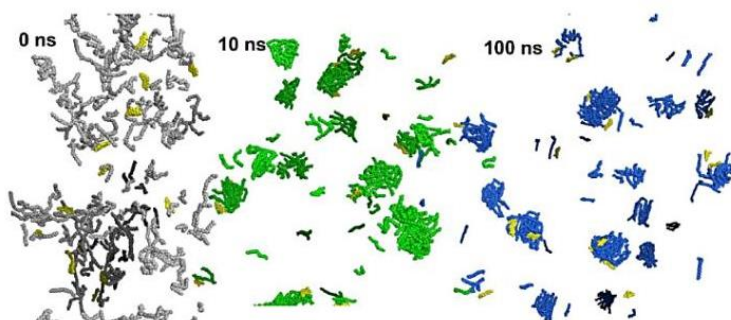
System	Alpha-helix%	Beta-pleated sheet%	Turn%	Unordered Coil%
HSA	53.97 ± 0.1	18.31 ± 0.1	13.48 ± 0.1	14.24 ± 0.1
HSA-(Nano-Ber, 0.02 mM)	55.27 ± 0.11	18.56 ± 0.11	13.63 ± 0.1	12.54 ± 0.1
HSA-(Nano-Ber, 0.05 mM)	56.09 ± 0.09	19.14 ± 0.09	13.69 ± 0.09	11.08 ± 0.09
HTF	37.12 ± 0.12	28.32 ± 0.12	15.37 ± 0.12	19.19 ± 0.12
HTF-(Nano-Ber, 0.02 mM)	37.49 ± 0.1	28.53 ± 0.1	15.42 ± 0.1	18.56 ± 0.1
HTF-(Nano-Ber, 0.05 mM)	38.07 ± 0.11	28.79 ± 0.11	15.59 ± 0.11	17.55 ± 0.11

۹-۳. شبیه سازی دینامیک مولکولی (MD)

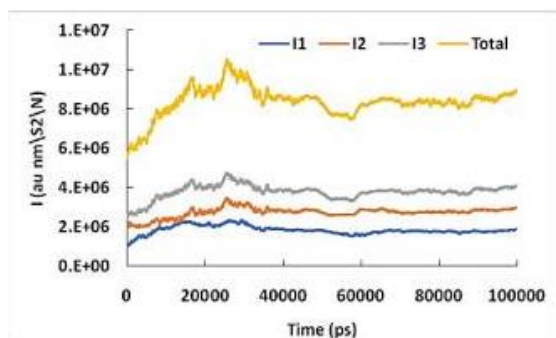
نتایج شبیه سازی دینامیک مولکولی نشان داد که مولکول های بربرین در سطح نانوذرات تثبیت شده و تجمعات نهایی را تشکیل می دهند (شکل ۱۱). تعداد خوشه ها طی ۲۰ نانوثانیه کاهش یافت و در مقدار ۶-۷ تثبیت شد (شکل ۱۲).

بررسی شعاع ژیراسیون (R_g) نشان داد که نانوذرات در طول شبیه سازی پایدار باقی می ماندند. نسبت گشتاورهای لختی اصلی برابر ۱:۱.۵:۲.۱ بود که نشان دهندهی شکل نزدیک به کروی نانوذرات است (جدول ۴).

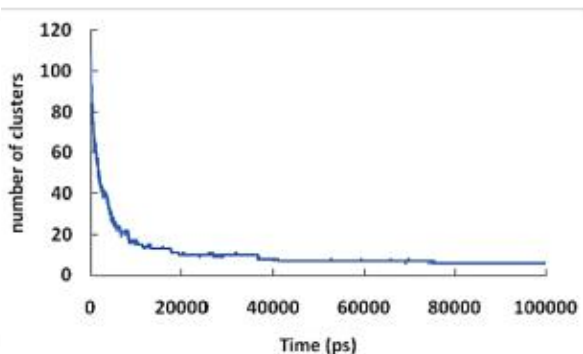
همچنین، محاسبات توزیع شعاعی (RDF) نشان داد که بربرین با گروه های چربی/سورفکتانت در فاصله ی ۰/۵۲ و ۹۴/۱۰ نانومتر تعامل دارد (شکل ۱۵). این امر نشان دهندهی استقرار بربرین در سطح نانوذرات با تعاملات الکترواستاتیکی است.



شکل ۱۱. تشکیل قطرات نانوامولسیون در فواصل زمانی مختلف، قرارگیری تصادفی مولکولها در ابتدای شبیه سازی (۰ نانوثانیه خاکستری)، بعد از ۱۰ نانوثانیه (سبز)، و در پایان شبیه سازی (آبی). در تمام شکل ها بربرین به صورت مولکولهای زرد رنگ نشان داده شده است.



۱۳



۱۲

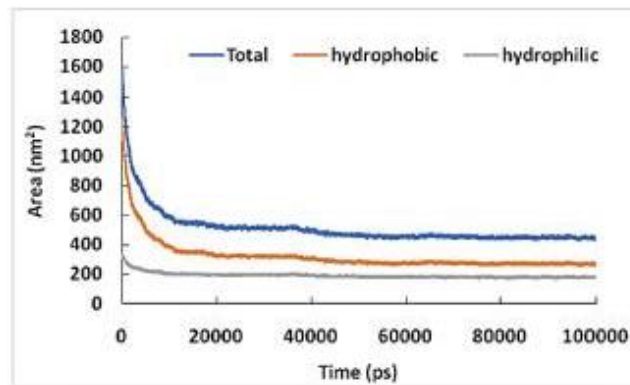
شکل ۱۲. شمارش تعداد کلاسرها در طول مدت شبیه سازی

شکل ۱۳. نوسانات شعاع ژیراسیوم در برابر زمان برای بزرگترین مجموعه در سیستم بربرین

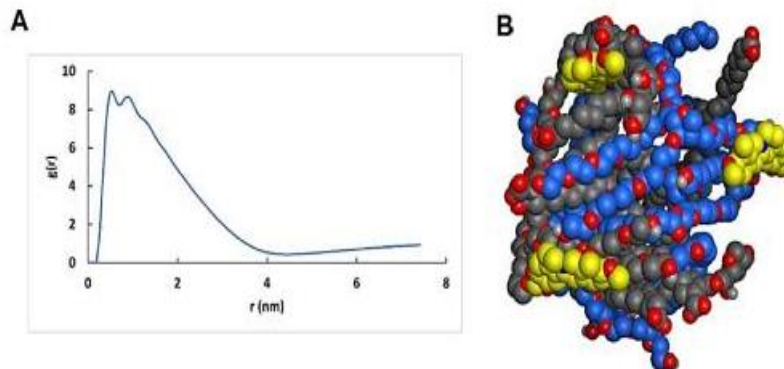


جدول ۳. خلاصه ای از ممان اینرسی و مقادیر اینرسی برای بزرگترین مجموعه ها در زمان ۹۰ تا ۱۰۰ نانوثانیه

I_1 (10^6 amu nm ²)	I_2 (10^6 amu nm ²)	I_3 (10^6 amu nm ²)	Total (10^6 amu nm ²)	$I_1:I_2:I_3$	e
1.8	2.9	4	8.8	1:1.5:2.1	0.4



شکل ۱۴. نوسانات سطح در دسترس حلال به صورت تابعی از زمان در سیستم بربرین-توئین ۸۰. سطح در دسترس کل (آبی)، سطح در دسترس هیدروفوبیک (نارنجی) و سطح در دسترس هیدروفیلیک (خاکستری) در طی ۱۰۰ نانوثانیه شبیه سازی.



شکل ۱۵. سازوکار تشکیل نانوذرات

A: توابع توزیع شعاعی بین بربرین و مولکولهای روغن_امولسیون کننده در برابر فاصله. B: ساختار یکی از تجمعات موجود در آخرین نانوثانیه از شبیه سازی. بربرین به رنگ زرد، امولسیون کننده ها به رنگ آبی، و اسیدهای چرب به رنگ خاکستری، گروههای عملکردی قطبی به رنگ قرمز.

۴. بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه روش امولسیون سازی روغن در آب در تهیه نانوذرات بربرین استفاده شد. با تهیه نانوامولسیون بربرین، قابلیت زیست پذیری و حلالیت در آب بربرین افزایش می یابد. نانوامولسیون بربرین حاوی روغن زیتون به عنوان یک فاز مناسب روغنی (به دلیل خواص منحصر به فرد و مزایای درمانی آن مانند گوارشی، ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی) همزمان خاصیت بربرین و روغن زیتون را داراست. فرمولاسیون بهینه این نانوامولسیون در نسبت های ۱:۲:۲ از توئین ۸۰، اسپن ۶۰ و روغن حاصل گردید. با توجه به تصاویر میکروسکوپ الکترونی شکل بیضی در محدوده ی ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر و اندازه ذرات $43/7 \pm 3/6$ نانومتر به دست آمد. این نانوامولسیون می تواند حداقل برای ۵ ماه پایدار باقی بماند. فعالیت های آنتی اکسیدان تایید کرده است



که نانوامولسیون بربرین حاوی روغن زیتون دارای پتانسیل بالاتری نسبت به بربرین خالص می باشد و می تواند در ایجاد اثرات مفید سلامت از طریق کاربردهای درمانی و غذایی مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این آزمایش میزان سمیت نشان داد که نانوبربرین در غلظت مورد استفاده فاقد خاصیت سمی می باشد. همچنین نانوامولسیون با هر دو پروتئین آلبومین سرم انسانی و هالوترانسفرین برهمکنش دادند و تمایل برهمکنش با هر دو پروتئین بررسی شد. با توجه به تجزیه و تحلیل در طیف FRET انتقال انرژی از پروتئین به نانوبربرین دال بر تشکیل کمپلکس میان آن دو است و رفتار استاتیک را در برهمکنش میان پروتئین و نانوبربرین نشان می دهد. افزایش پیوندهای هیدروژنی در پروتئین ها در اثر برهمکنش با نانو بربرین گویای افزایش ساختار در هر دو پروتئین می باشد. مطالعه شبیه سازی دینامیک مولکولی نانوامولسیون بربرین درک و بینش بهتری از فرایند خود تجمعی در این سیستم در اختیار قرار داده است. نتایج نشان داد که طی شبیه سازی مجموعه هایی دوکی و یا تقریباً کروی ایجاد می شود. حضور بربرین زمان رسیدن به تعادل را تسریع کرده و سیستم های متقارن تر و فشرده تر ایجاد می کند. از این مطالعات می توان برای تفسیر و کاربردی تر به عنوان افزایش دهنده های نفوذ شیمیایی و حامل های دارویی استفاده کرد.

منابع

- Abdul Rahman, M. B., Huan, Q.-Y., Tejo, B. A., Basri, M., Salleh, A. B., & Rahman, R. N. Z. A. (2009). Self-assembly formation of palm-based esters nano-emulsion: A molecular dynamics study. *Chemical Physics Letters*, 480(4–6): 220–224. doi:10.1016/j.cplett.2009.08.073
- Aboalnaja, K. O., Yaghmoor, S., Kumosani, T. A., & McClements, D. J. (2016). Utilization of nanoemulsions to enhance bioactivity of pharmaceuticals, supplements, and nutraceuticals: Nanoemulsion delivery systems and nanoemulsion excipient systems. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 13(9): 1327–1336. doi:10.1517/17425247.2016.1162154
- Akhtar, J., Siddiqui, H. H., Fareed, S., Badruddeen, K. M., & Aqil, M. (2016). Nanoemulsion: For improved oral delivery of repaglinide. *Drug Delivery*, 23(6): 2026–2034. doi:10.3109/10717544.2015.1077290
- Basniwal, R. K., Buttar, H. S., Jain, V., & Jain, N. (2011). Curcumin nanoparticles: Preparation, characterization, and antimicrobial study. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 59(5): 2056–2061. doi:10.1021/jf104402t
- Battu, S. K., Repka, M. A., Maddineni, S., Chittiboyina, A. G., Avery, M. A., & Majumdar, S. (2010). Physicochemical characterization of berberine chloride: A perspective in the development of a solution dosage form for oral delivery. *AAPS PharmSciTech*, 11(3): 1466–1475. doi:10.1208/s12249-010-9520-y
- Bendini, A., Cerretani, L., Carrasco-Pancorbo, A., Gomez-Caravaca, A. M., -Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutiérrez, A., & Lercker, G. (2007). Phenolic molecules in virgin olive oils: A survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade Alessandra. *Molecules*, 12(8): 1679–1719. doi:10.3390/12081679
- Berendsen, H., van Postma, J. P. M., van Gunsteren, W., DiNola, A. D., & Haak, J. R. (1984). Molecular-dynamics with coupling to an external bath. *Journal of Chemical Physics*, 81: 3684.
- Borges, T. H., Serna, A., Lopez, L. C., Lara, L., Nieto, R., & Seiquer, I. (2019). Composition and antioxidant properties of Spanish extra virgin olive oil regarding cultivar, harvest year and crop stage. *Antioxidants*, 8(7): 217. doi:10.3390/antiox8070217
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1): 25–30. doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- Carter, D. C., & Ho, J. X. (1994). Structure of serum albumin. *Advances in Protein Chemistry*, 45: 153–203. doi:10.1016/s0065-3233(08)60640-3



- Chamani, J., Vahedian-Movahed, H., & Saberi, M. R. (2011). Lomefloxacin promotes the interaction between human serum albumin and trans- ferrin: A mechanistic insight into the emergence of antibiotic's side effects. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 55(1): 114–124. doi:10.1016/j.jpba.2010.12.029
- Chanphai, P., Ouellette, V., B-erub-e, G., & Tajmir-Riahi, H. (2018). Conjugation of testo and testo-Pt (II) with serum proteins: Loading efficacy and protein conformation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 118: 1112–1119. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.06.186
- Chanphai, P., & Tajmir-Riahi, H. (2019). Conjugation of vitamin C with serum proteins: A potential application for vitamin delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, 137: 966–972. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.07.059
- Cheng, Y.-H., Wang, Z., & Xu, S.-Y. (2006). Antioxidant properties of wheat germ protein hydrolysates evaluated in vitro. *Journal of Central South University of Technology*, 13(2): 160–165.
- Doktycz, M., Sullivan, C., Hoyt, P., Pelletier, D., Wu, S., & Allison, D. (2003). AFM imaging of bacteria in liquid media immobilized on gelatin coated mica surfaces. *Ultramicroscopy*, 97(1–4): 209–216. doi:10.1016/S0304-3991(03)00045-7
- Essmann, U., Perera, L., Berkowitz, M. L., Darden, T., Lee, H., & Pedersen, L. G. (1995). A smooth particle mesh Ewald method. *The Journal of Chemical Physics*, 103(19): 8577–8593. doi:10.1063/1.470117
- Evans, L. W., Romanick, S. S., & Ferguson, B. S. (2017). Natural product inhibitors of acetyl-lysine erasers in the prevention and treatment of heart failure. *Functional Foods in Health and Disease*, 7(8):577–603.
- Harrach, M. F., & Drossel, B. (2014). Structure and dynamics of TIP3P, TIP4P, and TIP5P water near smooth and atomistic walls of different hydroaffinity. *Journal of Chemical Physics*, 140(17):174501. doi:10.1063/1.4872239
- He, X. M., & Carter, D. C. (1992). Atomic structure and chemistry of human serum albumin. *Nature*, 358(6383): 209–215. doi:10.1038/358209a0
- Hess, B., Bekker, H., Berendsen, H. J. C., & Fraaije, J. G. E. M. (1997). LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. *Journal of Computational Chemistry*, 18(12): 1463–1472. doi:10.1002/(SICI)1096-987X(199709)18:12<1463::AID-JCC4>3.0.CO;2-H
- James, M. A., Fu, H., Liu, Y., Chen, D. R., & You, M. (2011). Dietary admin- istration of berberine or Phellodendron amurense extract inhibits cell cycle progression and lung tumorigenesis. *Molecular Carcinogenesis*, 50(1): 1–7. doi:10.1002/mc.20690
- Joung, H. J., Choi, M. J., Kim, J. T., Park, S. H., Park, H. J., & Shin, G. H. (2016). Development of food-grade curcumin nanoemulsion and its potential application to food beverage system: Antioxidant property and in vitro digestion. *Journal of Food Science*, 81(3): N745–N753. doi: 10.1111/1750-3841.13224
- Kakran, M., Sahoo, N., Li, L., Judeh, Z., Wang, Y., Chong, K., & Loh, L. (2010). Fabrication of drug nanoparticles by evaporative precipitation of nanosuspension. *International Journal of Pharmaceutics*, 383(1–2): 285–292. doi:10.1016/j.ijpharm.2009.09.030
- Kamshad, M., Jahanshah Talab, M., Beigoli, S., Sharifirad, A., & Chamani, J. (2019). Use of spectroscopic and zeta potential techniques to study the interaction between lysozyme and curcumin in the presence of silver nanoparticles at different sizes. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 37(8) :2030–2040. doi:10.1080/07391102.2018.1475258
- Khani, S., Keyhanfar, F., & Amani, A. (2016). Design and evaluation of oral nanoemulsion drug delivery system of mebupine. *Drug Delivery*, 23(6), 2035–2043. doi:10.3109/10717544.2015.1088597
- Kim, H. R., Min, H.-Y., Jeong, Y. H., Lee, S. K., Lee, N. S., & Seo, E.-K. (2005). Cytotoxic constituents from the whole plant of corydalis pal- lida. *Archives of Pharmacal Research*, 28(11): 1224–1227. doi:10.1007/BF02978202
- MacKerell, A. D. (1995). Molecular dynamics simulation analysis of a sodium dodecyl sulfate micelle in aqueous solution: Decreased fluidity of the micelle hydrocarbon interior. *The Journal of Physical Chemistry*, 99(7): 1846–1855. doi:10.1021/j100007a011
- Madara, J. L. (1989). Loosening tight junctions. Lessons from the intes- tine. *Journal of Clinical Investigation*, 83(4): 1089–1094. doi:10.1172/ JCI113987



- Mokaberi, P., Reyhani, V., Amiri-Tehranizadeh, Z., Saberi, M. R., Beigoli, S., Samandar, F., & Chamani, J. (2019). New insights into the binding behavior of lomefloxacin and human hemoglobin using biophysical techniques: Binary and ternary approaches. *New Journal of Chemistry*, 43(21): 8132–8145.
- Mullauer, F. B., van Bloois, L., Daalhuisen, J. B., Ten Brink, M. S., Storm, G., Medema, J. P., ... Kessler, J. H. (2011). Betulinic acid delivered in lipo- some reduces growth of human lung and colon cancers in mice without causing systemic toxicity. *Anti-Cancer Drugs*, 22(3): 223– 233. doi:10.1097/CAD.0b013e3283421035
- Mun, S., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2005). Influence of droplet characteristics on the formation of oil-in-water emulsions stabilized by surfactant chitosan layers. *Langmuir*, 21(14): 6228–6234. doi:10.1021/la050502w
- Pal, K., Roy, S., Parida, P. K., Dutta, A., Bardhan, S., Das, S., ... Karmakar, P. (2019). Folic acid conjugated curcumin loaded biopolymeric gum acacia microsphere for triple negative breast cancer therapy in invitro and invivo model. *Materials Science and Engineering: C*, 95: 204–216. doi:10.1016/j.msec.2018.10.071
- Parrinello, M., & Rahman, A. (1981). Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. *Journal of Applied Physics*, 52(12):7182–7190. doi:10.1063/1.328693
- Patel, R. P., & Patel, M. M. (2007). Solid-state characterization and dissol- ution properties of lovastatin hydroxypropyl-b-cyclodextrin inclusion complex. *Pharmaceutical Technology*, 31(2): 72–82.
- Quintero-Florez, A., Sinausia Nieva, L., Sanchez-Ortiz, A., Beltran, G., & Perona, J. S. (2015). The fatty acid composition of virgin olive oil from different cultivars is determinant for foam cell formation by macrophages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(30): 6731–6738. doi:10.1021/acs.jafc.5b01626
- Rai, M., Pandit, R., Gaikwad, S., Yadav, A., & Gade, A. (2015). Potential applications of curcumin and curcumin nanoparticles: From traditional therapeutics to modern nanomedicine. *Nanotechnology Reviews*, 4(2): 161–172. doi:10.1515/ntrev-2015-0001
- Rao, P. J., & Khanum, H. (2016). A green chemistry approach for nanoen- capsulation of bioactive compound– Curcumin. *LWT - Food Science and Technology*, 65: 695–702. doi:10.1016/j.lwt.2015.08.070
- Shen, N., Li, C., Huan, Y., & Shen, Z. (2010). Advances of the mechanism study on berberine in the control of blood glucose and lipid as well as metabolism disorders. *Yao Xue Xue Bao 1/4 Acta Pharmaceutica Sinica*, 45(6): 699–704.
- Shid, R. L., Dhole, S. N., Kulkarni, N., & Shid, S. L. (2014). Formulation and evaluation of nanosuspension delivery system for simvastatin. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, 7: 2459–2476.
- Sonneville-Aubrun, O., Simonnet, J.-T., & L'allore, F. (2004). Nanoemulsions: A new vehicle for skincare products. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108: 145–149. doi:10.1016/j.cis.2003.10. 026
- Tan, W., Li, Y., Chen, M., & Wang, Y. (2011). Berberine hydrochloride: Anticancer activity and nanoparticulate delivery system. *International Journal of Nanomedicine*, 6: 1773–1777. doi:10.2147/IJN.S22683
- Tieleman, D. P., van der Spoel, D., & Berendsen, H. J. C. (2000). Molecular dynamics simulations of dodecylphosphocholine micelles at three dif- ferent aggregate sizes: Micellar structure and chain relaxation. *The Journal of Physical Chemistry B*, 104(27): 6380–6388. doi:10.1021/ jp001268f
- Vanommeslaeghe, K., & MacKerell, A. D. Jr. (2012). Automation of the CHARMM general force field (CGenFF) I: Bond perception and atom typing. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 52(12):3144–3154. doi:10.1021/ci300363c
- Wang, J., Wang, W., Kollman, P. A., & Case, D. A. (2006). Automatic atom type and bond type perception in molecular mechanical calculations. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 25(2):247–260. doi:10.1016/j.jmgm.2005.12.005
- Wang, S., Song, B., & Li, K. (2000). Determination of berberine in decocted liquid from shenshu granules with water by reversed-phase liquid chromatography. *Se Pu 1/4 Chinese Journal of Chromatography*, 18(3):261–262.



- Xie, Z., Huang, J., Xu, X., & Jin, Z. (2008). Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 111(2): 370–376. doi:10.1016/j.foodchem.2008.03.078
- Zaidi, N., & Khan, R. H. (2019). A biophysical insight into structural and functional state of human serum albumin in uremia mimic milieu. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131: 697–705. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.123
- Zhang, D., Li, A., Xie, J., & Ji, C. (2010). In vitro antibacterial effect of ber- berine hydrochloride and enrofloxacin to fish pathogenic bacteria. *Aquaculture Research*, 41(7): 1095–1100. doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02399.x
- Zhang, Y., Cui, Y.-L., Gao, L.-N., & Jiang, H.-L. (2013). Effects of b-cyclodex- trin on the intestinal absorption of berberine hydrochloride, a P- glycoprotein substrate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 59: 363–371
- Paliwal H., Nakpheng T., Paul P.K., Ananth K.P., Srichana T. Development of a self-microemulsifying drug delivery system to deliver delamanid via a pressurized metered dose inhaler for treatment of multi-drug resistant pulmonary tuberculosis. *Int. J. Pharm.* 2024;655:124031. doi: 10.1016/j.ijpharm.2024.124031. [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
- Kulkarni S., Prabhakar B., Shende P. Nanodiamond-based berberine aquasomes for enhancing penetration across epidermis to treat psoriasis. *Int. J. Pharm.* 2024;656:124051. doi: 10.1016/j.ijpharm.2024.124051. [DOI] [PubMed] [Google Scholar]
- National Research Council . Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. National Academies Press; Washington, DC, USA: 2011. [Google Scholar]
- Zhang X., Wu Y., Zhang M., Mao J., Wu Y., Zhang Y., Yao J., Xu C., Guo W., Yu B. Sodium cholate-enhanced polymeric micelle system for tumor-targeting delivery of paclitaxel. *Int. J. Nanomed.* 2017;12:8779–8799. doi: 10.2147/IJN.S150196. [DOI] [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]



بررسی اثر بیوچار و تغذیه گوگردی بر خصوصیات موفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی مرزه

محمد بهزاد امیری^{۱*}، وحید محمدزاده کاخکی^۲ و محمد حسین امینی فرد^۳

^۱ گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی گناباد، گناباد. (amiri@gonabad.ac.ir)

^۲ گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.

^۳ گروه باغبانی و مرکز پژوهشی گیاهان ویژه منطقه، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند.

^۴ گروه باغبانی و مرکز پژوهشی گیاهان ویژه منطقه، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند.

چکیده

به منظور بررسی اثر بیوچار و تغذیه گوگردی در مرزه، آزمایشی به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک های کامل تصادفی طی دو سال زراعی (۱۴۰۱-۱۳۹۹) در مجتمع آموزش عالی گناباد با سه تکرار انجام شد. مقادیر مختلف بیوچار (شامل مقادیر صفر، ۵، ۱۰ و ۲۰ تن در هکتار) به عنوان عامل اصلی و تیمارهای تغذیه ای گوگردی (شامل کاربرد خاکی گوگرد، محلول پاشی نانوکود گوگرد و شاهد) به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. نتایج آزمایش نشان داد که در هر دو سال زراعی بیشترین ارتفاع بوته (به ترتیب با ۴۱ و ۳۹ سانتی متر ارتفاع بوته در سال زراعی اول و دوم) و تعداد شاخه فرعی (با ترتیب با ۲۸ و ۳۰ شاخه فرعی در سال زراعی اول و دوم) در تیمار کاربرد تلفیقی ۲۰ تن در هکتار بیوچار و محلول پاشی نانوکود گوگرد بدست آمد. بیشترین تأثیر تیمارهای تغذیه ای گوگردی بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل زمانی بروز یافت که از آن ها همزمان با زغال زیستی استفاده گردید، به عنوان مثال میزان کلروفیل a در شرایط محلول پاشی نانوکود گوگرد همزمان با کاربرد ۵، ۱۰ و ۲۰ تن در هکتار بیوچار به ترتیب ۴۲، ۵۴ و ۷۲ درصد در سال زراعی اول و به ترتیب ۴۳، ۵۴ و ۷۳ درصد در سال زراعی دوم بیشتر از مقدار این صفت در شرایط محلول پاشی جداگانه نانوکود گوگرد بود. به طور کلی بر اساس نتایج این پژوهش، به نظر می رسد مصرف تلفیقی زغال زیستی با تغذیه گوگردی ضمن بهبود خصوصیات کمی مرزه می تواند منجر به بهبود ویژگی های فیزیولوژیکی آن شود.

واژگان کلیدی: تعداد شاخه فرعی، زغال زیستی، کلروفیل a، مصرف تلفیقی، نانوکود



۱. مقدمه

مرزه گیاهی دارویی و متعلق به خانواده نعنائیان است و بومی مناطق مدیترانه‌ای بوده که در بسیاری از کشورها از جمله فرانسه، مجارستان و ایران به صورت گسترده کشت و کار می‌شود. مواد مؤثره این گیاه دارای خاصیت ضدمیکروبی و ضدقارچی بوده و به‌طور گسترده در پزشکی و در صنایع آرایشی بهداشتی و صنایع غذایی کاربرد دارد (Heidarpour *et al.*, 2019). بیوجار نوعی اصلاح کننده خاک است که از مواد زائد آلی غنی از کربن در شرایط محدودیت اکسیژن به روش پیرولیز بدست می‌آید (Hassan *et al.*, 2023) و در دهه‌های اخیر به دلیل استفاده پایدار از آن در شیوه‌های مدیریت خاک و مسائل جهانی تغییرات آب و هوا اهمیت یافته است (Ng *et al.*, 2023). این نهاده بوم‌سازگار به دلیل تخلخل بالا و سطح ویژه زیاد منجر به افزایش ظرفیت نگهداری آب (Al Baquy *et al.*, 2023) و کاهش چگالی ظاهری خاک (Javeed *et al.*, 2023) شده و همچنین از طریق افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی و تأمین مواد غذایی قابل جذب (Gaudutis *et al.*, 2023)، مصرف کود و آب را به حداقل رسانده و اثرات مخرب تنش خشکی را برطرف می‌سازد.

گوگرد یکی از عناصر اصلی و ضروری برای رشد و توسعه گیاهان است و در تشکیل بسیاری از اسید آمینه‌های ضروری در ساخت پروتئین‌ها نظیر سیستمین، سیستمین و متیونین نقش ایفا کرده و منجر به تحریک فرآیندهای متابولیکی می‌شود (Al-Obeidi & Al-Obeidi, 2023) و همچنین وجود آن برای ساخت کلروفیل و بسیاری از ویتامین‌ها ضروری است و در ساختمان بسیاری از متابولیت‌های ثانویه گیاهی وجود این ترکیب به اثبات رسیده است (Gohain *et al.*, 2019). نانوکود گوگرد به دلیل ویژگی‌های خاص اندازه ذرات کوانتومی و سطح ویژه بالا، نسبت به گوگرد معمولی مزیت‌های بیشتری دارد (Turganbay *et al.*, 2019). استفاده از گوگرد به شکل نانوکود، برای رشد گیاه و کیفیت محصولات کشاورزی بسیار مفید است و در عین حال از اثرات سمی آفت کش‌ها و هورمون‌ها و افزودنی‌های رشد در بدن انسان جلوگیری می‌کند (Shankar *et al.*, 2020)، نکته حائز اهمیت اینکه نانوکود گوگرد برخلاف بسیاری از فلزات و نانوذرات دیگر، موادی بوم‌سازگار و ایمن و غیرسمی برای محیط‌زیست هستند (Ragab & Saad-allah, 2020).

نظر به اهمیت گیاه دارویی مرزه و کاربردهای فراوان آن در صنایع مختلف آرایشی، بهداشتی و دارویی و مطالعات اندک در زمینه کاربرد همزمان بیوجار و نهاده‌های گوگردی در محصولات مختلف، این پژوهش با هدف بررسی اثر سطوح مختلف زغال زیستی بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی مرزه در شرایط کاربرد تیمارهای تغذیه‌ای گوگردی در یک نظام زراعی اکولوژیک انجام گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. منطقه مورد مطالعه

این پژوهش در دو سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ و ۱۴۰۱-۱۴۰۰ در مزرعه آموزشی تحقیقاتی مجتمع آموزش عالی گناباد انجام شد. آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در زمان در قالب طرح پایه‌ی بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد.

۲-۲. روش تحقیق



بذرهای مرزه با منشاء توده‌ی گناباد از مزارع شهرستان گناباد تهیه و نیمه اردیبهشت‌ماه سال ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱ در ردیف‌هایی به فاصله‌ی ۳۵ سانتی‌متر و با فاصله‌ی روی ردیف ۳۵ سانتی‌متر از یکدیگر کشت شدند. مقادیر مختلف کود آلی زغال زیستی بسته به تیمار مورد نظر قبل از کاشت به خاک کرت‌های مربوطه اضافه گردید. برای اعمال خاکی گوگرد، میزان ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد به خاک کرت‌های مربوطه افزوده شد. اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت به‌روشنی انجام شد و آبیاری‌های بعدی به فاصله هر هفت روز یک‌بار اعمال گردید. محلول‌پاشی نانوکود گوگرد طی دو مرحله و در مرحله ۴ تا ۶ برگی و مرحله قبل از گلدهی انجام شد.

در هر دو سال زراعی، در مرحله ۵۰ درصد گلدهی، تعداد پنچ بوته از هر کرت آزمایشی (سطح ۰/۶۲۵ مترمربع) به‌طور تصادفی انتخاب و صفاتی نظیر ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، سطح برگ، قطر ساقه و وزن خشک اندام هوایی اندازه‌گیری شد. در پایان فصل رشد و با زرد شدن بوته‌ها، به‌منظور تعیین عملکرد ماده خشک، پس از حذف اثر حاشیه‌ای بوته‌های کل کرت‌های آزمایشی برداشت و وزن کل اندام هوایی آنها اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است که در پایان برداشت، مقدار ۱۰۰ گرم از بوته‌های هر کرت آزمایشی برای تعیین ویژگی‌های کیفی و فیزیولوژیکی (میزان کربوهیدرات، مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل) به آزمایشگاه ارسال شد.

به‌منظور تجزیه واریانس و تحلیل آماری داده‌های آزمایش از نرم‌افزار Excel Ver. 14 SAS Ver. 9.1 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید.

۳. نتایج

اثر مقادیر مختلف زغال زیستی و تیمارهای تغذیه‌ای گوگردی و برهمکنش آن‌ها در هر دو سال زراعی بر ارتفاع بوته و تعداد شاخه فرعی معنی‌دار بود. بر اساس نتایج اثرات متقابل مقادیر مختلف زغال زیستی و تیمارهای تغذیه‌ای گوگردی، در هر دو سال زراعی بیشترین ارتفاع بوته (به‌ترتیب با ۴۱ و ۳۹ سانتی‌متر ارتفاع بوته در سال زراعی اول و دوم) و تعداد شاخه فرعی (با ترتیب با ۲۸ و ۳۰ شاخه فرعی در سال زراعی اول و دوم) در تیمار کاربرد تلفیقی ۲۰ تن در هکتار زغال زیستی و محلول‌پاشی نانوکود گوگرد مشاهده شد (جدول ۱ و ۲). همچنین اثرات مثبت گوگرد معمولی و محلول‌پاشی نانوکود گوگرد بر ارتفاع بوته و تعداد شاخه فرعی زمانی بیشتر بروز یافت که در بستر کاشت ۲۰ تن در هکتار زغال زیستی از آن‌ها استفاده شد (جدول ۱ و ۲). همان‌طور که در جدول‌های ۱ و ۲ مشاهده می‌شود، در هر دو سال زراعی، استفاده از گوگرد معمولی و محلول‌پاشی نانوکود گوگرد در سطوح بالاتر زغال زیستی (۱۰ و ۲۰ تن در هکتار) منجر به تولید سطح برگ و قطر ساقه بیشتری نسبت به کاربرد این نهاده‌های تغذیه‌ای گوگردی در سطوح پایین‌تر زغال زیستی شد، به عنوان مثال استفاده از گوگرد معمولی در کرت‌های حاوی ۲۰ تن در هکتار زغال زیستی در مقایسه با کاربرد این کود در بستر کاشت ۵ تن در هکتار زغال زیستی، به‌ترتیب ۸ و ۱۵ درصد سطح برگ و قطر ساقه بیشتری را سبب شد (جدول ۱).

با توجه به نتایج جدول ۱ و ۲، بیشترین مقدار وزن خشک اندام هوایی در هر دو سال زراعی (به‌ترتیب با ۵/۹۰ و ۵/۷۴ گرم وزن خشک اندام هوایی در سال زراعی اول و دوم) در تیمار کاربرد تلفیقی ۲۰ تن در هکتار زغال زیستی و محلول‌پاشی نانوکود گوگرد حاصل شد، ولی اثر برهمکنش زغال زیستی و تیمارهای تغذیه‌ای گوگردی در هیچ یک از سال‌های زراعی مورد مطالعه



بر عملکرد ماده خشک معنی دار نبود. بررسی تیمارهای تغذیه ای گوگردی در مقادیر مختلف زغال زیستی نشان داد که در هر دو سال زراعی در کلیه سطوح بیوچار مورد مطالعه، محلول پاشی نانو کود گوگرد بیشترین وزن خشک اندام هوایی نسبت به سایر تیمارها را ایجاد کرد (جدول ۱ و ۲).

جدول ۱. مقایسه میانگین اثرات متقابل مقادیر مختلف بیوچار و کاربرد گوگرد و نانو کود گوگرد بر خصوصیات مورفولوژیکی و عملکرد مرزه در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹

عملکرد ماده خشک (کیلوگرم در هکتار)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	قطر ساقه (سانتی متر)	سطح برگ (سانتی مترمربع)	تعداد شاخه فرعی	ارتفاع بوته (سانتی متر)
عدم کاربرد بیوچار					
12.10 ^a	1.96 ^k	0.30 ^g	257.65 ^{ef}	17.00 ^{de}	22.30 ^f
12.02 ^a	2.04 ^j	0.41 ^e	259.68 ^e	17.55 ^{de}	23.25 ^{ef}
12.10 ^a	1.70 ^l	0.19 ^h	251.03 ^f	16.25 ^e	20.85 ^f
۵ تن در هکتار بیوچار					
11.31 ^{ab}	3.56 ^h	0.44 ^d	267.25 ^{cd}	18.80 ^{cde}	25.50 ^e
11.32 ^{ab}	3.70 ^g	0.46 ^{cd}	272.50 ^{bc}	19.10 ^{cd}	28.60 ^d
11.20 ^{ab}	3.12 ⁱ	0.32 ^g	262.70 ^{de}	17.90 ^{de}	23.00 ^{ef}
۱۰ تن در هکتار بیوچار					
10.51 ^{ab}	4.68 ^e	0.45 ^{cd}	275.50 ^b	19.25 ^{cd}	30.80 ^{cd}
9.97 ^{ab}	4.99 ^d	0.47 ^c	279.28 ^b	20.95 ^c	31.80 ^c
10.35 ^{ab}	4.16 ^f	0.37 ^f	275.15 ^b	19.60 ^{cd}	30.40 ^{cd}
۲۰ تن در هکتار بیوچار					
8.97 ^{ab}	5.20 ^b	0.52 ^b	291.47 ^a	26.25 ^{ab}	37.31 ^b
9.20 ^{ab}	5.90 ^a	0.60 ^a	292.00 ^a	28.40 ^a	40.72 ^a
8.55 ^b	5.10 ^c	0.37 ^f	287.45 ^a	24.50 ^b	36.20 ^b

در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت معنی داری ندارند.

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می شود، بیشترین میزان کربوهیدرات در سال زراعی اول زمانی بدست آمد که در کرت های حاوی ۱۰ و ۲۰ تن در هکتار زغال زیستی از محلول پاشی نانو کود گوگرد (به ترتیب با ۰/۱۲۵۵ و ۰/۱۲۷۰ میلی گرم بر گرم وزن تر) استفاده شد. اثر مقادیر مختلف زغال زیستی، تیمارهای تغذیه ای گوگردی و برهمکنش آنها در هر دو سال زراعی، میزان کلروفیل a و b و کلروفیل کل را به طور معنی داری تحت تأثیر قرار داد. نتایج اثرات متقابل مقادیر مختلف زغال زیستی و تیمارهای تغذیه ای گوگردی نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a، b و کل در هر دو سال زراعی در تیمار کاربرد همزمان ۲۰ تن در هکتار زغال زیستی و محلول پاشی نانو کود گوگرد (به ترتیب با ۷/۶۸، ۲/۹۸ و ۱۰/۶۶ میلی گرم بر گرم وزن تر



کلروفیل a، b و کل در سال زراعی اول و به ترتیب با ۷/۴۵، ۳/۰۹ و ۱۰/۵۵ میلی گرم بر گرم وزن تر کلروفیل a، b و کل در سال زراعی دوم) حاصل شد (جدول ۳). بر اساس نتایج جدول ۳، بیشترین تأثیر تیمارهای تغذیه‌ای گ و گردی بر میزان کلروفیل a، b و کل زمانی بروز یافت که از آن‌ها همزمان با زغال زیستی استفاده شد، به عنوان مثال میزان کلروفیل a در شرایط محلول‌پاشی نانوکود گوگرد همزمان با کاربرد ۵، ۱۰ و ۲۰ تن در هکتار زغال زیستی به ترتیب ۴۲، ۵۴ و ۷۲ درصد در سال زراعی اول و به ترتیب ۴۳، ۵۴ و ۷۳ درصد در سال زراعی دوم بیشتر از مقدار این صفت در شرایط محلول‌پاشی جداگانه نانوکود گوگرد بود (جدول ۳).

جدول ۲. مقایسه میانگین اثرات متقابل مقادیر مختلف بیوجار و کاربرد گوگرد و نانوکود گوگرد بر خصوصیات مورفولوژیکی و عملکرد مرزه در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰

عملکرد ماده خشک (کیلوگرم در هکتار)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	قطر ساقه (سانتی متر)	سطح برگ (سانتی متر مربع)	تعداد شاخه فرعی	ارتفاع بوته (سانتی متر)
عدم کاربرد بیوجار					
147.33 ^f	1.96 ^g	0.32 ^{bc}	254.69 ^{ef}	15.26 ^{de}	20.51 ^{fg}
158.64 ^f	2.03 ^g	0.39 ^{abc}	254.80 ^{ef}	15.70 ^{de}	21.71 ^{fg}
127.23 ^f	1.63 ^h	0.20 ^c	248.73 ^f	14.00 ^e	19.34 ^g
۵ تن در هکتار بیوجار					
276.82 ^{de}	3.45 ^e	0.47 ^{ab}	266.67 ^d	16.77 ^{de}	23.69 ^{ef}
307.61 ^{cde}	3.86 ^d	0.51 ^{ab}	269.33 ^{cd}	16.89 ^{de}	26.88 ^{de}
242.41 ^e	3.06 ^f	0.31 ^{bc}	258.76 ^e	16.22 ^{de}	21.94 ^{fg}
۱۰ تن در هکتار بیوجار					
363.29 ^{bcd}	4.58 ^c	0.50 ^{ab}	273.84 ^c	17.52 ^{de}	29.59 ^d
388.88 ^{bc}	4.90 ^b	0.48 ^{ab}	275.17 ^c	18.88 ^{cd}	30.40 ^{cd}
331.67 ^{bcde}	4.11 ^d	0.39 ^{abc}	270.43 ^{cd}	17.59 ^{de}	29.38 ^d
۲۰ تن در هکتار بیوجار					
408.72 ^b	5.14 ^b	0.50 ^{ab}	289.21 ^a	24.24 ^b	36.40 ^{ab}
550.67 ^a	5.74 ^a	0.59 ^a	291.54 ^a	30.38 ^a	38.78 ^a
395.31 ^{bc}	5.04 ^b	0.41 ^{abc}	282.54 ^b	21.79 ^{bc}	33.26 ^{bc}

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت معنی‌داری ندارند.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که زغال زیستی احتمالاً از طریق افزایش ظرفیت نگهداری آب (Al Baquy *et al.*, 2023) و بهبود فعالیت‌های میکروبی خاک (Javeed *et al.*, 2023) و تأمین مواد غذایی قابل جذب (Gaudutis *et al.*, 2023) و تیمارهای تغذیه‌ای گوگردی احتمالاً از طریق نقش آفرینی در ساختمان پروتئین‌ها، آنزیم‌ها (Al-Obeidi & Al-Obeidi, 2023)،



کلروفیل و برخی از ویتامین‌ها و بهبود مقاومت گیاه به انواع تنش‌های زنده و غیرزنده (Yuan *et al.*, 2021) منجر به بهبود خصوصیات کمی و کیفی مرزه شده‌اند و از طرفی وجود گوگرد در ساختمان بسیاری از متابولیت‌های ثانویه به اثبات رسیده است (Gohain *et al.*, 2019). کاربرد همزمان بیوچار و سوپرجاذب بر خصوصیات کیفی مرزه رشینگری بررسی و بیشترین میزان کارواکرول، گاما-ترپنین و لینالول در تیمار کاربرد بیوچار و ۶۰ میلی گرم سوپرجاذب مشاهده شد (Beiranvandi *et al.*, 2020). کاربرد ۱۰۰۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد همراه با ۲۰ کیلوگرم در هکتار باکتری تیوباسیلوس، منجر به تولید بیشترین عملکرد دانه، درصد روغن، وزن هزار دانه و غلظت عناصر غذایی دانه کلزا (*Brassica napus* L.) شد (Ghaderi *et al.*, 2021).

به‌طور کلی، کاربرد جداگانه و همزمان مقادیر بهینه نهاده‌های بوم‌سازگار زغال زیستی و تیمارهای تغذیه‌ای گوگردی به‌ویژه نانوکود گوگرد ضمن بهبود خصوصیات مورفولوژیکی گیاه منجر به بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی و عملکرد آن شد و بر اساس نتایج این پژوهش کاربرد همزمان ۲۰ تن در هکتار زغال زیستی و محلول‌پاشی نانوکود گوگرد جهت دستیابی به حداکثر عملکرد کمی و کیفی مرزه توصیه می‌گردد.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثرات متقابل مقادیر مختلف بیوچار و در شرایط کاربرد گوگرد و نانوکود گوگرد بر برخی خصوصیات

فیزیولوژیکی مرزه

کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	میزان کربوهیدرات (میلی گرم بر گرم وزن تر)		
سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹					
عدم کاربرد بیوچار	3.87 ⁱ	1.86 ^j	2.01 ^j	0.1090 ^d	گوگرد معمولی
	4.23 ^h	2.06 ^g	2.17 ⁱ	0.1110 ^c	نانوکود گوگرد
	3.73 ⁱ	1.92 ⁱ	1.80 ^k	0.1050 ^d	شاهد
۵ تن در هکتار بیوچار	5.40 ^f	2.61 ^d	2.78 ^g	0.1130 ^{bc}	گوگرد معمولی
	6.10 ^e	2.35 ^e	3.75 ^f	0.1130 ^{bc}	نانوکود گوگرد
	4.70 ^g	2.15 ^f	2.55 ^h	0.1120 ^{bc}	شاهد
۱۰ تن در هکتار بیوچار	7.33 ^d	2.68 ^c	4.65 ^d	0.1170 ^b	گوگرد معمولی
	7.40 ^d	2.72 ^c	4.68 ^d	0.1255 ^a	نانوکود گوگرد
	6.08 ^e	1.98 ^h	4.10 ^e	0.1155 ^{bc}	شاهد
۲۰ تن در هکتار بیوچار	9.07 ^b	2.82 ^b	6.25 ^b	0.1165 ^{bc}	گوگرد معمولی
	10.66 ^a	2.98 ^a	7.68 ^a	0.1270 ^a	نانوکود گوگرد
	7.81 ^c	2.72 ^c	5.09 ^c	0.1160 ^{bc}	شاهد
سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰					
عدم کاربرد بیوچار	3.82 ^g	1.92 ^d	1.89 ^{ij}	0.1097 ^{ab}	گوگرد معمولی
	4.26 ^{fg}	2.21 ^{cd}	2.04 ^{hi}	0.1090 ^{ab}	نانوکود گوگرد

	شاهد	0.1010 ^{ab}	1.49 ⁱ	2.06 ^d	3.55 ^g
۵ تن در هکتار نیتروژن	گوگرد معمولی	0.0790 ^b	2.70 ^g	2.68 ^{abc}	5.38 ^{de}
	نانو کود گوگرد	0.1157 ^{ab}	3.58 ^f	2.34 ^{abc}	5.92 ^d
	شاهد	0.1107 ^{ab}	2.42 ^{gh}	2.30 ^{abc}	4.72 ^{ef}
۱۰ تن در هکتار نیتروژن	گوگرد معمولی	0.1193 ^{ab}	4.55 ^d	2.75 ^{ab}	7.30 ^c
	نانو کود گوگرد	0.1227 ^a	4.46 ^{de}	2.89 ^a	7.36 ^c
	شاهد	0.1200 ^{ab}	4.04 ^e	2.09 ^d	6.14 ^d
۲۰ تن در هکتار نیتروژن	گوگرد معمولی	0.1167 ^{ab}	6.11 ^b	2.98 ^a	9.09 ^b
	نانو کود گوگرد	0.1270 ^a	7.45 ^a	3.09 ^a	10.55 ^a
	شاهد	0.1150 ^{ab}	5.05 ^c	2.86 ^a	7.92 ^c

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت معنی‌داری ندارند.

منابع

- Al Baquy, M.A., Nkon, J.N., Alam, M., and Masud, M.M. 2023. *Biochar application to soils to improve the management of irrigation water*. Sustainable Agriculture Reviews book series. 61: 273-291.
- Al-Obeidi, M.M.H., and Al-Obeidi, H.S.H. 2023. *Effect of organic fertilizer spraying from various sources and agricultural sulfur in the growth and harvest of garlic*. Fifth International Conference for Agricultural and Environments Sciences. 1158: 042067.
- Beiranvandi, M., Akbari, N., Ahmadi, A., Mumivand, H., and Nazarian, F. 2020. Interaction of biochar and superabsorbent on the composition of *Satureja rechingeri* Jamzad essential oil under drought stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Research. 36(5): 780-793. (In Persian).
- Gaudutis, A., Jotautiene, E., Mieldazys, R., Bivainis, V., and Jasinskas, A. 2023. Sustainable use of biochar, poultry and cattle manure for the production of organic granular fertilizers. Agronomy. 13: 1426.
- Ghaderi, J., Davoodi, M.H., and Khavazi, K. 2021. Effect of elemental sulfur and *Thiobacillus* bacteria on yield and some quality characteristics of canola. Iranian Journal of Soil Research. 35(3): 235-252. (In Persian).
- Gohain, B.P., Rose, T.J., Liu, L., Barkla, B.J., Raymond, C.A., and King, G.J. 2019. Remobilization and fate of Sulphur in mustard. Annals of Botany. 124(3): 471-480.
- Hassan, S.H., Chafik, Y., Sena-Velez, M., Lebrun, M., Scippa, G.S., Bourgerie, S., Trupiano, D., and Domenico Morabito. 2023. Importance of application rates of compost and biochar on soil metal (loid) immobilization and plant growth. Plants. 12: 2077.
- Heidarpour, O., Esmailpour, B., Soltani, A.A., and Khorramdel, S. 2019. Effect of vermicompost on essential oil composition of (*Satureja hortensis* L.) under water stress condition. Journal of Essential Oil-Bearing Plants. 22(2): 484-492.
- Javeed, H.M.R. Ali, M., Zamir, M.S.I., Qamar, R., Kanwal, S., Andleeb, H., Qammar, N., Jhangir, K., Elkelish, A., Mubeen, M., Sarwar, M.A., Khalid, S., Zain, M., Nawaz, F., Mubeen, Kh., Bukhari, M.A., Zakir, A., Farooq, M.A., and Masood, N. 2023. *Biochar and arbuscular mycorrhizae fungi to improve soil organic matter and fertility*. pp 331-354 in E. Lichfous. Sustainable Agriculture Reviews book series. Springer Press.
- Ng, Ch.W.W., Touyon, L., and Bordoloi, S. 2023. Influence of biochar on improving hydrological and nutrient status of two decomposed soils for yield of medicinal plant-*Pinellia ternate*. Journal of Hydrology and Hydromechanics. 71(2): 156-168.
- Ragab, G.A., and Saad-Allah, K.M. (2020). Green synthesis of sulfur nanoparticles using *Ocimum basilicum* leaves and its prospective effect on manganese-stressed *Helianthus annuus* (L.) seedlings. Ecotoxicology and Environmental Safety. 191. 110242.



- Shankar, S., Jaiswal, L., and Rhim, J.W. 2020. New insight into sulfur nanoparticles: synthesis and applications. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 51(20): 2329-2356.
- Turganbay, S., Aidarova, S.B., Turganbay, G., Tileuberdi, Y., and Chen, S.L. 2019. Synthesis and characterization of sulfur nanoparticles with WSP/surfactants mixtures. *International Journal of Biological Chemistry*. 12:146-152.
- Yuan, H., Liu, Q., Guo, Zh., Fu, J., Sun, Y., Gu, Ch., Xing, B., and Dhankher, O.P. 2021. Sulfur nanoparticles improved plant growth and reduced mercury toxicity via mitigating the oxidative stress in *Brassica napus* L. *Journal of Cleaner Production*. 318: 128589.



استفاده از محرک های زیستی، راهکاری مناسب جهت افزایش مقاومت گیاهان به تنش آبی

محمدرضا جلالی^۱، مینا امانی^{۱*}

^{۱*} علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. (Mina76amani@yahoo.com)

چکیده

مواجهه با خشکسالی و کمبود آب، چالش های عمده ای را برای بقای گیاهان و پایداری کشاورزی ایجاد کرده است. در این شرایط، نیاز به راهکارهای مؤثر برای افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش های محیطی بیش از پیش احساس می شود. در این میان، قارچ های اندوفیت به عنوان عوامل همزیستی مؤثر، نقش کلیدی در افزایش تحمل گیاهان به این تنش ها ایفا می کنند. این قارچ ها به طور طبیعی در بافت های گیاهی زندگی می کنند و بدون ایجاد آسیب به گیاه، می توانند به بهبود وضعیت سلامت و رشد آن ها کمک کنند. تحقیقات نشان داده اند که قارچ های اندوفیت می توانند با بهبود جذب مواد مغذی، افزایش مقاومت به خشکی و بهبود مدیریت آب در گیاهان، به افزایش عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی کمک کنند. قارچ های اندوفیت با توانایی همزیستی گسترده، توجه ویژه ای را به خود جلب کرده است. این قارچ با توانایی ایجاد ارتباطات همزیستی با طیف وسیعی از گیاهان، می تواند تأثیرات مثبتی بر رشد و توسعه گیاهان داشته باشد. مطالعات نشان داده اند که قارچ های اندوفیت می توانند به افزایش جذب آب و مواد مغذی، بهبود متابولیسم گیاه و افزایش تولید مثل گیاهان کمک کند. به علاوه، این قارچ می تواند به عنوان یک عامل محافظ در برابر عوامل بیماری زا و تنش های محیطی عمل کند و در نتیجه، مقاومت گیاهان را در برابر شرایط نامساعد افزایش دهد. بنابراین، تحقیقات بیشتر در زمینه شناسایی و استفاده از این قارچ ها در کشاورزی می تواند به توسعه راهکارهای نوین برای مقابله با چالش های آب و هوایی و افزایش پایداری کشاورزی کمک کند.

واژگان کلیدی: تنش کم آبی، تنش غیرزیستی، عوامل بیماری زا، قارچ های همزیست، محرک های زیستی.



۱. مقدمه

خشکسالی پدیده‌ای است که جوامع گسترده‌ای را همواره درگیر نموده و تقریباً همه کشورها را با تنش کم‌آبی روبرو کرده است. تعیین زمان شروع، شدت، مدت و پایان این پدیده، امری بسیار مشکل است. پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی شامل تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، سلولی و مولکولی می‌باشد (Gray & Brady 2016). میزان آب در دسترس گیاه عامل کلیدی تأثیرگذار بر عملکرد و کیفیت محصولات است (Jones, 1990). محصولات گیاهی عمدتاً شامل میوه‌ها، گیاهان دارویی، سبزیجات، گیاهان زراعی، ادویه‌جات و گیاهان زینتی می‌باشد که نقش حیاتی در اقتصاد و رونق کشور دارند (Kour *et al.*, 2022). واکنش‌های گیاه به تنش کم‌آبی پیچیده است، زیرا تابع زمان و مکان است و مکانیسم‌های چندوجهی از سطوح ژنومی، مولکولی و بیوشیمیایی را در بر می‌گیرد (Blum, 1996; Xu *et al.*, 2009; Chaves *et al.*, 2003). بنابراین راهکارهای متنوعی جهت مقابله تنش کم‌آبی وجود دارد که یکی از این راه‌ها استفاده از قارچ‌های همزیست می‌باشد. همزیستی بین قارچ و گیاه پدیده‌ای گسترده در طبیعت است. نتیجه چنین تعاملی می‌تواند به شیوه‌ای یکپارچه از همزیستی تا انگلی متفاوت باشد. در بیشتر موارد، گیاه میزبان آسیب نمی‌بیند، در واقع غالباً از مزایای استعمار توسط قارچ استفاده می‌کند (Harrison, 2005).

۱-۱. اهمیت قارچ‌های همزیست

اصطلاح اندوفیت (گیاه درون رست) به قارچ‌هایی اشاره دارد که در فضاها بین سلولی و درون سلولی گیاهان زندگی می‌کنند و دست کم بخشی از چرخه زندگی خود را در این مکان‌ها سپری می‌کنند، بدون اینکه علائم قابل مشاهده‌ای را در مرحله خاصی ایجاد کنند (Kogel *et al.*, 2006; Rodriguez *et al.*, 2009). اثرات سودمند برای گیاه می‌تواند ناشی از توزیع بهبودیافته مواد مغذی توسط اندوفیت باشد، همانند همزیستی میکوریزای آربوسکولار که شدیدترین تعامل متقابل گیاه-قارچ مورد مطالعه قرار گرفته است (Harrison, 2005). وجود قارچ‌های اندوفیت از سوابق فسیلی نشان می‌دهد که روابط همزیستی قارچ‌های اندوفیت-میزبان ممکن است از زمان توسعه اولین گیاهان عالی روی زمین تکامل یافته باشند (Krings *et al.*, 2012). اندوفیت‌ها علاوه بر تأمین مواد مغذی معدنی، می‌توانند تحمل به تنش غیرزیستی را نیز بهبود بخشند به عنوان مثال، گونه‌های اندوفیت *Curvularia*، چمن‌های *Dichanthelium* را با گرمای شدید سازگار می‌کنند (Redman *et al.*, 2002). نشان داده شده است که اندوفیت‌های قارچی در مواجهه با شرایط محدود کننده آب، مقاومت یا توانایی تحمل خشکی و کم‌آبی را برای گیاه فراهم می‌کنند (Kane, 2011) که میزان ROS تولیدی کاهش پیدا می‌کند، در نتیجه سطح کمتری از مولکول‌های زیستی تخریب می‌شود (Azad & Kaminskyj, 2016).

قارچ‌های میکوریزا به عنوان جزء اصلی در بیشتر اکوسیستم‌ها، اثرات مثبتی بر خصوصیات کمی و کیفی گیاهان همزیست دارند. اهمیت میکوریزا در کشاورزی بر پایه نقش ویژه آن به عنوان حلقه ارتباطی بین خاک و گیاه استوار است. در مطالعات بسیار زیادی به نقش قارچ‌های میکوریزا در افزایش توانایی گیاه در جذب بیشتر عناصر معدنی و آب اشاره شده است (Nadeem *et al.*, 2014). ارتباط میکوریزا به این علت است که میکوریزا ساختارهایی به نام آربوسکولار تشکیل می‌دهد که به نظر می‌رسد به عنوان یک واسطه برای تبادل متابولیت‌های بین قارچ و سیتوپلاسم سلول میزبان عمل می‌کند (Nadeem *et al.*, 2014) و



محل تبادل فسفات بین قارچ و گیاه است، چون مهمترین جنبه اثربخشی قارچ‌های میکوریزا در تغذیه، افزایش فسفر گیاه میزبان است. وزیکول‌ها حاوی چربی هستند و به نظر می‌رسد ساختار ذخیره‌سازی کربن نیز ممکن است در بعضی موارد شکل بگیرد، هرچند این بستگی به همزیستی قارچ و شرایط محیطی دارد. میسلیوم‌های قارچ میکوریزا نیز به خاک در منافذ خارج از دسترس ریشه‌های موین نفوذ می‌کنند و به گیاه در به دست آوردن مواد مغذی و آب از خاک کمک می‌کنند (Pagano & Scotti, 2008) و از سوی دیگر سبب بهبود ساختمان خاک می‌شوند (Nadeem *et al.*, 2014).

در همزیستی قارچ‌های میکوریزا با گیاه میزبان، قسمتی از کربن حاصل از فتوسنتز گیاه در اختیار قارچ همزیست قرار می‌گیرد و در ازای آن شبکه گسترده میسلیوم قارچ‌های میکوریزا، جذب و انتقال آب و عناصر معدنی را از مناطقی که برای سیستم ریشه‌ای غیرقابل دسترس می‌باشد به گیاه تسریع کرده و کمک می‌کند تا گیاهان قادر به رشد در شرایط دشوار باشند. برخی گونه‌های میکوریزا تا ۲۵ درصد از فراورده‌های فتوسنتزی گیاهان را مصرف کرده و درمقابل می‌توانند فسفر و نیتروژن مورد نیاز گیاه را تا ۸۰ درصد تأمین کنند. همبستگی میکوریزا، اثرات غیرتغذیه‌ای مهمی مانند کاهش آسیب بیماری‌های گیاهی، اصلاح روابط آب و یا بهبود ساختمان خاک را نیز برعهده دارد (Celik *et al.*, 2004). به طور کلی، این قارچ‌ها باعث افزایش جذب عناصر غذایی با قابلیت تحرک کم در خاک مثل فسفر، روی و مس، افزایش نسبی جذب آب که باعث رقیق شدن اثرات یون‌های سمی می‌شود، افزایش غلظت قندهای محلول در ریشه که منجر به کاهش پتانسیل اسمزی ریشه می‌شود و ایجاد تعادل عناصر غذایی گیاه در شرایط تنش، موجب مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی می‌گردد. در اثر تلقیح قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا، انتقال مواد فتوسنتزی از اندام هوایی میزبان به سمت ریشه‌ها افزایش می‌یابد که سبب تحریک فعالیت فتوسنتزی و نیز تولید هورمون جبرلین توسط گیاه میزبان افزایش می‌یابد. از دیگر نقش‌های قارچ‌های میکوریزا بر رشد گیاه، تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه مانند اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها و غیره (Copetta *et al.*, 2006) و ارتباط هم‌افزایی با میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات‌های غیرقابل جذب برای گیاهان می‌باشد. قارچ‌های میکوریزا قادر به کاهش غلظت آبسزیک اسید و افزایش هورمون اکسین و جبرلین هستند. همزیستی میکوریزا همچنین سبب افزایش تحمل گیاهان میزبان به دمای زیاد، آلودگی قارچ‌های بیماری‌زا و اسیدیته بالا خاک و همچنین تحمل به تنش کم‌آبی می‌شود (Chen *et al.*, 2006). قارچ میکوریزا به‌طور مؤثری باعث افزایش ظرفیت جذب عناصر پرمصرف و کم‌مصرف از طریق تولید آنزیم‌های متفاوتی مانند فسفاتازها و حل‌الیت عناصری مانند فسفر و عناصر کم تحرک می‌شود (Marschner & Dell, 1994).

میکوریزا، ارتباط آب با گیاه میزبان را به وسیله افزایش هدایت هیدرولیکی خاک، افزایش نسبت تعرق و کاهش مقاومت روزنه‌ای به وسیله تغییر در تعادل هورمون‌های گیاهی بهبود می‌بخشد. این تغییرات باعث بهبود تغذیه فسفر گیاهان میکوریزا تحت تنش کمبود آب می‌شود (Elwan, 2001).

۲. نتیجه‌گیری و کارهای آینده

با توجه به نتایج مثبت حاصل از همزیستی گیاهان با قارچ‌های اندوفیت، می‌توان این رویکرد را به‌عنوان یک استراتژی پایدار و نوین در کشاورزی معرفی کرد. این قارچ‌ها به‌عنوان همزیست‌های طبیعی، نه تنها به افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی مانند خشکی، سرما و بیماری‌ها کمک می‌کنند، بلکه می‌توانند به بهبود کیفیت خاک و افزایش بهره‌وری



کشاورزی نیز منجر شوند. استفاده از قارچ‌های اندوفیت به‌ویژه در مناطق کم‌آب، می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر برای افزایش تحمل گیاهان و بهبود عملکرد آن‌ها در شرایط نامساعد محیطی مطرح شود. علاوه بر این، این قارچ‌ها به حفظ تنوع زیستی و تعادل اکولوژیکی در اکوسیستم‌های کشاورزی کمک می‌کنند. با ایجاد تعاملات مثبت بین گیاهان و میکروارگانیسم‌ها، این قارچ‌ها می‌توانند به بهبود ساختار خاک، افزایش فعالیت میکروبی و کاهش نیاز به کودهای شیمیایی کمک کنند. این امر نه تنها به بهبود کیفیت محصولات کشاورزی می‌انجامد، بلکه می‌تواند به کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی ناشی از استفاده بی‌رویه از مواد شیمیایی نیز کمک کند. در نهایت، تعاملات همزیستی بین گیاهان و قارچ‌های اندوفیت می‌تواند به کاهش تأثیرات منفی تغییرات آب و هوایی بر کشاورزی کمک کند. با افزایش مقاومت گیاهان در برابر شرایط نامساعد، این رویکرد می‌تواند به تأمین غذای پایدار برای جوامع انسانی در آینده کمک شایانی نماید. به‌ویژه در شرایطی که تغییرات آب و هوایی تهدیدی جدی برای امنیت غذایی به‌شمار می‌روند، استفاده از این روش‌های پایدار می‌تواند به‌عنوان یک راهکار کلیدی در تأمین نیازهای غذایی جمعیت رو به رشد جهان مطرح شود. بنابراین، تحقیقات بیشتر در زمینه شناسایی و به‌کارگیری قارچ‌های اندوفیت در کشاورزی ضروری است تا از پتانسیل‌های آن‌ها به‌طور مؤثر بهره‌برداری شود و به توسعه کشاورزی پایدار و مقاوم در برابر تغییرات محیطی کمک کند.

با توجه به اهمیت قارچ‌های اندوفیت در افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی، به‌ویژه در شرایط خشکسالی و کمبود آب، تحقیقات آینده می‌توانند در چندین حوزه کلیدی متمرکز شوند. نخست، شناسایی و تنوع قارچ‌های اندوفیت باید مورد توجه قرار گیرد، به‌ویژه از طریق مطالعه تنوع زیستی و تحلیل ژنتیکی برای شناسایی گونه‌های مؤثرتر در افزایش مقاومت به خشکی. همچنین، بررسی مکانیسم‌های همزیستی این قارچ‌ها با گیاهان، به‌ویژه در زمینه جذب آب و مواد مغذی و تأثیر آن‌ها بر متابولیسم گیاهی، از اهمیت بالایی برخوردار است. در زمینه کاربردهای کشاورزی، توسعه محصولات مقاوم به تنش‌های محیطی با استفاده از قارچ‌های اندوفیت و بررسی تأثیر آن‌ها بر مدیریت آب در مزارع می‌تواند به بهبود عملکرد کشاورزی کمک کند. آزمایش‌های میدانی برای ارزیابی عملکرد این قارچ‌ها در شرایط واقعی و استفاده از مدل‌های شبیه‌سازی برای پیش‌بینی تأثیر آن‌ها نیز از دیگر جنبه‌های مهم تحقیق به‌شمار می‌رود. علاوه بر این، توسعه برنامه‌های آموزشی برای کشاورزان به منظور آشنایی با مزایای قارچ‌های اندوفیت و ایجاد فناوری‌های نوین برای کشت و استفاده مؤثر از آن‌ها در مزارع، می‌تواند به بهبود پایداری کشاورزی کمک کند. در نهایت، بررسی نقش قارچ‌های اندوفیت در پایداری اکوسیستم‌های کشاورزی و تأثیر آن‌ها بر تنوع زیستی و سلامت خاک، می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر در راستای مقابله با چالش‌های کمبود آب و خشکسالی مطرح شود.

منابع

- Azad, K., and Kaminskyj, S. (2016). A fungal endophyte strategy for mitigating the effect of salt and drought stress on plant growth. *Symbiosis*, 68: 73–78.
- Blum, A. (1996). Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *Plant Growth Regulation*, 20: 135-148.
- Celik, I., Ortas, I., and Kilic, S. (2004). Effects of compost, mycorrhiza, manure and fertilizer on some physical properties of a chromoxerert soil. *Soil and Tillage Research*, 78(1): 59-67.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P., and Pereira, J.S. (2003). Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, 30(3): 239-64.



- Chen, B.D., Zhu, Y.G., and Smith, F.A. (2006). Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on uranium and arsenic accumulation by Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.) from a uranium mining-impacted soil. *Chemosphere*, 62(9): 1464-1473.
- Copetta, A., Lingua, G., and Berta, G. (2006). Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. *Mycorrhiza*, 16(7): 485-494.
- Elwan, L.M. (2001). Effect of soil water regimes and inoculation with mycorrhizae on growth and nutrient content of maize plants. *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 28: 162-172.
- Gray, S.B., and Brady, S.M. (2016). Plant developmental responses to climate change. *Developmental Biology*, 419(1): 64-77.
- Harrison, M.J. (2005). Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Microbiology*.
- Jones, H.G. (1990). Physiological aspects of the control of water status in horticultural crops. *HortScience*, 25: 19-26.
- Kane, K.H. (2011). Effects of endophyte infection on drought stress tolerance of *Lolium perenne* accessions from the Mediterranean region. *Environmental and Experimental Botany*, 71(3): 337-344.
- Kogel, K.H., Franken, P., and Hückelhoven, R. (2006). Endophyte or parasite—what decides? *Current Opinion in Plant Biology*, 9(4): 358-63.
- Kour, D., Khan, S.S., Kaur, T., Kour, H., Singh, G., Yadav, A., and Yadav, A.N. (2022). Drought adaptive microbes as bioinoculants for the horticultural crops. *Heliyon*, 8(5).
- Krings, M., Taylor, T.N., and Dotzler, N. (2012). Fungal endophytes as a driving force in land plant evolution: evidence from the fossil record. *Biocomplexity of Plant–Fungal Interactions*, 5-27.
- Marschner, H., and Dell, B. (1994). Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 159(1): 89-102.
- Nadeem, S.M., Ahmad, M., Zahir, Z.A., Javaid, A., and Ashraf, M. (2014). The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advances*, 32(2): 1-20.
- Pagano, M.C., and Scotti, M.R. (2008). Arbuscular and ectomycorrhizal colonization of two Eucalyptus species in semiarid Brazil. *Mycoscience*, 49(6): 379-384.
- Redman, R.S., Sheehan, K.B., Stout, R.G., Rodriguez, R.J., and Henson, J.M. (2002). Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science*, 298: 1581.
- Rodriguez, R.J., White Jr, J.F., Arnold, A.E., and Redman, A.R. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182(2): 314-30.

آنالیز شیمیایی و شناسایی ترکیبات غالب اسانس گیاه دارویی گل بی مرگ (*Helichrysum ooecephalum*)

اعظم محسنی نیا^۱، راهله رهباریان^۱، مهدی آخوندی^{۱*}

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران (Makhondi@gmail.com)

چکیده

گیاه گل بی مرگ *Helichrysum ooecephalum*، گونه‌ای ارزشمند از جنس هلیکریسوم، به دلیل خواص دارویی متنوع از جمله خواص ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی، مورد توجه پژوهشگران قرار دارد. این گیاه عمدتاً در مناطق خشک و نیمه خشک ایران و کشورهای همسایه می‌روید. در این پژوهش، با هدف استخراج حداکثری ترکیبات زیست فعال موجود در این گونه و شناسایی دقیق آن‌ها، از روش تقطیر آبی (کلونجر) برای استخراج ترکیبات غالب اسانس استفاده شد. گیاه گل بی مرگ پس از خشک شدن در دمای محیط با روش تقطیر با آب اسانس گیری شد. اسانس و عرق حاصل توسط دستگاه GC-MS تجزیه و تحلیل شدند. ۴۷ ترکیب در اسانس و ۲۲ ترکیب در عرق شناسایی شدند. ترکیباتی مانند الفاپنین (۵۷/۶٪)، اوکالیپتول (۱۲/۶٪)، لیمونن (۳۷/۶٪)، بتاپنین (۱۰/۸٪)، و کاریوفیلین (۹/۰۸٪) در اسانس و استوفنون (۳۴/۹٪) در عرق گیاه اجزای اصلی بودند. این پژوهش نشان داد که گیاه *Helichrysum ooecephalum* منبع غنی از ترکیبات زیست فعال هستند. این ترکیبات می‌توانند در تولید داروها و یا به عنوان افزودنی‌های غذایی مورد استفاده قرار گیرند.

کلمات کلیدی: آنالیز GC-MS، ترکیبات زیست فعال، گل بی مرگ، *Helichrysum ooecephalum*

۱. مقدمه

گیاه *Helichrysum ooecephalum* به عنوان یکی از گونه‌های ارزشمند فلور ایران، به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی فراوان، پتانسیل بالایی در تولید داروهای طبیعی دارد (آزادبخت، ۱۳۹۸).

نام علمی *Helichrysum* نام یک سرده از گیاهان از خانواده‌ی کاسنیان است که دارای ۶۰۰ گونه دارد. در عربی و متون اولیه‌ی فارسی، «الخالدۀ» و «هلیکریز» گفته می‌شود؛ گیاهانی بیابانی و زراعتی از تیره‌ی مرکبان که رنگ‌های انواع آن تا زمانی که گل‌هایشان مانده است، ثابت می‌ماند. گل بی‌مرگ یک گیاه علفی چندساله، متعلق به خانواده آستراسه است که در بسیاری از کشورها جهت درمان سنتی بسیاری از بیماری‌ها از آن استفاده می‌شود (داوودی مقدم و همکاران، ۱۳۹۳). برخی از گونه‌های هلیکریسوم به دلیل خواص دارویی خود شناخته شده‌اند و در طب سنتی از اسانس هلی کریسوم به دلیل اثرات آرام‌بخش و تسکین‌دهنده‌ی آن در رایحه‌درمانی نیز استفاده می‌شود. گیاه جنس *Helichrysum* خواص دارویی ویژه‌ای را از خود نشان داده است. این گیاه در طب سنتی برای درمان عفونت، ورم و درد مفاصل، مشکلات کبدی، سرماخوردگی، بیماری‌های گوارشی و پوستی به کار می‌رود (Meyer and Mathekga, 1998). ایران به دلیل شرایط اقلیمی و جغرافیایی مناسب، رویشگاه گسترده‌ای از گیاهان دارویی است که بخشی از آن‌ها به صورت خام، از جمله اقلام صادراتی کشور می‌باشد. این پراکنش به گونه‌ای است که سبب شده فلور گیاهی ایران، بیش از فلور گیاهی تمام اروپا باشد (آزادبخت، ۱۳۹۸).

گیاهان دارویی نقش بسزایی در سلامت افراد و جوامع بشری دارند. اهمیت دارویی این دسته از گیاهان در تولید ترکیبات ثانویه ای است که فرایندهای فیزیولوژیکی خاصی را در بدن انسان فعال می‌کنند. استفاده از متابولیت‌های گیاهی در صنعت داروسازی، به درمان آسان تر و ارزان تر بیماری‌ها کمک می‌کند و مانع خروج بخشی از سرمایه کشورها برای وارد کردن این گونه ترکیبات می‌شود (Hashemyan et al., 2020).

با وجود مصارف گوناگون گیاهان دارویی در زمینه‌های صنایع دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی، متأسفانه در کشور ما کمتر به فرآوری گیاهان دارویی توجه شده است. در حالی که این موضوع، با توجه به تنوع گسترده آن، می‌تواند بخش‌های گوناگونی از نیروهای متخصص و علاقه‌مند را از بخش کشاورزی گرفته تا بخش‌های میانی و واسطه صنعتی مانند بسته‌بندی گیاهان دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی را در برگیرد و سبب پویایی اقتصادی و اجتماعی مناطق مختلف شهری و روستایی کشور شود (آزادبخت، ۱۳۹۸).

گیاهان دارویی به دلیل وجود ترکیباتی به نام متابولیت‌های ثانویه، از سایر گیاهان متمایز می‌شوند. این ترکیبات، که کمتر از ۱ درصد وزن خشک گیاه را تشکیل می‌دهند، دارای خواص دارویی برای موجودات زنده هستند. متابولیت‌های ثانویه معمولاً بر اساس منشأ خود به سه گروه اصلی تقسیم می‌شوند: ترپن‌ها، فنول‌ها و ترکیبات نیتروژندار (Jeffrey, 2017).

گیاهان دو نوع متابولیت تولید می‌کنند: متابولیت‌های اولیه (مانند کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها) که طی فتوسنتز ساخته شده و نقش حیاتی در ساختار و عملکرد سلول دارند. در مقابل، متابولیت‌های ثانویه مستقیماً در رشد گیاه دخیل نیستند، اما در سازگاری با محیط و بقای گیاه تحت شرایط خاص، نقش مهمی ایفا می‌کنند و توزیع محدودتری در گونه‌های گیاهی دارند (غلامعلی پور علمداری، ۱۳۹۴).



طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان از متابولیت‌های اولیه مانند کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و اسیدهای آمینه سنتز می‌شوند. متابولیت‌های ثانویه در دفاع از گیاه در برابر گیاه‌خواران و عوامل بیماری‌زا مورد نیاز هستند. آن‌ها اغلب نقش محافظت از گیاه در برابر استرس‌های محیطی دارند. همچنین، دلیل اینکه گیاهان دارای بو، طعم و رنگ‌های مختلف و خاص هستند، مربوط به متابولیت‌های ثانویه می‌شود. متابولیت‌های ثانویه گیاهی، منابعی مهم و بی‌نظیر برای افزودنی‌های غذایی، طعم‌دهنده‌ها، داروها و دیگر داروهای صنعتی مهم می‌باشند. ترکیبات متابولیت‌های ثانویه مانند کارتنوئیدها و فلاونوئیدها در پیگمانتاسیون سلولی در گل و دانه نقش دارند که باعث جلب موجودات گرده‌افشان و پراکنده‌کننده دانه می‌شود (Ravishankar and Rao, 2020).

گونه *Helichrysum ooecephalum* یکی از گونه‌های بومی ایران است که در مناطقی مانند خراسان شمالی می‌روید. این گیاه که به گل بی‌مرگ نیز معروف است، به دلیل خواص ضدالتهابی و ضد میکروبی خود برای درمان بیماری‌های پوستی، مشکلات تنفسی و مشکلات گوارشی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اسانس این گیاه نیز به دلیل اثرات آرام‌بخش و تسکین‌دهنده آن در رایحه‌درمانی کاربرد دارد. گیاهانی از جنس *Helichrysum* نیز به دلیل خواص دارویی ویژه خود مورد توجه قرار دارند. این گیاهان در طب سنتی برای درمان عفونت، ورم و درد مفاصل، مشکلات کبدی، سرماخوردگی، بیماری‌های گوارشی و پوستی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Meyer and Mathekga, 1998).

با توجه به اهمیت گیاهان دارویی و خواص ویژه گیاه *Helichrysum ooecephalum*، هدف از این مطالعه، بررسی و شناسایی میزان و نوع متابولیت‌های ثانویه از گیاه *Helichrysum ooecephalum* توسط دستگاه کلونجر است.

۲. مواد و روش‌ها

گیاه گل بی‌مرگ با نام علمی *Helichrysum ooecephalum* از مناطق اطراف مشهد در نواحی سد طرق جمع‌آوری گردید. گیاه را در یک محل تاریک و بدون رطوبت به مدت یک هفته قرار داده تا به مرور خشک شود و جهت جلوگیری از آسیب دیدن نمونه‌ها، هر چند روز یکبار جابه‌جا شدند.

برای تهیه نمونه اسانس و عرق از اندام هوایی، مقدار ۸۰ گرم پودر خشک شده گیاهی در هر دستگاه (سه دستگاه کلونجر پیوسته حاوی ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر) ریخته شد و مدت زمان فرایند استخراج بین ۳ تا ۴ ساعت به طول انجامید. در پایان پس از جداسازی اسانس و عرق، نمونه‌های در ظروف تیره به آزمایشگاه جهت سنجش ترکیبات موثره انتقال یافتند. جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گیاه، از دستگاه کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (7890 Agilent، ساخت کشور آمریکا) استفاده شد.

۳. نتایج



اسانس به دست آمده از روش تقطیر با آب در گیاه گل بی مرگ، مایعی شفاف و بی رنگ بود. نتایج ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. تعداد ترکیبات شناسایی شده در اسانس و عرق به ترتیب ۴۷ و ۲۲ بود که با مقایسه ترکیبات موجود در جدول، مشخص شد که برخی از ترکیبات به صورت مشترک بین نمونه های اسانس و عرق گیاه گل بی مرگ وجود دارد. بالاترین میزان ترکیبات موثره در نمونه اسانس شامل آلفا پینن، اوکالیپتول، لیمونن، بتا پینن و کاریوفیلین و در نمونه عرق استوفنون می باشد. همچنین بررسی ترکیبات حاصل از دستگاه GC-MS نشان می دهد که در اسانس و عرق گیاه گل بی مرگ، ترکیبات مشترک شامل کامفور، ترادکان، دودکان، لینالول، سابینین، هگزادکان، ترانس کارول، استوفنون، پنتاکوزان، گلوبولول، اوژنول، اندو-بورنئول، اوکالیپتول، هپتادکان، پنتادکان، ترپینن -۴-ال، اگزوفنکول، فنکون، ایکوزان و پینوکارون مشاهده می شود (جدول ۱).

جدول ۱. ترکیبات حاصل از آنالیز نمونه ها با دستگاه GC-MS

ردیف	ترکیب	درصد عرق	درصد اسانس		ترکیب	درصد عرق	درصد اسانس
ردیف				ردیف			
1	a-pinene	-	57/6%	26	Heptacosane	0/06%	-
2	Decanal	-	0/13%	27	Pentacosane	کم	0/03%
3	B-myrcen	-	2/32%	28	Caryophyllene oxide	-	0/59%
4	Campor	0/21%	0/06%	29	Isoledene	-	0/7%
5	Cis-linalool oxid	0/08%	-	30	Globulol	0/14%	0/06%
6	Y-Terpinen	-	1/67%	31	Eugenol	0/5%	0/60%
7	tetradecane	0/07%	0/12%	32	a-terpinene	-	2/08%
8	Dodecane	0/23%	0/11%	33	Dodecanoicacid	-	0/3%
9	Linalool	1/59%	0/00%	34	Endo-borneol	0/2%	1/06%
10	Nonanal	-	0/44%	35	Eucalyptol	کم	12/6%
11	Sabinene	0/06%	کم	36	trans-B-ocimene	-	0/70%
12	Limonene	-	37/6%	37	a-campholenal	-	0/25%
13	Hexadecane	0/13%	0/08%	38	gama-murolene	-	0/28%
14	udecanal	-	0/13%	39	Alloaromadromadendrene	-	0/49%
15	Dodecanal	-	0/13%	40	Heptadecane	0/6%	0/72%
16	Caryophyllene	-	9/08%	41	Pentadecane	0.12%	0/07%
17	Nonanoicacid	-	0.1%	42	Terpinen-4-ol	4/2%	0/54%
18	myrcene	-	2/32%	43	Ecosane	0/07%	کم
19	Thymol	-	0/17%	44	Undecanoicacid	-	0/31%
20	Pinocarvone	0/06%	کم	45	Exo-fenchol	1/71%	0/56%
21	Trans-carvol	1/13%	0/14%	46	n.Hexadcanoicacid	-	0/28%
22	Acetopenone	34/9%	0/76%	47	a-calacorene	-	0/07%
23	Tridecan	-	-	48	B-o cymene	-	0/07%
24	B-pinene	-	10/8%	49	Fenchone	0/42%	0/18%
25	a-Terpinol	-	2/08%	50	Humulene epoxid1	-	0/53%



بررسی جدول شماره ۱، مربوط به ترکیبات گیاه گل بی مرگ نشان می دهد که ترکیبات موجود در اسانس و عرق، تفاوت های قابل توجهی با یکدیگر دارند. در حالی که ترکیباتی مانند آلفا پینن، بتا پینن، لیمونن و اوکالیپتول و کاریوفیلین به عنوان ترکیبات اصلی در اسانس شناخته شده اند، ترکیباتی مانند استوفنون در عرق به عنوان ترکیب موثر شناسایی شده است. همچنین ترکیباتی مانند کامفور، دودکان، تترا دکان، لینالول، هگزادکان، ساینن، ترانس کارول و غیره در هر دو نمونه اسانس و عرق مشترک هستند، اما میزان هر یک از این ترکیبات در دو نمونه متفاوت است. به عنوان مثال، میزان تترا دکان در نمونه اسانس بیشتر از نمونه عرق است، در حالی که میزان لینالول در نمونه عرق بیشتر از نمونه اسانس است. این تفاوت در ترکیبات و میزان آنها می تواند ناشی از عوامل مختلفی مانند روش استخراج، نوع گیاه، شرایط رشد و غیره باشد.

۴. بحث و نتیجه گیری

در پژوهش حاضر، میزان آلفا پینن در اسانس گیاه *Helichrysum ooecephalum* به طور چشمگیری بالا بود (۵۷/۶ درصد) در مقایسه با مطالعات دیگر، اوجی و شفقت (۲۰۱۲) میزان آلفا-پینن در اسانس *H. armenium* را ۱۴٪ گزارش کردند. همچنین، نوری و همکاران (۲۰۱۵) میزان آلفا-پینن در اسانس *H. arenarium* را ۳۲٪ ذکر کرده است. این در حالی است که در اسانس گیاهان دیگر، از جمله گونه *Helichrysum italicum*، میزان کمتری از این ترکیب (۱۵/۲۹ درصد) یافت شده است (Bacic et al., 2021).

این یافته ها، گل بی مرگ را به عنوان منبعی غنی از a-pinene معرفی می کند. پینن به دو ایزومر ساختاری آلفا-پینن و بتا-پینن تقسیم می شود. آلفا و بتا-پینن عمدتاً توسط درختان کاج و بسیاری از مخروطیان دیگر و همچنین طیف وسیعی از گیاهان مانند رزماری، جعفری، ریحان و حتی پوست پرتقال تولید می شوند (Vespermann et al., 2017). این مونوترپن ها فعالیت های بیولوژیکی مختلفی از خود نشان می دهند و طیف وسیعی از کاربردها، از جمله توسعه عوامل ضد میکروبی و ضد ویروسی، طعم دهنده ها، عطرها و عوامل قارچ کش دارند (Yang et al., 2013).

در اسانس گیاه *Helichrysum ooecephalum* با ۹/۰۸ کاریوفیلین بالاترین میزان را نشان داد بطوری که در پژوهش های فیگوریبدو و همکاران (2011) برای گیاه برگ تلخ میزان (۱-۲٪) و جهانتیق (۲۰۱۵) برای *H. arenarium* مقدار ۸ درصد بتا-کاریوفیلین را در اسانس تایید کرده است. این یافته، گیاه بی مرگ را به عنوان منبعی بسیار غنی تر از کاریوفیلین در مقایسه با گیاهان مورد بررسی در مطالعات ذکر شده، معرفی می نماید. کاریوفیلین یک سزکی ترین حلقوی با خواص ضد التهابی و نقش آن در دفاع از گیاه است که در صنایع دارویی و شیمی آلی نیز کاربرد دارد. این ترکیب یکی از ترکیبات رایج در روغن های اسانسی است و معمولاً بوی تند و چوبی مشخصی دارد. مطالعات نشان داده اند که برخی از مشتقات کاریوفیلین، مانند اکسید کاریوفیلین، می توانند خواص ضد التهابی داشته باشند (Morales et al., 2013).

این مطالعه نشان می دهد که *Helichrysum ooecephalum* منبع بسیار غنی تری از کاریوفیلین نسبت به گیاهان مقایسه شده است.



ترکیب اوکالپتول در اسانس گیاه *Helichrysum ooecephalum* به میزان ۱۲/۶٪ شناسایی شد که بیشتر از میزان آن در عرق همین گیاه بود. در مطالعات، فیروزنیا و همکاران (۲۰۰۷) ۲۳/۳٪ از این ترکیب را در اسانس درمنه که از خانواده کاسنیان می باشد گزارش کرد و فرزانه جهانتیق (۲۰۱۵) مقدار ۱۶٪ را در اسانس گیاه *Helichrysum arenarium* تایید کرده است، که همگی مقادیر بیشتری را نسبت به اسانس *H. ooecephalum* در پژوهش ما نشان می دهند. اوکالپتول (۸-۱۱ سینئول) یک اکسید مونوترپن است که عمدتاً از اسانس اکالپتوس استخراج می شود و در گیاهان دیگر مانند رزماری، اسطوخودوس و ترخون نیز به میزان کمتری یافت می شود. این ترکیب به دلیل خواص دارویی، آرایشی و همچنین سمیت بر علیه آفات و قارچ های گیاهی، در صنایع مختلف از جمله داروسازی، آرایشی و بهداشتی و کشاورزی کاربرد دارد. پتانسیل اوکالپتول به عنوان یک ترکیب فعال در فرمولاسیون آفت کش های زیستی برای کنترل حشرات و قارچ های بیماری زا، تاکنون به طور کامل مورد بهره برداری قرار نگرفته است. با این وجود، برخی مطالعات نشان داده اند که اسانس های غنی از اوکالپتول، سمیت قابل توجهی در برابر این آفات از خود نشان می دهند (Wagner et al., 2024).

میزان استوفنون در عرق گیاه بی مرگ برابر با ۳۴/۹٪ گزارش شد که ۳۴ درصد بیشتر از نمونه اسانس همین گیاه است. در مقایسه با سایر مطالعات، از جمله جهرمی و همکاران (۲۰۱۷) میزان بسیار کمتری از استوفنون (۱/۹٪) را در گونه ی *Helichrysum leucocephalum* گزارش کرده است. استوفنون یک ترکیب آروماتیک است که در برخی روغن های ضروری یافت می شود (Baser et al., 2007).

همچنین استوفنون و مشتقات آن دارای خواص ضد میکروبی و ضد التهابی هستند (Lee et al., 2017). مشتقات آنها فعالیت های آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی قابل توجهی نشان می دهند (Kim et al., 2011).

میزان لیمونن در اسانس *Helichrysum ooecephalum* ۳۷/۶٪ گزارش شد. پینو و ماربوت (2012) در مطالعه بر روی گونه های کوبایی *Helichrysum* میزان لیمونن را حدود ۱۰ درصد گزارش کردند. این یافته نشان می دهد که نوع حلال (اتانول در این مورد) نیز می تواند بر میزان لیمونن استخراج شده مؤثر باشد. خوری و سلامه (2015) نشان دادند که لیمونن حدود ۱۵ درصد از ترکیبات اسانس *Helichrysum* را تشکیل می دهد و به خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن اشاره کردند. که در مقایسه با مطالعه ی استاور و همکاران (2018) بر روی *H. italicum* با ۹/۷۳٪ بیشتر بود. این اختلاف نشان دهنده ی تأثیر نوع گونه ی *Helichrysum* بر میزان لیمونن و همچنین تأثیر احتمالی عوامل ژنتیکی، محیطی و روش استخراج است. لیمونن یک مونوترپن و دارای دو ایزومر D و L است که در صنایع مختلف از جمله عطرسازی و محصولات آرایشی، بهداشتی کاربرد دارد. این ترکیب دارای خواص بیولوژیکی متعددی از جمله آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطان و آرام بخش است. تحقیقات نشان می دهند که لیمونن می تواند در مهار رشد سلول های سرطانی، به ویژه در سرطان های ریه و پوست، نقش داشته باشد (Shah and Bhagat., 2020).

این پژوهش تنوع و غنای ترکیبات دارویی را در *Helichrysum ooecephalum* نشان داد و کاربرد آن را در صنایع مختلف مطرح کرد. در نتیجه، *Helichrysum ooecephalum* به دلیل دارا بودن ترکیبات با ارزش، شایسته توجه بیشتر برای تولید محصولات دارویی، غذایی و صنعتی است.



منابع

- آزادبخت، م. ۱۳۹۸. رده بندی گیاهان دارویی. انتشارات تیمور زاده. ۴۰۱ ص
- داوودی مقدم، ه.، محمدی ثانی، ع.، و مهربان سنگ آتش، م. ۱۳۹۲. نقش بازدارندگی اسانس گل بی مرگ بر رشد دو گونه مخمر کاندیدا آلیکنز و ساکارومایسز سروسیسه، بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران- شیراز.
- غلامعلی پور علمداری، ا.، بیات کوهسار، ج.، قربانی، ا.، خوجه، ع. م.، حسن علی زاده چاری، ف. ۱۳۹۴. آنالیز کمی و کیفی برخی متابولیت های اولیه و ثانویه علف های هرز رایج منطقه گنبد کاووس. نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، ۱. (۳۸)، ۶۸-۸۱.
- Bacic, A., Prazina, N. Hadzic-Hasanovic, V., Dacic, M., Ajdanovic, A., & Mahmutovic, O. (2021). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don from Bosnia and Herzegovina. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 22(49 & 50), 67–73.
- Baser, K. H. C., & Demirci, B. (2007). Essential oils of Turkish pine species (*Pinus L.*). *Flavour and Fragrance Journal*, 22(5), 385-388.
- Figueiredo, J. G. Barroso and L. G. Pedro. (2011). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus*.
- Firouznia, A., Akbari, M. T., Rustaiyan, A, Masoudi, S., Bigdeli, M., & Tabatabaei-Anaraki, M. (2007). Composition of the Essential oils of *Artemisia turanica* Krasch. *Helichrysum leucocephalum* Boiss. and *Centaurea ispanhanica* Boiss. Three Asteraceae Herbs Growing Wild in Iran. *Jeobp*, 10(2), 88–93.
- Hashemyan, M., Ganjeali, A., & Cheniany, M. (2020). Effect of Methyl Jasmonate and. Salicylic Acid Elicitors on the Production of Secondary Metabolites and Antioxidant Capacity of *Teucrium polium L.* in vitro. *Iranian Journal of Plant Biology*, 12(44), 61–76.
- Jahantiq, F., Mohamadi Sani, A., & Khiabani, A. (2015). Effect of Extraction Method on Phenolic and Flavonoid Compounds of *Helichrysum arenarium* Essential Oil. *Indian Journal of Natural Sciences*, 5(29), 150-160.
- Jahromi, M. A. F., Dehshahri, S., & Forouzandeh Samani, S. (2017). Volatile Composition, Antimicrobial and free radical scavenging activities of essential oil and total extract of *Helichrysum leucocephalum* Boiss. *Trends in pharmaceutical sciences*, 3(3), 193-200.
- Jeffrey, C. (2007). Compositae-Introduction with key to tribes. In: K. Kubitzki (ed.), the families and genera of vascular plants VIII, 61-77.
- Khoury, M. E., & Salameh, N. (2015). Chemical composition of essential oils from 48. *Helichrysum* species. *Journal of Essential Oil Research*, 27(4), 280-289.
- Kim, Y. H., et al. (2011). Antioxidant and antimicrobial activities of acetophenone derivatives *International Journal of Food Science & Technology*, 46(5), 987-994.
- Lee, M., Lee, H. (2017). Antioxidant Activities of Ducosan in *Helichrysum* Species *Journal of Ethnopharmacology*, 221, 130-138.
- Meyer, M., & Matheka, J. (1998). Antibacterial activity of south african *Helichrysum* species. *South African Journal of Botany*, 64(5), 293–295.
- Morales, M., et al. (2013). Caryophyllene oxide as a potential anti-inflammatory agent. *Phytochemistry Reviews*, 12(4), 841-849.
- Noori, M., Poodineh, M., & Hakimzadeh, V. (2015). Composition of *Helichrysum arenarium* essential oil and antimicrobial activity against some food-borne pathogens. *BTAIJ*, 11(4), 121–125.
- Oji, K.-A., & Shafaghat, A. (2012). Constituents and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from Flower, Leaf and Stem of *Helichrysum armenium*. *Journal of*. 7(5), 671–674.
- Pino, J. A., & Marbot, (2012). Chemical composition of the essential oil from *Helichrysum* species in Cuba. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(3), 195-200.



- Ravishankar, G.A. Rao, S.R., (2000) Biotechnological production of phytopharmaceuticals, J Biochem Mol Biol Biophys, vol. 4, pp. 73-102.
- Shah, P. M., & Bhagat, M. (2020). "Limonene as a Potential Anticancer Agent: A Review of Mechanisms and Applications. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 30(2), 126-134.
- Staver, M. M., Gobin, I., Ratkaj, I., Petrović, M., Vulinović, A., Dinarina-Šablić, M., & Broznić, D. (2018). In vitro antiproliferative and antimicrobial activity of the essential oil from the flowers and leaves of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don growing in Central Dalmatia (Croatia). Journal of Essential Oil Bearing Plants, 21(1).
- Vespermann, K. A., Paulino, B. N., Barcelos, M. C., Pessôa, M. G., Pastore, G. M., & Molina, G. (2017). Biotransformation of α - and β -pinene into flavor compounds. Applied Microbiology and Biotechnology, 101(4), 1805–1817.
- Wagner, L. S., Sequín, C. J., Perusset, S. A., Fernández, E. N., Pretti, J., & Campos-Soldini, M. P. (2024). Eucalyp(1-8cineole), a monoterpene oxide with potential for protecting soybean crops against insect pests and phytopathogenic fungi. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3937924/v1>
- Yang, J., Nie, Q., Ren, M., Feng, H., Jiang, X., Zheng, Y., & others. (2013). Metabolic engineering of *Escherichia coli* for the biosynthesis of α -pinene. Biotechnology for Biofuels, 6(1), 60.

بررسی میزان ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی گیاه *Centaurea balsamita*ملیحه حمیدی میناچی^۱، مهدی آخوندی^۱، راهله رهباریان^{*۱}^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران (ra_rahbarian@yahoo.com)**چکیده**

گل گندم (*Centaurea balsamita*) گیاهی یک ساله از خانواده کاسنی (Asteraceae) است که در ایران، عراق، ترکیه و پاکستان و برخی از کشورهای اروپایی یافت می شود و ۳۷ گونه از این جنس منحصر به ایران است. در این مطالعه میزان ترکیبات فنلی و خواص آنتی اکسیدانی موجود در اندامهای مختلف (برگ، گل و ساقه) گیاه *Centaurea balsamita* مورد ارزیابی قرار گرفته است. اندام هوایی گیاه *Centaurea balsamita* جهت اندازه گیری میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی اکسیدانی در شرایط تاریک و بدون رطوبت به مدت یک هفته خشک و سپس پودر شد. پارامترهای مختلف همچون میزان فنل کل، فلاونوئید کل و خاصیت آنتی اکسیدانی در برگ، گل و ساقه گیاه اندازه گیری شد. آزمایشات نشان داد ترکیبات فنولی در برگ گیاه *Centaurea balsamita* بیشترین میزان و در ساقه کمترین مقدار را داشته و ترکیبات فلاونوئیدی در گل بیشترین مقدار و در ساقه کمترین مقدار را داشته است. بر اساس سنجش میزان DPPH نیز مشخص شد که این گیاه خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی دارد و می توان از آن برای پیشگیری و درمان بیماری ها استفاده کرد.

واژگان کلیدی: ترکیبات فنلی، خاصیت آنتی اکسیدانی، خاصیت دارویی، گل گندم، *Centaurea balsamita*.



۱. مقدمه

استفاده از داروهای گیاهی برای درمان بیماریهای مختلف به دوران تمدن بشری برمی گردد که در تمام فرهنگها در طول تاریخ از آن استفاده می شده است. علم و دانش گیاهان دارویی به تدریج توسعه یافت و از فردی به فرد دیگر منتقل شد که اساس طب سنتی در سراسر جهان را تشکیل داد. استفاده از داروهای گیاهی در برخی از کشورها به سنت دیرینه آن کشورها مربوط می شود. مهمترین عوامل در استفاده مستمر از داروهای سنتی در دسترس بودن، ارزان بودن و دلایل فرهنگی اجتماعی آنهاست (Tyler, 2016).

امروزه استفاده از مواد گیاهی موثر و اطلاعات علمی در مورد آنها، شرایط را برای شکل گیری رشته مدرن علوم گیاهی فراهم می کند. علوم گیاهی، علمی است که از ادغام زمینه های مختلفی علمی مانند اقتصادی، اجتماعی، سیاسی، شیمی، بیوشیمی، فیزیولوژی، میکروب شناسی، پزشکی و کشاورزی که قبلاً هرگز به هم مرتبط نبوده اند، به وجود آمده است.

اهمیت گیاهان دارویی به عنوان منبع داروهای فعال ناشی از ترکیباتی است که اثرات فیزیولوژیکی بر سیستم های بیولوژیکی دارند. اثبات شده است که فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، تانن ها و ترکیبات فنولی به عنوان مهم ترین ترکیبات فعال زیستی در گیاهان اند. هم چنین خاصیت آنتی اکسیدانی در گیاهان مربوط به ترکیبات فلاونوئیدی و دیگر پلی فنول ها می باشد (چشمی و رضایی سرشت، ۱۳۹۶).

متابولیت های اولیه گیاه شامل ترکیبات نوکلئیک اسیدها، پروتئین ها، کربوهیدرات ها، چربی ها و لیپیدها می باشند که با ساختار، فیزیولوژی و ژنتیک گیاه مرتبط بوده و نقش حیاتی در رشد گیاه دارند (Pagare et al., 2015). متابولیت های ثانویه در گیاهان از متابولیت های اولیه مانند کربوهیدرات ها، لیپیدها و اسیدهای آمینه سنتز می شوند. متابولیت های ثانویه برای دفاع از گیاه در برابر گیاه خواران و عوامل بیماری زا مورد نیاز می باشند. اغلب آنها نقش محافظت از گیاه در برابر تنش های محیطی را دارند. همچنین دلیل اینکه گیاهان دارای بو، طعم و رنگ های متفاوت و خاص هستند، مربوط به متابولیت های ثانویه است. متابولیت های ثانویه گیاهی، منابعی مهم و منحصر به فردی برای افزودنی های غذایی، طعم دهنده ها، داروها و سایر داروهای مهم صنعتی هستند. ترکیبات متابولیت های ثانویه مانند کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها در رنگدانه های سلولی در گل ها و دانه ها نقش دارند که موجودات گرده - افشان و پراکنده کننده دانه را جذب می کنند (Ravishankar and Rao, 2020).

متابولیت های بیولوژیکی معمولاً بر اساس منشأ به سه گروه ثانویه مهم شامل ترپنها، فنول ها و ترکیبات نیتروژن دار تقسیم می شوند. ترپنها یا ترپنوئیدها بزرگترین گروه متابولیت های ثانویه هستند که عموماً در آب نا محلول می باشند. نکته مشترک در ساختار تمام ترپنها وجود واحدهای پنج کربنی مشابه در همه آنهاست که به واحدهای ایزوپرن معروف هستند. متابولیت های ثانویه نیتروژن دار شامل آلکالوئیدها و گلیکوزیدهای سیانوژنیک و ترکیبات فنولی شامل اسیدهای فنولیک، آنتوسیانینها، آنتوسیانیدینها و لیگنینها هستند (Jeffrey et al., 2007).

ترکیبات فنولی پراکنده ترین ترکیبات طبیعی در گیاهان هستند. این ترکیبات متابولیت های ثانویه ای هستند که از مسیر بیوسنتزی شیکیمیک اسید تولید می شوند. ترکیبات فنولی نقش کلیدی در ساختار و رشد، تنظیم رنگدانه ها در برابر عوامل بیماری - زای مختلف



در گیاهان را بر عهده دارند. فنولیکهای موجود در منابع طبیعی دارای فعالیتهای بیولوژیکی آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد حساسیت، ضد سرطان، ضد فشار خون، محافظت از قلب، ضد آرتروز و ضد میکروبی هستند (Taleghani et al., 2020).

ساختار شیمیایی پایه ترکیبات فنولی شامل حداقل یک حلقه آروماتیک با یک یا چند گروه هیدروکسیل است و در طبیعت دارای ساختارهای شیمیایی متنوعی هستند که از ساختارهای شیمیایی ساده (مانند اسیدهای فنولیک) گرفته تا ترکیبات پلیمریزه شده با ساختارهای پیچیده (مانند پروآنتوسیانیدین ها) را شامل می شوند. آنها تبدیل به ترکیبات فنولی در مواد غذایی می شوند که به سه گروه اصلی تقسیم می شوند که شامل فنولهای ساده، اسیدهای فنولیک، مشتقات اسید هیدروکسینامیک و فلاونوئیدها می شوند (مزینانی و همکاران، ۱۴۰۰). اگرچه تمام متابولیت های ثانویه گیاهی اساساً با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می شوند، تولید آن ها به وضوح تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی مختلف است. تحقیقات نشان می دهد که استفاده از ترکیبات فنولی به علت خصوصیات بالای آنتی اکسیدانی و نقش مفید آنها باعث شد که به کارگیری این ترکیبات به مقدار زیادی در مواد غذایی افزایش یافته است (Williams et al., 2004).

گل گندم (*Centaurea balsamita*) گیاهی یک ساله از خانواده کاسنی (*Asteraceae*) است که در ایران، عراق، ترکیه و پاکستان و برخی از کشورهای اروپایی یافت می شود. ۷۴ گونه از این تیره در ایران معرفی شده است که ۳۷ گونه آن منحصر به ایران است. پراکندگی این گونه در شمال، شمال غرب، غرب، مرکز و شرق ایران گزارش داده شده است. این گیاه دارای ساقه منشعب، برگهای سبز مایل به سفید و دارای کرکهای پنبه ای فراوان است. گل های این گیاه به صورت گل آذین کلاپرک و به رنگ زرد و منحصراً از گلچه های لوله ای تشکیل شده است. این جنس از این گیاه به عنوان یک علف هرز مهاجم در مزارع دیم گندم و غلات پاییزه در مزارع کرمانشاه مطرح شده است و چون در مزارع گندم و غلات یافت می شود به گل گندم معروف است (یزدانی پور و همکاران، ۱۳۹۶).

ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان دارویی، آن ها را به گزینه ای ایده آل برای پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری ها تبدیل کرده است. این گیاهان به دلیل ماهیت طبیعی و وجود ترکیبات همولوگ دارویی که به صورت سینرژیک عمل می کنند، اغلب با بدن سازگاری بیشتری داشته و عوارض جانبی کمتری نسبت به داروهای شیمیایی دارند. بنابراین انجام تحقیقات گسترده علمی برای شناسایی دقیق ترکیبات موثر گیاهان دارویی و توسعه داروهای گیاهی ایمن و موثر، از اهمیت ویژه ای برخوردار است (علیزاده و همکاران، ۱۳۹۴).

از آنجایی که تأثیر نوع اندام بر محتوای متابولیت های ثانویه از جمله ترکیبات تشکیل دهنده اسانس و میزان فنل و فلاونوئید و خواص بیولوژیک مثل فعالیت آنتی اکسیدانی در بسیاری از مطالعات تأیید شده است و با توجه به اینکه تاکنون مطالعه ای روی اندام های مختلف گیاه گل گندم انجام نشده است، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر نوع اندام (برگ، ساقه و گل) بر خاصیت آنتی اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید گیاه *Centaurea balsamita* انجام گردید.

۲. مواد و روش ها

گیاه گل گندم با نام علمی *Centaurea balsamita* از مناطق اطراف مشهد در نواحی سد طرق جمع آوری و توسط کارشناس گیاه شناسی جنس و گونه آن مورد تایید قرار گرفت. بعد از جمع آوری جهت انجام آزمایشات گیاه را در یک محل تاریک و بدون



رطوبت به مدت یک هفته قرار داده تا به مرور خشک شود و جهت جلوگیری از آسیب دیدن نمونه ها، هر چند روز یکبار جابه جا شدند.

۲- ۱. سنجش میزان فنل کل در گیاه

محتوای فنلی کل براساس روش رنگ سنجی فولین سیکالتیو با استفاده از اسید گالیک به عنوان استاندارد تعیین شد. این روش یکی از رایج ترین روش های اندازه گیری ترکیبات فنلی کل است. به این منظور ۰/۶ گرم بافت خشک اندام هوایی گیاه (کاملاً پودر شده) به همراه ۲ سی سی اتانول در دستگاه سانتریفیوژ در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرارداده شد. بعد از سانتریفیوژ مقدار ۰/۱ سی سی از قسمت بالای نمونه سانتریفیوژ شده برداشته شد. ۴ سی سی آب مقطر و ۰/۲ سی سی از معرف فولین سیو کالیتو یک درصد اضافه کرده و بعد از گذشت ۳۰ دقیقه میزان جذب این نمونه در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. میزان فنل کل بر اساس مقدار معادل میلی گرم اسید گالیک در هر گرم عصاره گزارش شد. آزمایش ها سه بار تکرار و میانگین آن ها گزارش شد (Slinkard and Singleton, 1997)

۲- ۲. سنجش ترکیبات فلاونوئیدی کل

اندازه گیری میزان کل ترکیبات فلاونوئیدی بر اساس روش چانگ و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد. برای انجام سنجش، ۰/۵ میلی لیتر از هر عصاره گیاهی با ۱/۵ میلی لیتر از حلال استخراج (متانول یا اتانول) مخلوط شد. سپس ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰٪ (تهیه شده در حلال استخراج) و ۰/۱ میلی لیتر پتاسیم استات ۱ مولار (تهیه شده با آب مقطر) اضافه شد. در نهایت با استفاده از ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر، حجم مخلوط واکنش به ۵ میلی لیتر رسید. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در اتاق قرار داده شد و سپس جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه گیری شد. اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره های اتانولی به روش ماسریشن از اندام های مختلف برای هر نمونه استخراج و انجام شد. مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی عصاره ها با کمک منحنی استاندارد کوئرستین محاسبه و بر حسب میلی گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم بافت خشک گیاه تعیین شد. برای اندازه گیری فلاونوئید در طول موج ۴۱۵ نانومتر در غلظت های مختلف کاتچین (شرکت سیگما آمریکا) از اسپکتروفتومتر استفاده شد و غلظت فلاونوئید در نمونه های مختلف و بر حسب میلی گرم کاتچین در گرم وزن تازه بافت بیان شد (Yoo et al., 2008)

۲- ۳. سنجش DPPH

مقدار ۱ گرم از هر اندام گیاه در هاون چینی کوبیده و خرد شد. سپس ۱۰ میلی لیتر متانول ۹۵٪ به آن اضافه شد که برای سه تکرار در مجموع ۳ گرم ساقه، ۳ گرم برگ و ۳ گرم گل استفاده شد. قسمت بالایی محلول به دست آمده جدا شد و سپس محلول به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت و سپس فاز مایع رویی خارج شد و به عنوان عصاره گیاهی استفاده شد و تا زمان اندازه گیری صفات بیوشیمیایی در یخچال نگهداری شد. به منظور تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی یا همان سطح مهار رادیکال آزاد اندام هوایی گیاه از روش اندازه گیری کاهش ظرفیت رادیکالی و با کمک ۲.۲ دی فیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده شد. بنابر این برای این منظور ۲ میلی لیتر از محلول اتانولی ۰/۱۵



میلی مولار DPPH به لوله آزمایش حاوی ۱ میلی لیتر عصاره برگ اضافه شد. سپس محلول حاصل به مدت ۳۰ ثانیه با دستگاه ورتکس مخلوط شد. بعد از آن محلول به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق تثبیت شد. جذب نمونه ها با دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. مقدار گرم ۰/۰۰۱ گرم DPPH در ۲۰ سی سی اتانول حل شد و پتاسیم استات ۰/۱ گرم در ۱ سی سی آب مقطر حل شده و استفاده شد (Turkmen et al., 2005).

۲ - ۴. مطالعات آماری

کلیه آزمایش ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.4 انجام شد. مقایسه میانگین با آزمون دانکن و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

۳. نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تغییرات میزان فنل و فلاونوئید اندامهای مورد بررسی در سطح ۱ درصد معنی دار بوده، در حالی که تغییرات میزان DPPH معنی دار نبود (جدول ۱).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس داده های مربوط به صفات مورد مطالعه در گیاه گل گندم

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		فنل	فلاونوئید
		(mgGAE/gD.w)	(mgQuE/g)
DPPH			
(μM/mgFW)			
مدل	۲	۱۴/۴۰۷**	۶۳۲۷۰**
خطای آزمایشی	۶	۰/۰۴۳	۱۰۹۶۸
			۳۰/۵۵۵

غیر معنی دار. n.s. ** معنی دار در سطح ۱٪، * معنی دار در سطح ۵٪،

همچنین همانطور که در جدول ۲ مربوط به مقایسه میانگین داده های اندام های مختلف مشخص می باشد بیشترین میزان فنل در برگ و کمترین میزان در ساقه می باشد که از این لحاظ بین اندام های مختلف اختلاف معنی داری وجود دارد ($p < 0.05$). در بررسی داده ها همچنین نشان داده شده است که میزان فلاونوئید در گل، ساقه و برگ به ترتیب ۳۳۰۶/۶۷، ۲۴۰۰ و ۴۶۳/۶۷ می باشد که با هم اختلاف معنی داری دارند ($p < 0.05$).

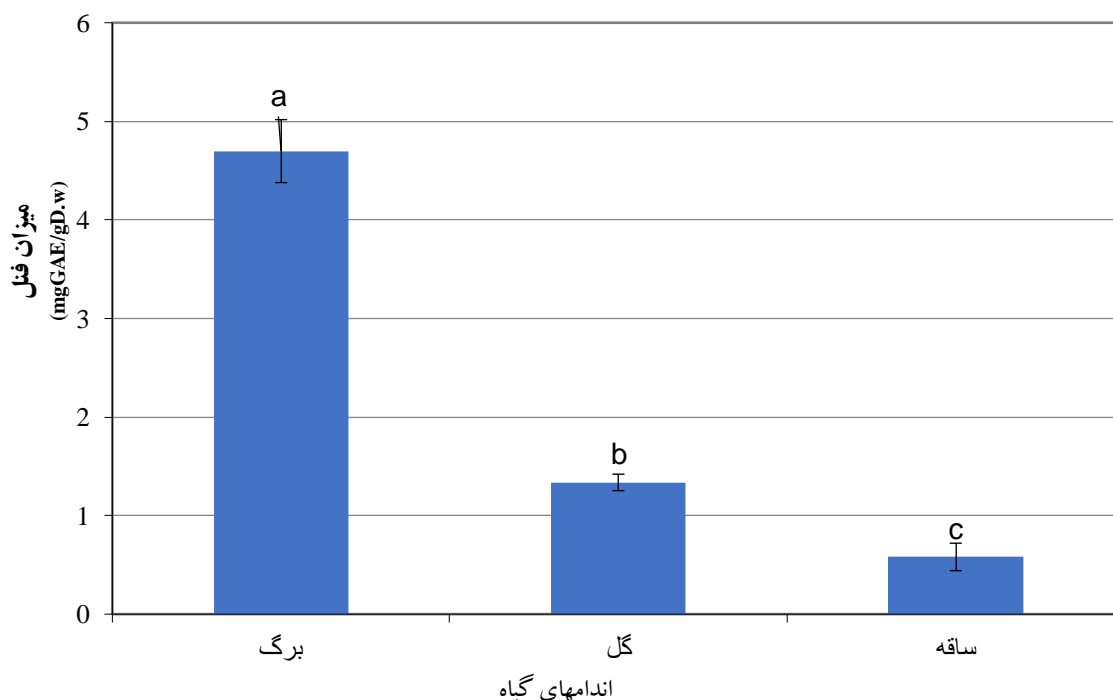
در خصوص میزان DPPH مقایسه میانگین داده های حاصل نشان می دهد که میزان این ماده در گل بیشترین و در ساقه کمترین مقدار بوده است، اما بررسی داده ها دلالت بر عدم اختلاف معنی دار در اندام های گیاه از نظر این شاخص است (جدول ۲).

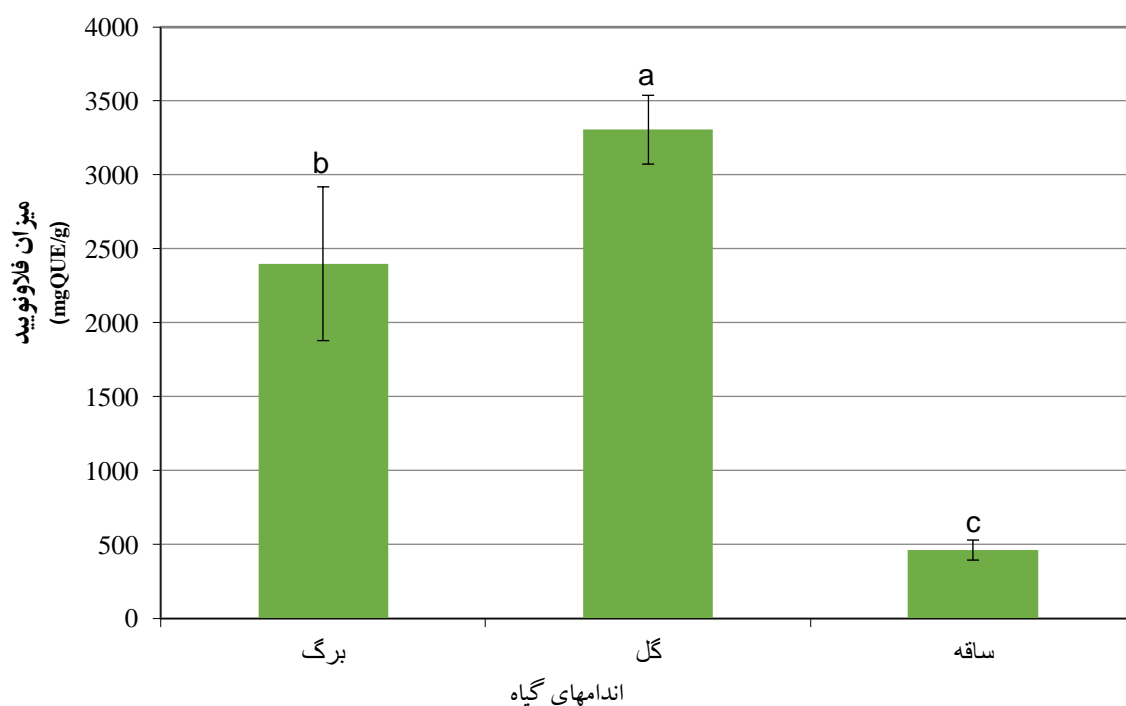
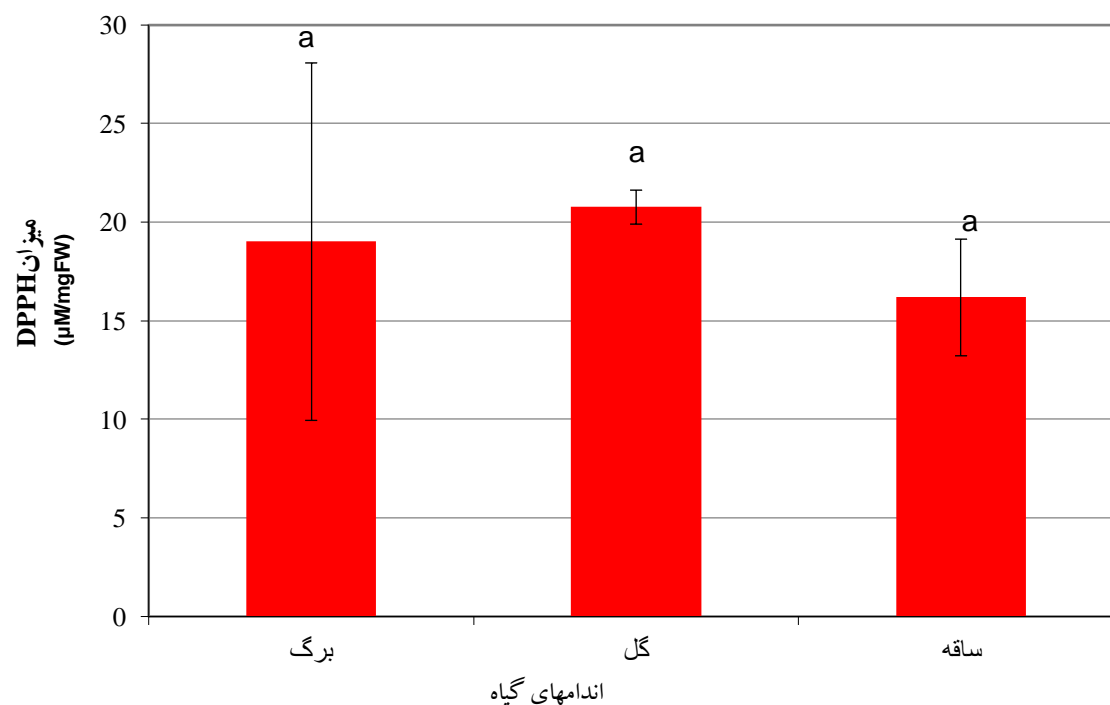
جدول ۲. مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در گیاه گل گندم

اندام گیاه	فنل	فلاونوئید	DPPH
برگ	۴/۶۹۷۷a	۲۴۰۰/۰۰b	۱۹/۰۱۳۳a
گل	۱/۳۳۶۷b	۳۳۰۶/۶۷a	۲۰/۷۶۶۷a
ساقه	۰/۵۸۱۰c	۴۶۳/۶۷c	۱۶/۱۸۳۳a

در هرستون اعدادی که حروف مشترکی دارند، تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند ($\alpha = 0.01$)*

نتایج آزمایش نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در برگ گیاه *Centaurea balsamita* نسبت به گل و ساقه‌ی این گیاه به میزان بیشتری یافت شد. به طور میانگین بالاترین میزان ترکیبات فنلی در برگ و کمترین آن در ساقه‌ی این گیاه مشاهده شد (نمودار ۱). هم چنین نتایج آزمایش نشان داد میانگین مقدار فلاونوئید در گل بیشترین میزان و در ساقه کمترین میزان را داشته است (نمودار ۲). مقدار DPPH نیز در نمونه ساقه و گل و برگ مقادیری نزدیک بهم را داشته است (نمودار ۳).

نمودار ۱. میزان فنل در برگ، گل و ساقه گیاه *Centaurea balsamita*

نمودار ۲. میزان فلاونوئید در گل، برگ و ساقه گیاه *Centaurea balsamita*نمودار ۳. میزان DPPH در قسمت های برگ، گل و ساقه گیاه *Centaurea balsamita*



۴. بحث و نتیجه گیری

گیاهان در طبیعت مانند کارخانه های تولید مواد طبیعی عمل می کنند. این مواد شامل متابولیت های اولیه و ثانویه می شود (الماسی و همکاران، ۱۳۹۴). خاصیت آنتی اکسیدانی گیاهان از اکسید شدن لیپیدها و پروتئین های حیاتی جلوگیری می کند و مانع تشکیل رادیکال های آزاد و زنجیره های اکسیداتیو می شود. این خاصیت از بیماری های قلبی و سرطان پیشگیری کرده و باعث تقویت سیستم ایمنی و کاهش التهابات می شود. خاصیت آنتی اکسیدانی این گیاهان عمدتاً به دلیل وجود ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها، فنولیک اسید و دی ترپن های فنلی است (Yudim et al., 2011; Szulusi and Vaga, 2002). این ترکیبات می توانند در مراحل مختلف اکسیداسیون دخالت کرده و از تشکیل رادیکال های آزاد جلوگیری کنند (Ugurlu and Secmen, 2008). ترکیبات فنلی به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری های صعب العلاج موثر هستند (عابدی و همکاران، ۱۳۸۸).

جوانمردی و همکاران (۲۰۰۳) نیز با بررسی ترکیب های فنلی و خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه ریحان اعلام کردند که همبستگی بالایی بین ترکیب های فنلی و خاصیت آنتی اکسیدانی این گیاهان وجود دارد. رحمان و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنلی موجود در گیاه دارویی سنا، به این نتیجه رسیدند که این گیاه را می توان به عنوان یکی از منابع آنتی اکسیدان در نظر گرفت. حری و همکاران (۲۰۲۳) با بررسی نتایج بدست آمده حاصل از آزمون فیتوشیمیایی و تعیین فعالیت مهار آنتی اکسیدانی (DPPH) گیاه زرد چوبه (*Centaurea longa*) حضور ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در این گیاه را گزارش کرده اند و نتایج آزمون DPPH نشان دهنده وابستگی خاصیت مهارکنندگی رادیکال آزاد به غلظت های مختلف عصاره زردچوبه می باشد که با افزایش غلظت، میزان DPPH نیز افزایش می یابد.

فاضلی نسب و میرزایی (۱۳۹۷) در ارزیابی میزان مواد آنتی اکسیدانی، فنل تام و فلاونوئید گیاهان خانواده کدوئیان (خیارو کدو)، عنایان (کنار) و مرکبات (نارنگی، پرتغال، لیمو و غیره)، گزارش دادند که ژنوتیپ های خانواده کدوئیان بالاترین میزان فنل تام و فلاونوئید را داشتند.

صادقی و زارعی (۱۳۹۹) در مطالعه ای روی گیاه شاتره و خاکشیر نشان دادند که اندام هوایی مانند گل و برگ دارای بالاترین میزان فنل و فلاونوئید هستند. علاوه بر این، این اندام ها پتانسیل بالاتری از توانایی رادیکال آزاد (DPPH) را دارا می باشند که نشان دهنده فعالیت ضد اکسیدانی قوی تر آن ها هستند. الماسی و همکاران (۱۳۹۴) در مطالعه ای تحت عنوان سنجش محتوای فنلی، فلاونوئیدی و آنتی اکسیداتیو خواص ضد باکتریایی عصاره متانولی از سه گونه از جنس *Centaurea* به این نتیجه رسیدند که در گونه های *C. irasharri*، *C. imperialis* و *C. glastifolia* محتوای فنلی و فلاونوئیدی قابل توجه بود. اما گونه *C. glastifolia* نسبت به دو گونه دیگر از نظر محتوای فنلی، فلاونوئیدی و پتانسیل آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی برتر بوده است و از این رو شاید بتوان خاصیت ضدباکتریایی و آنتی اکسیدانی بالای این گیاه را به محتوای فنلی و فلاونوئیدی بالای آن نسبت داد.

نتایج پژوهش ها نشان داده است که استفاده از کود اوره باعث افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی در گیاه *Centaurea balsamita* گردیده اما این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود (Peker et al., 2020). از آنجایی که خاصیت آنتی اکسیدانی



این گیاه به میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و دی ترپن های فنلی بستگی دارد و میزان کل این ترکیبات در قسمت های مختلف تفاوت زیادی با هم نداشت، به نظر می رسد عدم تفاوت معنی دار خاصیت آنتی اکسیدانی در بخش های مختلف به دلیل تأثیر سایر ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، ویتامین ها و آنتوسیانین ها بر خاصیت آنتی اکسیدانی باشد. همچنین نتیجه این پژوهش نشان داد که گیاه *Centaurea balsamita* دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی می باشد.

در پژوهش حاضر بیشترین میزان فنل در برگ گیاه و کمترین میزان آن در ساقه مشاهده شد. هم چنین بیشترین میزان فلاونوئید در گل و کمترین مقدار آن در ساقه گیاه *Centaurea balsamita* یافت شد که بالابودن میزان فنول و فلاونوئید در برگ و گل گیاه ممکن است به دلیل شرایط محیطی و یا ویژگی های ژنتیکی گیاه باشد و این امکان را فراهم می کند که گیاه در برابر آفات و بیماری ها، اشعه ماوراء بنفش، خشکی و گرما یا سموم محیطی از خود محافظت کند. در خصوص میزان DPPH مقایسه میانگین داده های حاصل نشان می دهد که میزان این ماده در گل بیشترین و در ساقه کمترین مقدار بوده است اما اختلاف معنی داری بین اندام های این گیاه از نظر این شاخص وجود ندارد و به این معنی است که تمامی بخش های این گیاه ترکیبات ضد اکسیدانی مشابهی دارند که به طور یکسان می توانند از سلول ها و بافت ها در برابر آسیب های اکسیداتیو محافظت کنند.

در گونه های دیگر *Centaurea* از جمله *C. erythraea* نیز بیشترین محتوای فنل و فلاونوئید کل در مرحله گلدهی مشاهده می شود و این گیاه می تواند به عنوان منبع آنتی اکسیدان طبیعی در دسترس باشد که در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد. در گونه *C. cyanus* نیز محتوای فنولی و فلاونوئیدی قابل توجهی وجود داشته که خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی را در این گیاه به وجود می آورد. از این رو نتایج این پژوهش با سایر یافته ها در مورد گیاه *Centaurea* همسو بوده و این گیاه با دارابودن میزان بالایی از ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی اکسیدانی به عنوان یکی از منابع مهم آنتی اکسیدان های گیاهی معرفی می شود و این احتمال می رود که در تولید مواد دارویی و اسانس های خوراکی بتوان از ترکیبات این گیاه استفاده کرد.

منابع

- الماسی، ن.، کرمان، ر.، کریمی، ف. ۱۳۹۴. ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره متانولی سه گونه از جنس *Centaurea* L (مرکبان) از ایران. مجله پژوهش های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران) (علمی). ۲۸(۲): ۲۲۴-۲۳۴.
- چشمی، ح.، رضائی سرشت، ح. ۱۳۹۶. مطالعه خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره گلبرگ داتوره تماشایی آنتی اکسیدانی نوین با منشا طبیعی در صنایع غذایی. علوم غذایی و تغذیه. ۱(۳): ۲۹-۳۶.
- حری، ف.، رجایی لیتکوهی، ه.، رهایی، س.، گواهی، م. ۱۴۰۲. ارزیابی محوای فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی کورکومین. سومین کنفرانس بین المللی فناوری های نوین در علوم، آمل، ایران.
- صادقی، م.، زارعی، م. ۱۳۹۹. ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و تعیین میزان فنل و فلاونوئید عصاره هگزانی اندام های هوایی گیاهان خاکشیر و شاه تره. مجله پژوهش های گیاهی. ۳۳(۲): ۳۸۴-۳۹۵.
- عابدی، ز.، حاجی مهدی پور، ه.، خانوی، م.، شکرچی، م.، پیرعلی همدانی، م. ۱۳۸۸. بررسی بهترین روش استخراج ترکیبات فنلی موجود در گیاه سرخارگل. مجله گیاهان دارویی. ۳۲(۸): ۱۴۵-۱۵۴.



- علیزاده، م.، یاریاب، س.، جعفری، ع.، صالحی شانجانی، پ. ۱۳۹۴. بررسی تنوع صفات مورفولوژیکی، عملکرد اسانس و درجه حرارت تجمع‌ی رشد روزانه در جمعیت‌های بابونه کاذب. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۱ (۶): ۹۶۷-۹۷۶.
- فاضلی نسب، ب.، میرزایی، ن. ۱۳۹۷. ارزیابی محتوای فنل تام و فلاونوئید در طیف گسترده ای از گیاهان بومی و وارداتی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام. ۲۶ (۲): ۱۵۴-۱۴۱.
- یزدانی پور، ص.، علیزاده، ح.، نصرتی، ا.، بهرامی‌نژاد، ص. ۱۳۹۶. بررسی عوامل و شرایط مختلف محیطی موثر در شکستن خواب و جوانه‌زنی بذر علف هرز گل گندم مرهمی (*Centaurea balsamita Lam*) دانش علف‌های هرز ایران. ۱۳ (۱): ۸۶-۸۹.
- مزینانی، ص.، سیر، ز.، ابراهیمی، پ. ۱۴۰۰. مروری بر ترکیبات فنولی: ساختار شیمیایی، روش‌های استخراج و اندازه‌گیری و نقش آنها در قهوه‌ای شدن آنزیمی. کنگره بین‌المللی علوم غذا و سلامت عمومی، تهران، ایران.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., and Cherrn, J. (2002). Estimation of total Flavonoid Content in propolis by two Complementary Colorimetric Methods. Food and Drug Analysis, 10: 178-182.
- Jeffrey, C. (2007). Compositae-Introduction with key to tribes. In: K. Kubitzki (ed.), the families and genera of vascular plants, 15(3): 61-77.
- Ravishankar, G.A., and S.R., Rao. (2000). Biotechnological production of phytopharmaceuticals, J Biochem Mol Biol Biophys, 31(4) : 73-102.
- Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., Bais, H.P., and Vivanco, J.M. (2002). Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. Journal Agricultural and Food Chemistry, 50 (2):5878-5883.
- Peker, S and Baştürk, A. (2020). Volatile Compounds, Fatty Acid Composition and Antioxidant Activity of *Centaurea albonitens* and *Centaurea balsamita* Seeds Growing in Van, Turkey. European Journal of Nutrition & Food Safety, 11 (4): 187-199.
- Rahman, A, Rahman, M.M., Islamsheik, M.M., Rahman, M.M., Shadli, M.S., and Alam, M.F. (2008). Free radical scavenging activity and phenolic content of *cassia sophora*. African j. Biotech, 7(10): 1591-1593.
- Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S., and Bansal. Y.K., (2015). Secondary Metabolites of Plants and their Role: Overview. Current Trends in Biotechnology and Pharmacy, 9 (3): 293-304.
- Szöllősi, R., & Varga, I. S. I. (2002). Total antioxidant power in some species of Labiatae: Adaptation of FRAP method. Acta Biologica Szegediensis, 46(3-4), 125-127.
- Slinkard, K., and Singleton, V. (1997). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. American journal of enology and viticulture, (28): 49-55
- Taleghani, S., Emami, A., and Tayarani-Najaran, Z., (2020). Artemisia a promising plant for the treatment of cancer. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 28 (1): 115-180.
- Turkmen, N., Sari, F., and Velioglu, Y.S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected vegetables. Journal of Agricultural and food Chemistry, 93(4):713-718.
- Ugurlu, E., Secmen, O. (2008). Medicinal plants popularly used in the villages of Yunt Mountain (Manisa-Turkey). Fitoterapia, 79 :126-131.
- Tyler, V.E. (2016). Human Medicinal agents from Plants. (A. D. Kinghorn and M. F. Balandrin, Eds.) ACS Symposium Series 534, Washington DC.



- Williams, R.J., Spencer, J., Rice-Even, C. (2004). Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? Free Radical Biology & Medicine, 36(7):838-49.
- Yudim, T., Gokhan, Z., Abdurrahman, A., Mehmet, S., Emrah, T. (2011). Antibacterial activities of extracts from twelve *Centaurea species* from Turkey. Archives of Biological Sciences ,63(3): 685-690.
- Yoo, K.M., Lee, C., Lee, H., Moon, B.K., and Lee, C.Y. (2008). Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. Food Chemistry, 106: 929-936.



بررسی پروفایل فنولی و سمیت سلولی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) تحت تیمار الیسیتورهای زیستی

خدیجه باوی^{۱*}، رمضانعلی خاوری نژاد^۱، فرزانه نجفی^۱، فائزه قناتی^۲

^{۱*} گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران (kh.bavi.pphy@gmail.com)

^۲ گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

چکیده

آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) گیاه دارویی مهم با ویژگی های زیستی مختلف ضد باکتری، ضد قارچ، ضد التهاب و ضد سرطان می باشد. القای تولید متابولیت های با ارزش دارویی در سیستم های کشت بافت توسط محرک های مختلف یکی از مهم ترین استراتژی ها برای بهبود تولید متابولیت های دارویی است. در این تحقیق از گیاهان ۶۰ روزه آویشن شیرازی رشد کرده در محیط MS که با محرک های زیستی کیتوزان (۴۰ میلی گرم بر لیتر) و عصاره مخمر (۸۰۰ میلی گرم بر لیتر) به مدت سه روز تیمار شده بودند، جهت آزمایش های تعیین کمی و کیفی متابولیت های ثانویه عصاره گیاهی با استفاده از دستگاه HPLC و بررسی سمیت سلولی استفاده گردید. محرک های زیستی بکار رفته منجر به القا تولید متابولیت های کافئیک اسید، *p*-کوماریک اسید، انژنول، سیناپیک اسید و تیمول در اندام های هوایی آویشن شیرازی شدند. بررسی اثر سمیت سلولی عصاره های اندام های هوایی تیمار شده آویشن شیرازی بر لاین سلولی سرطان سینه (MCF7) توسط سنجش MTT نشان داد که این عصاره ها مانع از رشد سلول های سرطانی شدند. IC_{50} مربوط به عصاره های گیاهان تیمار شده با کیتوزان و عصاره مخمر به ترتیب برابر با $3/58 \pm 0/10$ و $16/11 \pm 2/1$ میلی گرم بر میلی لیتر بود. به نظر می رسد که استفاده از این محرک ها می تواند روشی کارآمد برای بهبود تولید متابولیت های با ارزش دارویی در گیاه آویشن شیرازی باشد.

واژگان کلیدی: آویشن شیرازی، ترکیبات فنولی، سمیت سلولی، عصاره مخمر، کیتوزان



۱. مقدمه

گیاهان منابع با ارزشی از ترکیبات فعال زیستی هستند که بسیاری از ترکیبات مهم دارویی را تولید می کنند که این ترکیبات جایگزین مناسبی نسبت به دارو های سنتزی هستند (Salehi et al., 2017). متابولیت های ثانویه دارای فعالیت های زیستی متنوعی هستند. مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئیدی در گیاهان یکی از مسیر های مهمی است که تحت تاثیر محرک های مختلف زیستی و غیرزیستی قرار می گیرد. بنابراین استفاده از محرک ها ابزاری برای بهبود و افزایش تولید ترکیبات با ارزش گیاهی و تقویت متابولیسم ثانویه گیاه محسوب می شود (Zhang et al., 2004). در بین محرک های مختلف، محرک های زیستی به صورت گسترده به منظور تولید متابولیت های ثانویه و بررسی مسیر های متابولیکی مختلف در کشت سلولی و ریشه های موئین و کشت در شیشه به کار رفته اند.

کیتوزان و عصاره مخمر به مقدار وسیعی برای راه اندازی مسیر متابولیت های ثانویه در سلول های گیاهی به کار می روند (Dowom et al. 2017). در این پژوهش، محرک های زیستی کیتوزان و عصاره مخمر در بالاترین غلظت به کار رفته، محتوای فنول کل و فلاونوئید ها را افزایش دادند. به نظر می رسد که این محرک های زیستی مشابه با آلودگی قارچی طبیعی، منجر به پاسخ دفاعی از طریق القا و یا افزایش فعالیت آنزیم های درگیر در مسیر فنیل پروپانوئیدی می گردند (Ahmad et al., 2019). عصاره مخمر از اجزای مختلفی مانند آمینو اسید ها، ویتامین ها و کاتیون های کلسیم، کبالت و روی تشکیل شده است. به نظر می رسد که این کاتیون ها در تولید متابولیت های ثانویه نقش داشته باشند (Dowom et al. 2017).

عصاره مخمر اغلب به عنوان یک محرک زیستی در کشت های سلولی برای افزایش متابولیت های ثانویه مانند ساپونین در *Panax ginseng* و منوترپن ها در *Cupressus lusitanica* و سیتوکروم ۴۵۰ در *Astragalus chrysochlorus* به کار می رود (Turgut-Kara & Ari, 2011). در کشت سلولی *Malus domestica* در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر عصاره مخمر که به مدت سه روز تیمار شده بودند، محتوای فنولیک اسید هایی مانند *p*-کوماریک اسید و کلروژنیک اسید به ترتیب ۲/۷ و ۵/۱ برابر در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. همچنین تولید *p*-کوماریک اسید در تیمار کیتوزان به مدت سه روز ۱۰/۳ برابر در مقایسه با گروه شاهد افزایش نشان داد (Cai et al., 2014). عصاره مخمر باعث افزایش تجمع رزمارینیک اسید در کشت سلولی *Agastache rugosa* شد و در غلظت ۷۵۰ میلی گرم بر لیتر، محتوای رزمارینیک اسید ۱۸/۵ برابر در مقایسه با گروه شاهد افزایش نشان داد و در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر مقدار آن کاهش نشان داد. همچنین القا تجمع رزمارینیک اسید و فنولیک اسید ها در کشت های سلولی *Lithospermum erythrorhizon* و *Orthosiphon aristatus* و ریشه های موئین *Salvia miltiorrhiza* گزارش شده است. افزایش مقدار رزمارینیک اسید به دلیل افزایش بیان ژن های مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئیدی تحت تاثیر این محرک در این سلول ها می باشد (Park et al., 2016; Dowom et al., 2017). در تحقیق محقق زاده و همکاران (۲۰۰۴)، افزایش محتوای رزمارینیک اسید ۳۵۵-۵۵ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک در کشت های مختلف (سوسپانسیون سلولی، کالوس و کشت های در شیشه) آویشن شیرازی گزارش شد. بطور کلی علیرغم اهمیت دارویی و پتانسیل خوب این گیاه برای تولید متابولیت های ثانویه، بررسی های محدودی از نقش الیسیاتور ها در کشت های مختلف

کالوس، سوسپانسیون سلولی و کشت در شیشه آویشن شیرازی *Z. multiflora* موجود می باشد. بدین منظور در این پژوهش اثر محرک های زیستی کیتوزان و عصاره مخمر بر پروفایل ترکیبات فنولی و همچنین تاثیر سمیت عصاره کشت های گیاهی تحت تیمار بر سلول های سرطانی سینه (MCF7) مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش ها

۱-۲. کشت و تیمار دهی گیاهان آویشن شیرازی در شرایط کشت در شیشه *in vitro*

از گیاهان ۶۰ روزه آویشن شیرازی رشد کرده در محیط MS که با کیتوزان (۴۰ میلی گرم بر لیتر) و عصاره مخمر (۸۰۰ میلی گرم بر لیتر) به مدت سه روز تیمار شده بودند، جهت آزمایش های تعیین کمی و کیفی متابولیت های ثانویه عصاره گیاهی با استفاده از دستگاه HPLC و بررسی سمیت سلولی استفاده گردید (شکل ۱).



شکل ۱. گیاهان آویشن شیرازی تیمار داده شده با محرک های مختلف در محیط MS

۲-۲. سنجش ترکیبات فنولی به روش HPLC

برای بررسی میزان اسیدهای فنولی از دستگاه HPLC مدل (Waters, e2696, USA) استفاده شد. ۰/۱ گرم از نمونه خشک سلولی (freeze dry) با ۳ میلی لیتر متانول اسیدی ۱٪ به طور کامل همگن شد و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر در دمای اتاق قرار داده شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید و محلول رویی بعد از جدا شدن توسط هوادهی خشک شد. پس از تبخیر حلال در دمای اتاق به رسوب خشک حاصله ۳۵۰ میکرولیتر متانول خالص اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. محلول فوقانی با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ μM میکرون صاف گردید. برای شستشوی ستون از یک برنامه زمانی با شیب خطی استفاده شد. فاز متحرک شامل دو سیستم محلول A شامل متانول خالص و محلول B حاوی آب اسیدی ۳٪ (V/V) بود. جذب متابولیت های ثانویه با استفاده از آشکارساز فرابنفش (UV) در طول موج ۲۸۰ نانومتر و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد بررسی شد. اندازه گیری ترکیبات فنولی به کمک مقایسه زمان بازداری نمونه ها با ماده استاندارد (Sigma-Aldrich) و محاسبه سطح زیر منحنی کروماتوگرام حاصل از HPLC با استفاده از منحنی استاندارد صورت گرفت (Barreca et al., 2016).

۳-۲. بررسی سمیت سلولی

برای بررسی اثر سمیت زایی عصاره های اندام های هوایی گیاهان شاهد و تیمار داده شده با الیستور های زیستی بکار رفته بر سلول های MCF7 از روش سنجش MTT استفاده شد (Mosmann 1983). بدین صورت که تعداد 5×10^3 سلول در هر یک از چاهک های پلیت های ۹۶ خانه ای به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای 37°C نگهداری شدند. سپس محلول های سریال به نسبت (۱:۱۰ V/V) از عصاره های مربوط به اندام های هوایی در غلظت های (۰، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ و ۲ میلی گرم در میلی لیتر) آماده شد. سلول های MCF7 تیمار شده با این عصاره ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور در دمای 37°C و (۵٪ CO_2) در انکوباتور کشت شدند. محلول رقیق شده (۱:۱۰ V/V) MTT حاصل از ۱۰ میکرولیتر محلول (۵mg/L) MTT حل شده در ۹۰ میکرولیتر محیط کشت DMEM تهیه گردید. بعد از تیمار به هر چاهک مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر از این محلول (۱:۱۰ V/V) MTT اضافه و به مدت ۴ ساعت در دمای 37°C انکوبه شدند. سپس محیط رویی هر چاهک، خارج و مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر دی متیل سولفو کسید به منظور حل کردن کریستال های نامحلول فورمازان به هر چاهک اضافه شد و جذب نوری محلول در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه (ELx808, USA) BioTek plate reader خوانده شد و زنده مانی سلول ها و فاکتور IC_{50} محاسبه شد.

۴-۲. تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. جهت تحلیل داده ها و رسم منحنی های مربوطه از نرم افزار Excel و SPSS نسخه ۱۹ استفاده گردید. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ انجام شد.

۳. نتایج

۳-۱. تعیین پروفایل متابولیت های ثانویه

نتایج آنالیز متابولیت های فنولی به روش HPLC مربوط به گیاهان ۶۰ روزه آویشن شیرازی که به مدت دو هفته تحت تیمار محرک های مختلف زیستی، کیتوزان (40 mg L^{-1}) و عصاره مخمر (800 mg L^{-1}) بودند، نشان داد که تیمار های به کار رفته منجر به القای متابولیت های تیمول، *p*-کوماریک اسید، کافئیک اسید، اتوژنول و سیناپیک اسید در این گیاهان شده است. متابولیت های فنولی عمده در گروه شاهد به ترتیب افزایش محتوا شامل کارواکرو، رزمارینیک اسید، کومارین، ترانس فرولیک اسید، هسپریتین، کتکین و کوئرستین بود. در تیمار با عصاره مخمر، القا متابولیت های تیمول، *p*-کوماریک اسید، کافئیک اسید، اتوژنول و سیناپیک اسید مشاهده شد. در تیمار عصاره مخمر محتوای کوئرستین ۱/۶ برابر و ترانس فرولیک اسید ۱/۱ برابر افزایش نشان داد. در تیمار کیتوزان علیرغم کاهش در محتوای رزمارینیک اسید و کارواکرو و برخی دیگر از متابولیت ها، تیمول، *p*-کوماریک اسید، کافئیک اسید، اتوژنول القا گردید (جدول ۱).



جدول ۱. ترکیبات فنولی شناسایی شده در اندام های هوایی *Z. multiflora* در محیط *in vitro* که به مدت سه روز با غلظت های مختلف از محرک های زیستی تیمار شده بودند. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و $\text{Mean} \pm \text{SE}$ می باشند. حروف متفاوت معرف اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.05$ بر اساس آزمون دانکن هستند.

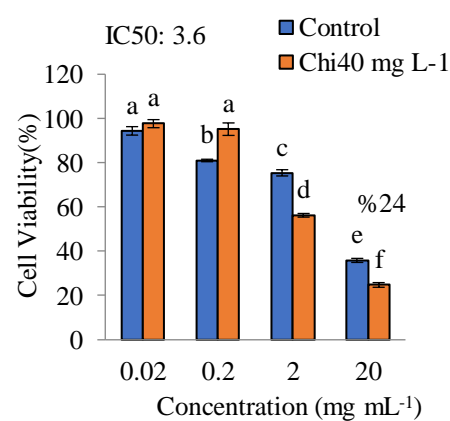
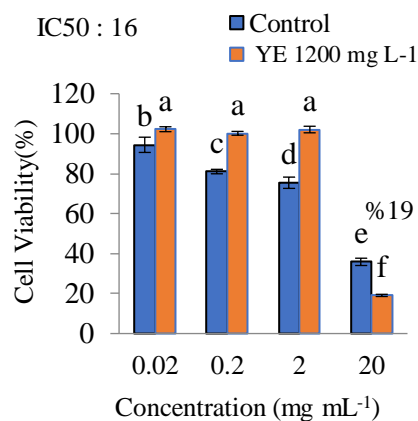
ترکیبات فنولی ($\mu\text{g g}^{-1} \text{DW}$)	تیمار		
	شاهد	کیتوزان	عصاره مخمر
		40 mg L^{-1}	800 mg L^{-1}
Thymol	ND	588 ± 46	596 ± 24
Trans-ferrulic acid	336 ± 18	334 ± 59	356 ± 25
p-Coumaric acid	ND	$4/8 \pm 0/2$	$5 \pm 0/2$
Catechin	284 ± 17	182 ± 1	225 ± 11
Caffeic acid	ND	134 ± 17	204 ± 11
Hesperetin	331 ± 12	274 ± 17	314 ± 13
Quercetin	212 ± 15	203 ± 17	338 ± 18
Euogenol	ND	134 ± 23	177 ± 17
Sinapic acid	ND	ND	291 ± 18
Coumarin	380 ± 14	307 ± 10	311 ± 10
Chloregenic acid	$45/3 \pm 1$	34 ± 1	$36/7 \pm 0/7$
Rosmarinic acid ($\text{mg g}^{-1} \text{DW}$)	$2/6 \pm 0/6$	$2/1 \pm 0/7$	$2/4 \pm 0/11$
Carvacrol ($\text{mg g}^{-1} \text{DW}$)	$11/3 \pm 0/2$	$8/4 \pm 0/1$	$9/4 \pm 0/1$

۲-۳. بررسی سمیت سلولی عصاره اندام های هوایی آویشن شیرازی

در این آزمایش تاثیر عصاره اندام های هوایی گیاهان آویشن شیرازی رشد یافته در محیط MS که به مدت دو هفته تحت تیمار با الیستور های مختلف زیستی بودند بر میزان زنده مانی سلول های سرطان سینه MCF7 به روش سنجش MTT بررسی گردید. در حضور غلظت های مختلف از عصاره های بکار رفته (۰، ۰/۰۲، ۰/۰۲، ۰/۲ و ۲ میلی گرم بر میلی لیتر) از تیمارهای زیستی



کیتوزان و عصاره مخمر در مدت ۴۸ ساعت، زنده مانی سلول ها با روندی وابسته به غلظت عصاره تغییر کرد (نمودار ۱). نتایج بررسی درصد زنده مانی سلول های سرطانی و IC_{50} مربوط به عصاره های گروه های شاهد و تیمار در غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره گیاهی نشان داد که درصد زنده مانی سلول های سرطانی در تیمار با عصاره های گیاهی شاهد برابر با ۳۵/۸۷ درصد بود. درصد زنده مانی سلول های سرطانی در تیمار با عصاره های گیاهان تیمار داده شده در غلظت ۴۰ میلی گرم بر لیتر کیتوزان برابر با ۲۴/۷۸ درصد بود. IC_{50} مربوط به عصاره های گروه شاهد و تیمار داده شده به ترتیب برابر با $8/66 \pm 1/52$ و $3/58 \pm 0/10$ میلی گرم بر میلی لیتر بود. عصاره های گیاه تیمار داده شده با غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر عصاره مخمر، منجر به کاهش درصد زنده مانی سلول های سرطانی (۱۹/۰۸ درصد) در مقایسه با گروه شاهد شدند. حداکثر غلظت بازدارندگی رشد مربوط به عصاره های گیاه آویشن تیمار داده شده با عصاره مخمر برابر $2/1 \pm 16/11$ میلی گرم بر میلی لیتر بود.



نمودار ۱- درصد زنده مانی سلول های سرطانی MCF7 بعد از انکوباسیون با رقت های مختلف از عصاره های مربوط به اندام های هوایی آویشن شیرازی *Z. multiflora* که به مدت سه روز تحت تیمار محرک های کیتوزان (الف)، عصاره مخمر (ب)، قرار داشتند. مقادیر نشان داده شده میانگین ۴ تکرار و $Mean \pm SE$ می باشند. حروف متفاوت معرف اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0/05$ بر اساس آزمون دانکن می باشند

۴. بحث و نتیجه گیری

گیاهان منبع مهمی از متابولیت های ثانویه با اهمیت دارویی هستند که در درمان بسیاری از بیماری ها از جمله سرطان به کار می روند. آویشن شیرازی یک منبع با ارزش از ترکیبات فنولی است، این متابولیت ها دارای طیف وسیعی از ویژگی های بیولوژیکی مانند آنتی اکسیدان، ضد باکتری، ضد قارچی و ضد سرطان هستند (Salehi et al., 2017). آنالیز ترکیبات فنولی موجود در عصاره ها به روش HPLC نشان داد که محرک های زیستی بکار رفته باعث القا متابولیت های تیمول، *p*-کوماریک اسید، کافئیک اسید، ائورنول و سیناپیک اسید گردیدند. در تیمار با عصاره مخمر علاوه بر القا این متابولیت ها، محتوای



کوئرستین و ترانس فرولیک اسید افزایش نشان داد. این محرک های زیستی مشابه با آلودگی قارچی طبیعی، منجر به پاسخ دفاعی از طریق القا و یا افزایش فعالیت آنزیم های درگیر در مسیر فنیل پروپانوییدی می گردند (Ahmad et al., 2019).

در بررسی تاثیر عصاره های اندام های هوایی گیاهان تیمار داده شده (غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر) بر درصد زنده مانی سلول های MCF7 تفاوت معنی داری در مقایسه با عصاره های اندام های هوایی گیاهان شاهد (۳۵/۹ درصد) مشاهده شد و حداکثر کاهش در درصد بازدارندگی به ترتیب مربوط عصاره مخمر (۱۹/۱ درصد) و کیتوزان (۲۴/۷ درصد) بود. به نظر می رسد که القا متابولیت های خاص مانند تیمول، p -کوماریک اسید، کافئیک اسید، اتوژنول و سیناپیک اسید در سمیت زایی این عصاره ها بر علیه سلول های سرطانی مورد آزمایش نقش دارد.

ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند ترکیبات فنولی، در کاهش ریسک انواع مختلف سرطان ها از طریق اثرات حفاظتی بر سلول ها نقش دارند. در پژوهش های انجام شده در رابطه با تاثیر سمیت اسانس آویشن شیرازی بر سلول های سرطانی سینه MCF7 گزارش شده است که تیمار این سلول ها با اسانس آویشن منجر به توقف چرخه سلولی در مرحله G1 و G2/M شده که در نهایت منجر به آپوپتوزیس می گردد. ویژگی سمیت اسانس، به نظر می رسد به علت وجود ترکیبات فنولی ویژه ای باشد که در ماهیت و ساختار با هم متفاوت هستند و باعث القای ROS، افزایش فعالیت caspase 3 و صدمه DNA می گردند (Salehi et al., 2018; Reboredo-Rodríguez et al., 2017). بطور کلی به نظر می آید که نه تنها محتوای کل ترکیبات فنولی بلکه وجود ترکیبات کلیدی و مهم در مقادیر بسیار کم می تواند اثرات مفیدی در سمیت زایی بر علیه سلول های سرطانی داشته باشد.

پژوهش در مورد این که آیا غلظت های بالاتر این محرک ها می توانند با اثر بر مسیر های فنیل پروپانوییدی و القای متابولیت هایی با ویژگی سمیت زایی بیشتر بر علیه سلول های سرطانی عمل کنند یا نه نیاز به بررسی بیشتری دارد. همچنین تحقیقات بیشتری برای روشن شدن نقش متابولیت خاص یا ترکیبی از متابولیت های مسئول در بروز اثرات سیتوتوکسیسیته لازم می باشد. بنظر می رسد که درصد سمیت زایی عصاره های تهیه شده از اندام های گیاهی آویشن شیرازی می تواند بطور موثری توسط الیستور های مختلف با تغییراتی در روش های آزمایشی بکار رفته افزایش یابد. از آنجائیکه گزارش های کمی در مورد ترکیبات فنولی و اثر سمیت زایی عصاره های سلولی این گیاه تحت تیمار محرک های مختلف و همچنین مکانیسم سلولی و مولکولی ترکیبات موثر بر سلول های سرطان سینه وجود دارد، مطالعات آتی به ویژه در رابطه با متابولیت های مختلف شناسایی شده می تواند تصویر روشن تری از مکانیسم های احتمالی یا قطعی دخیل در بروز اثرات سیتوتوکسیسیته عصاره های مورد آزمایش ارائه نماید.

منابع

- Ahmad, Z., Shahzad, A., and Sharma, S. (2019). Chitosan versus yeast extract driven elicitation for enhanced production of fragrant compound 2-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde (2H4MB) in root tuber derived callus of *Decalepis salicifolia* (Bedd. ex Hook. f.) Venter. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 136: 29-40.



- Boughton, A. J., Hoover, K., and Felton, G. W. (2006). Impact of chemical elicitor applications on greenhouse tomato plants and population growth of the peach aphid, *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 120(3): 175-188.
- Cai, Z., Kastell, A., and Smetanska, I. (2014). Chitosan or yeast extract enhance the accumulation of eight phenolic acids in cell suspension cultures of *Malus × domestica* Borkh. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 89(1): 93-99.
- Dowom, S. A., Abrishamchi, P., Radjabian, T., and Salami, S. A. (2017). Enhanced phenolic acids production in regenerated shoot cultures of *Salvia virgata* Jacq. after elicitation with Ag⁺ ions, methyl jasmonate and yeast extract. *Industrial Crops and Products*, 103: 81-88.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65(1-2): 55-63.
- Park, W. T., Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Yeo, S. K., Jeon, J., Park, J. S., Lee, S. Y. and Park, S. U. (2016). Yeast extract and silver nitrate induce the expression of phenylpropanoid biosynthetic genes and induce the accumulation of rosmarinic acid in *Agastache rugosa* cell culture. *Molecules*, 21(4): 426-438.
- Reboredo-Rodríguez, P., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., Forbes-Hernández, T. Y., Gasparrini, M., Afrin, S., Cianciosi, D., Carrasco-Pancorbo, A., Simal-Gándara, J., Giampieri, F. and Battino, M. (2018). Characterization of phenolic extracts from Brava extra virgin olive oils and their cytotoxic effects on MCF-7 breast cancer cells. *Food and chemical toxicology*, 119: 73-85.
- Salehi, F., Behboudi, H., Kavooosi, G., and Ardestani, S.K. (2017). Monitoring ZEO apoptotic potential in 2D and 3D cell cultures and associated spectroscopic evidence on mode of interaction with DNA. *Sci Rep.*, 7: 1-14.
- Turgut-Kara, N., and Ari, S. (2011). Analysis of elicitor inducible cytochrome P450 induction in *Astragalus chrysochlorus* cells. *Plant Omics*, 4(5): 264-269.
- Zhang, C., Yan, Q., Cheuk, W.k., and Wu, J. (2004). Enhancement of tanshinone production in *Alvia miltiorrhiza* hairy root culture by Ag⁺ elicitation and nutrient feeding. *Planta Medica*, 70: 147-151.



تأثیر ترامادول و متادون بر سلامت ارگان‌های بدن: یک مرور سیستماتیک

مجید رجبیان نقندر*^۱، وجیهه خدادادزاده بنهنگی^۲

^۱گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه پیام نور ایران، تهران، ایران. rajabiian@yahoo.ca

^۲گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه پیام نور، مشهد، ایران.

چکیده

پیشرفت داروهای تسکین دهنده درد باعث تمرکز بیشتری بر روی کاربردهای پزشکی ترامادول و متادون شده است. با توجه به کاربرد محدود داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی (NSAIDs)، به ویژه در بیماران وابسته به دارو و در محیط‌های بالینی، لازم است تا تأثیرات این مواد بر روی اعضا مختلف مورد بررسی قرار گیرد. هدف این مطالعه، بررسی اثرات ترامادول و متادون بر ارگان‌های بدن در نمونه‌های تحت درمان نگهدارنده آگونیست است. با انجام یک مرور سیستماتیک و جستجو در پایگاه‌های اطلاعاتی اختصاصی مانند Magiran، SID، Medline، Science Direct، Scopus، PubMed، 1386 مقالات مرتبط با موضوع مورد بحث استخراج شدند. مقالاتی که ارتباط مستقیمی با موضوع نداشتند و مقالاتی که تکراری بودند، از مطالعه حذف شدند. در نهایت، با استفاده از داده‌های مناسب ۸ مقاله، نتایج این مرور سیستماتیک خلاصه و ارائه شد. نتایج نشان می‌دهد که به جز ایجاد برادی کاردی، بیشتر داروهای اوپیوئیدی تأثیرات قابل توجهی بر عملکرد قلب ندارند. به خصوص، به دلیل کارآیی ترامادول در مدیریت درد و کاربرد گسترده‌اش پس از جراحی، اهمیت آن همچنان حفظ می‌شود. با این حال، برای بررسی جامع تأثیرات این داروها بر روی اعضا، نیاز به تحقیقات مخصوص در این زمینه وجود دارد.

واژگان کلیدی: ترامادول، کبد، کلیه، متادون، هورمون‌های جنسی



۱. مقدمه

مواد افیونی برای بیماران برای مدیریت درد حاد، مزمن یا جراحی تجویز می‌شود (ÇAKICI, ARAZ et al). از جمله داروهای پرمصرف در این دسته می‌توان به ترامادول (۳۹٪)، متادون (۲۷/۶٪) و تریاکودون (۱۷/۹٪) اشاره کرد (قدیرزاده، یاری نسب et al. 2019). ترامادول یک داروی ضددرد اوپیوئیدی است (Haghighia, Molzemi et al. 2016). ترامادول باعث مهار بازجذب نورآدرنالین و سروتونین می‌شود و موجب افزایش غلظت این دو ماده در فضای سیناپسی می‌شود. این اثر باعث ایجاد خواصی شبیه به داروهای ضدافسردگی و افزایش هوشیاری می‌شود (Goldberg, Gergans et al. 1996). مصرف این دارو از سال ۱۹۹۴ در ایالات متحده آمریکا آغاز و در مهرماه ۱۳۸۰ با مجوز اداره کل نظارت بر امور داروی معاونت غذا و داروی وزارت بهداشت، وارد کشور شد. ترامادول معمولاً به شکل نمک هیدروکلراید تولید شده و به دو شکل آمپول (۱۰۰ میلی گرمی) و قرص (۱۰ و ۵۰ خوراکی، بیشتر کپسول و قرص میلی گرم در هر میلی لیتر) به بازار عرضه می‌شود. در مقایسه با سایر داروهای مخدر غیراستروئیدی، ترامادول اثرات ضد درد قابل توجهی داشته و عوارض قلبی کمتری را نشان می‌دهد ترامادول که با نام های تجاری ترامال، ترامد و بایومادول نیز شناخته می‌شود از جمله داروهای مسکن شبه مخدر و از خانواده اوپیوئید ها می باشد. (فرد، افشار et al. 2020).

متادون یکی از داروهای مورد استفاده در درمان اختلال مصرف مواد افیونی است که هم در مرحله سم زدایی (تجویز متادون و کاهش تدریجی دوز دارو طی چند روز تا چند هفته) و هم در مرحله نگهدارنده (درمان طولانی مدت با متادون برای چندین ماه یا سال) استفاده می‌شود. دارای هر دو اثرات شبه افیونی و غیراوپیوئیدی است. این داروی منحصر به فرد موثر در جلوگیری از ترک مواد افیونی است. این دارو در درجه اول به عنوان یک آگونیست کامل به گیرنده های افیونی متصل می‌شود و علائم ترک را حذف یا به حداقل می‌رساند (Barnett 2009, Johnson 2011). همچنین در درمان هایپرآلرژی و دردهای عصبی به عنوان گیرنده N-methyl-D-aspartate موثر بوده است و ممکن است اثر ضد افسردگی داشته باشد زیرا مانع از بازجذب نورآدرنالین و سروتونین می‌شود (Dole and Nyswander 1965, Bush, Miller et al. 2006). سرگیجه، تشنج و ضعف، خستگی مزمن، درد استخوان و مفاصل، اختلالات خواب، اختلالات گوارشی، افت فشار خون، ساختمان مردمک، خشکی دهان، سردرد، علائم ادراری، کاهش میل جنسی، اکستازی، مشکلات تنفسی، تعریق و مشکلات پوستی، علائم قلبی عروقی و اختلالات الکتروکاردیوگرام طولانی شدن بخش (QT) می‌توان به عنوان شایع ترین و پایدارترین عوارض جانبی استفاده از MET اشاره کرد (Langrod, Lowinson et al. 1981, Reddy, Hui et al. 2010). از این دارو به عنوان یکی از پرکاربردترین و مهم ترین داروهای این گروه در سراسر جهان مورد مطالعه قرار گرفته است (Dyer, Foster et al. 1999).

اندام های اصلی مسئول متابولیسم و سم زدایی این داروها از بدن، کبد و کلیه هستند (Atici, Cinel et al. 2005) در سال های اخیر، گزارش ها نشان می‌دهند که مصرف متادون و ترامادول می‌تواند عوارضی بر روی سیستم عصبی مرکزی، هورمون های تولیدمثل، کلیه، کبد و عروق کرونر داشته باشد. به نظر می‌رسد که مصرف این داروها خطراتی برای سلامتی افراد به همراه داشته باشد (Chaithra, Saikia et al. 2022). با توجه به افزایش استفاده از متادون و ترامادول، هدف این مقاله افزایش آگاهی پزشکان درباره تجویز این داروها و ممکن بودن عوارض جانبی آنها است.

۲. مواد و روش ها

این بررسی مقالاتی منتشر شده بین سال های ۲۰۱۹ تا ۲۰۲۳ را دربر گرفته است، با استفاده از واژه های کلیدی مانند "متادون"



یا "ترامادول"، به همراه اصطلاحات خاصی نظیر "کبد"، "مغز"، "قلب"، "ریه"، "کلیه"، "سیستم ایمنی"، "طحال" و "هورمون‌های جنسی" در چکیده‌های مقالات. پایگاه‌های داده‌های تخصصی از جمله SID, Magiran, PubMed, Scopus و Science Direct به دقت جستجو شدند. مجموعاً ۱۳۸۶ مقاله تحقیق و مرور، با رعایت بازه زمانی مشخص شده، معیارهای انتخاب برای این مطالعه را برآورده کردند. تنها چکیده‌های مرتبط با علوم پزشکی و پایه‌ای موردنظر قرار گرفتند که منجر به حذف ۵۷۳ مقاله بی‌ارتباط با موضوع یا تکراری شدند. پس از شناسایی مقالات، چکیده‌های آنها مورد بازبینی قرار گرفته و نتیجتاً ۵۲۹ مقاله بدون ارتباط مستقیم با موضوع حذف شدند. متن کامل ۳۹ مقاله باقی‌مانده تحت ارزیابی قرار گرفتند. مطالعاتی که گروه کنترل نداشتند (۹ مقاله)، پارامترهای انسان‌شناختی موردنظر را ارزیابی نکرده یا فقط اندازه‌گیری‌های اولیه ارائه داده بودند (۱۹ مقاله) یا مطالعاتی که متادون و ترامادول را با دیگر داروهای مورد استفاده مشترک درمانی ترکیب کرده بودند (۷ مقاله)، از مطالعه حذف شدند. با استفاده از این روش‌شناسی، مجموعاً ۸ مقاله برای بررسی جامع در مورد ارتباطات بین متادون، ترامادول و سیستم‌های اعضای از جمله کبد، مغز، قلب، ریه، کلیه، سیستم ایمنی، طحال و هورمون‌های جنسی انتخاب شدند.

۳. نتایج

یافته‌های مرور سیستماتیک ما درباره تأثیر ترامادول و متادون بر سلامت ارگان‌های بدن به شرح زیر است:

تأثیر بر کبد: مطالعات نشان می‌دهند که استفاده بلندمدت از ترامادول و متادون می‌تواند به آسیب کبدی منجر شود. اثرات جانبی شامل افزایش آنزیم‌های کبدی، التهاب کبدی، تغییرات در نمونه‌های کبدی و کبد چرب است.

تأثیر بر مغز: ترامادول و متادون می‌توانند تأثیراتی بر فعالیت مغزی داشته باشند. استفاده از این داروها می‌تواند باعث ایجاد تغییرات در عملکرد شناختی، تأثیر بر حافظه و توجه و افزایش خطر بروز عوارض روانی شود.

تأثیر بر قلب و عروق: ترامادول و متادون ممکن است تأثیراتی بر عملکرد قلب و عروق داشته باشند. برخی مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از این داروها می‌تواند منجر به افزایش ضربان قلب، ایجاد نارسایی قلبی و افزایش خطر بروز حمله قلبی شود.

تأثیر بر ریه‌ها: استفاده از ترامادول و متادون می‌تواند تأثیرات مختلفی بر ریه‌ها داشته باشد. این شامل افزایش خطر بروز مشکلات تنفسی، تنگی نفس و آسیب به بافت ریوی می‌شود.

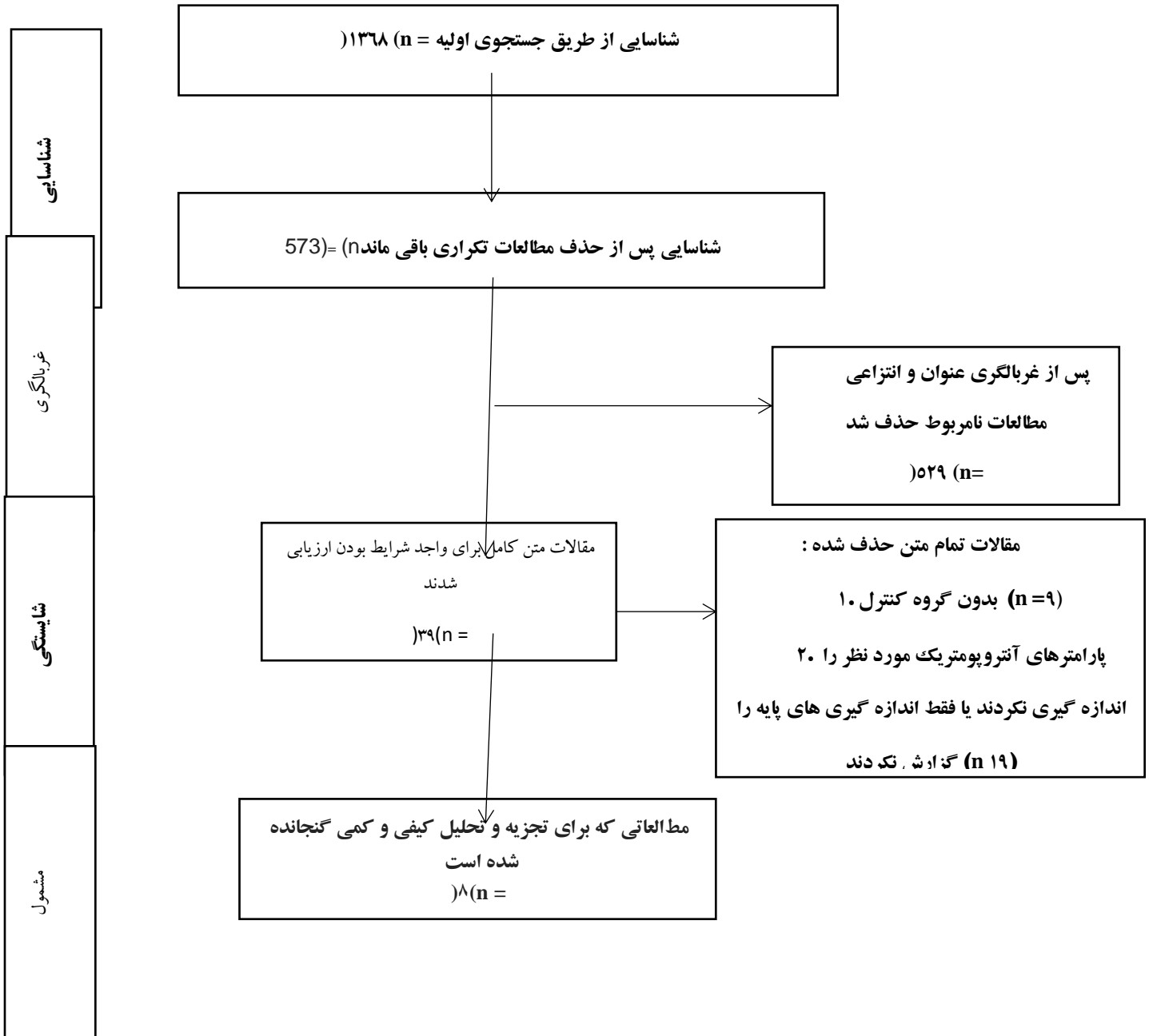
تأثیر بر کلیه: برخی از مطالعات نشان می‌دهند که ترامادول و متادون ممکن است تأثیراتی بر عملکرد کلیه داشته باشند. این می‌تواند منجر به افزایش سطح ادرار، کاهش عملکرد کلیه و ایجاد مشکلات ادراری شود.

تأثیر بر سیستم ایمنی: استفاده از ترامادول و متادون می‌تواند به تحریک سیستم ایمنی بدن منجر شود. این ممکن است باعث افزایش خطر بروز عفونت‌ها و تغییرات در واکنش‌های التهابی شود.

تأثیر بر طحال: برخی از مطالعات نشان می‌دهند که ترامادول و متادون می‌توانند تأثیراتی بر عملکرد طحال داشته باشند. این شامل کاهش حجم طحال، تغییرات در سلول‌های سفید خون و خطر بروز عفونت‌های طحال است.

تأثیر بر هورمون جنسی: استفاده بلندمدت از ترامادول و متادون می‌تواند به تغییرات در هورمون‌های جنسی و کاهش عملکرد جنسی منجر شود.

این یافته‌ها نشان می‌دهند که استفاده از ترامادول و متادون می‌تواند تأثیرات مختلفی بر سلامت ارگان‌های بدن داشته باشد و نیاز به مطالعات بیشتر در این زمینه وجود دارد.



نمودار ۱: جریان انتخاب مطالعه شکل

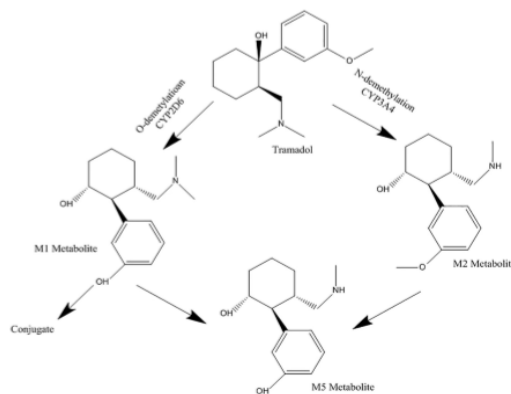
۴. بحث و نتیجه گیری

متادون و ترامادول داروهایی هستند که اغلب برای از بین بردن درد یا رهایی بیماران از سایر داروهای اعتیادآور تجویز

می‌شوند (Natalini, da Silva Polydoro et al. 2007).

۱-۴. تأثیر متادون و ترامادول بر کبد

سم‌زدایی ترکیبات خارجی، داروها و سموم یکی از مهم‌ترین نقش‌هایی است که کبد ایفا می‌کند. این باعث افزایش احتمال آسیب در پاسخ به بیماری‌های کبدی می‌شود. ترامادول عمدتاً در کبد توسط سیتوکروم P450 (CYP2D6)، سیتوکروم P450A3 (CYP3A4) و سیتوکروم P450 ایزوزیم (CYP2B6) متابولیزه می‌شود و به پنج متابولیت مختلف O- و N-demethylated می‌شود و به دنبال آن با اسید گلوکورونیک و سولفات ترکیب می‌شود. مسیر متابولیک ترامادول در شکل ۲ نشان داده شده است (Sheikholeslami, Tootoonchi et al. 2021).



شکل ۲ - مسیر متابولیک ترامادول (Haddadi, Rahimi-Movaghar et al. 2019)

مشاهدات بالینی اختلالات خفیف تا متوسط کبدی را در درمان طولانی مدت MET نشان داده است (Novick, Kreek et al. 1981). متادون یک آگونیست (μ -opioid) است که توسط زیرگروهی از آنزیم p450 یعنی CYP3A4 در کبد و مخاط دستگاه گوارش متابولیزه می‌شود. متادون متابولیسم آهسته‌ای دارد و به مقدار زیادی در بافت چربی تجمع می‌کند که این امر موجب طولانی شدن اثر آن در مقایسه با داروهای پیوندی با پایه مورفین می‌شود (Vestal-Laborde, Eschenroeder et al. 2014). متادون در کبد و به میزان کمتری در دیواره روده با CYP2B6، CYP3A4، CYP2D6 از طریق N-demethylation به متابولیت غیرفعال (Ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine) EDDP متابولیزه می‌شود. داروهایی که مهارکننده‌های سیتوکروم P-450 هستند، ممکن است متابولیسم دارو را مهار کرده، غلظت آن را افزایش داده و در نتیجه باعث افزایش عوارض جانبی شوند. داروهایی که القاکننده‌های سیتوکروم P-450 هستند، متابولیسم دارو را افزایش داده و ممکن است باعث کاهش بی‌دردی شود (Palat and Chary 2018).

۲-۴. تأثیر متادون ترامادول بر سیستم تولیدمثلی

امروزه اپیوئیدها به عنوان عامل پدیده آورنده مشکلات جنسی شناخته شده‌اند. مطالعات جدید مبین کاهش سطح هورمون‌های جنسی در اثر استفاده از متادون و اثرات متعدد متادون بر سیستم اندوکرین از جمله احتمال ایجاد هیپوگنادیسم است. متادون از چند طریق سبب آسیب به قدرت باروری مرد و اختلال‌های جنسی در مرد می‌شود. اولین سازوکار مهار ترشح هورمون



جنسی از هیپوتالاموس است، به این ترتیب دیگر هیپوفیز دو هورمون جنسی خود را تولید نکرده و سبب آسیب هم به قدرت باروری و هم به عملکرد جنسی فرد می شود. سازوکار دوم این است که متادون سبب افزایش هورمون پرولاکتین خون می شود و هورمون پرولاکتین هم عملکرد هیپوتالاموس را مهار می کند. سازوکار سوم عبارت از این است که خود متادون به صورت مستقیم اثر سمی بر روی بیضه ها دارد و سبب کاهش فعالیت بیضه ها می شود. محققان بر این باورند که اثرات متادون بر محور هیپوتالاموس - هیپوفیز آدرنال باعث تغییرات در هورمون های گونادال و وضعیت باروری می شود (Haddadi, Rahimi, Movaghar et al. 2019).

۳-۴. تأثیر ترامادول و متادون بر مغز و قلب و ریه

مطالعه اخیر نشان داد که ترامادول باعث مسمومیت مغز، قلب و ریه می شود. تجویز ترامادول باعث کاهش قابل توجهی در تعداد گلبول های قرمز (RBC)، گلبول های سفید خون، هموگلوبین و PLT شد (Soetan, Akinrinde et al. 2013). تجویز ترامادول منجر به افزایش سطح میانگین هموگلوبین بدنی (MCH) و متوسط حجم بدنی (MCHC) شد (Owoade, Adetutu et al. 2019).

شواهدی وجود دارد که سطح پلاسمایی فیبرینوژن افراد وابسته به مواد مخدر بیشتر از گروه کنترل است. این فاکتور می تواند در تشدید پروسه انعقاد پذیری نقش داشته باشد و از عوامل افزایش انعقاد پذیری و تشکیل زودرس لخته خون در افراد معتاد باشد (Khademi, Tofighi et al. 2019). نظریات متفاوتی در مورد احتمال افزایش فیبرینوژن در مصرف کنندگان متادون وجود دارد. فیبرینوژن با وزن مولکولی بالا در کبد ساخته می شود. این پروتئین واکنشگر فاز حاد است که دگرانول شدن پلاکت ها را در پاسخ به آدنوزین دی فسفات تقویت می کند. افزایش سطح پلاسمایی آن، با خطر التهابی و لخته زایی همراه است که می تواند پیش در آمد افزایش تشکیل لخته شدن خون باشد (LOEI, Mami et al. 2013).

۴-۴. تأثیر متادون و ترامادول بر کلیه

کلیه مسئول از بین بردن تعداد بی شماری دارو، زنبوبیوتیک های غیر دارویی و ترکیبات درونزا است. پاک سازی کلیه به طور معمول نتیجه خالص فیلتراسیون گلو مرولی، ترشح لوله ای و جذب مجدد در نظر گرفته می شود. متابولیت های داروها در کلیه ها دفع می شوند و برخی ممکن است باعث آسیب سلولی شوند که می تواند منجر به اختلال عملکرد کلیه شود (Greeneltch, Kelly-Welch et al. 2005).

متادون را می توان در بیماران مبتلا به نارسایی کلیوی به دلیل متابولیت های غیر فعال و دفع آن از طریق دستگاه گوارش استفاده کرد. در طی همودیالیز حذف نمی شود هیچ متابولیت فعالی وجود ندارد که خطر علائم سمیت عصبی را به ویژه در بیماران مبتلا به نارسایی کلیوی به حداقل برساند. بیوست کمتری نیز در مقایسه با مورفین به دلیل ضعیف بودن عملکرد محیطی دارو مشاهده شد (Nosek, Leppert et al. 2020).

۵-۴. تأثیر متادون و ترامادول بر سیستم ایمنی

گاه ها مصرف برخی داروها سبب تضعیف کردن سیستم ایمنی بدن و مخرب کردن بافت طحال می گردد (Pilehvarian).



and Karimi 2019). استفاده از ترامادول سیستم ایمنی بدن را سرکوب می کند و این می تواند افرادی را که از این دارو استفاده می کنند در معرض بیماری های عفونی قرار دهد (Maton 1997). نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که سیستم ایمنی در هنگام مصرف مواد مخدر و همچنین در طول ترک اعتیاد مبتنی بر MET تضعیف شده و عملکرد نادرست دارد (Garcia, Cardoso et al. 2012). مواد مخدر می توانند گیرنده های مواد افیونی موجود در لنفوسیت ها و ماکروفاژها را به طور مستقیم یا سیستم عصبی مرکزی (CNS) را به طور غیرمستقیم تحت تأثیر قرار دهند و در نتیجه بر واکنش های سیستم ایمنی تأثیر بگذارند (Stefano, Scharrer et al. 1996, Franchi, Moschetti et al. 2019). متادون فعالیت سرکوب کننده سیستم ایمنی ضعیفی دارد. این عملکرد لنفوسیت ها را بهبود می بخشد، منجر به سرکوب عملکرد سلول های کشنده طبیعی نمی شود و آپوپتوز سلول های سرطانی ریه را تسریع می کند (McCarthy, Wetzel et al. 2001). مطالعات مختلف گزارش داده اند که مصرف مواد مخدر باعث ترشح سایتوکاین های پیش التهابی مختلف از جمله فاکتور نکروز تومور آلفا ($\text{TNF-}\alpha$) و اینترلوکین ۶ (IL-6) می شود (Chen, Tao et al. 2012). عملکرد سیستم ایمنی بدن در معناداری که تحت درمان MET قرار می گیرند در مقایسه با گروه کنترل در یک مطالعه توسط Chen و همکاران مورد بررسی قرار گرفت. آن ها دریافتند که تولید عوامل پیش التهابی از جمله $\text{IL-1}\beta$ ، IL-6 و IL-8 در گروه دریافت کننده MET به طور قابل ملاحظه ای بیشتر از افراد گروه کنترل بود. مطابق با مطالعه حاضر، مطالعه مذکور نشان داد که تولید سطوح مختلف $\text{TNF-}\alpha$ و IL-6 مستقیماً با مدت و دوز مصرف MET مرتبط است (Pacifci, di Carlo et al. 2000).

بورتون در سال ۲۰۱۵ در مقاله ای مروری تحت عنوان ترامادول، فارماکولوژی، عوارض جانبی و سندرم سروتونین بیان داشتند که سندرم سروتونین با استفاده از دارو، تداخلات دارویی و مصرف بیش از حد همراه است. با افزایش محبوبیت ترامادول، هدف از این مقاله این است که پزشکان آگاهی بیشتری در تجویز و عوارض بالقوه در ارتباط با ترامادول داشته باشند (Ortelli, Rudaz et al. 2000). مطالعه Darke و همکاران بر روی افرادی که به دلیل مصرف بیش از حد MET فوت کرده بودند، میزان شیوع پاتولوژی کبدی برابر با ۸۰.۷٪ را نشان داد. امروزه با توجه به گسترش کلینیک های تخصصی ترک اعتیاد و استفاده گسترده از MET به عنوان آگونیست در تجویز و استفاده از MET توجه و مراقبت از اهمیت زیادی دارد. مطابق با مطالعه، برخی از مطالعات نشان داده اند که ناهنجاری در عملکرد کبد نتیجه استفاده از MET است (چگل، غلامی et al. 2020). الخطیب و همکاران (۲۰۱۴) به این نتیجه رسیدند که رابطه کمبود ویتامین D و ولع مصرف مواد و افسردگی مستقیم است. همچنین، مطالعات جدید نشان داده اند که تجویز ویتامین D در افراد تحت درمان و پاک سازی متادون می تواند بهبود معناداری در سلامت روان و نتایج متابولیک ایجاد کند. مصرف ویتامین D از آسیب سلول های سازنده سروتونین و دوپامین به طور چشم گیری می کاهد (وکیلی، ساسان et al. 2021) در مقایسه با دیگر داروهای مخدر، ترامادول تأثیرات ضد دردی مؤثری دارد و به ندرت منجر به مشکلات قلبی یا تغییرات نگران کننده در فشارخون می شود. همچنین، متادون و ترامادول با ایجاد مشکلات تنفسی، مسمومیت مغز و تأثیرات منفی بر پارامترهای تولید مثل در مردان جوان همراه هستند.

در پایان امید است نتایج این پژوهش با فراهم آوردن شواهدی هرچند کوچک، زمینه را جهت اتخاذ اقدامات کنترلی بیشتر در جهت ایجاد محدودیت در دسترسی و توزیع متادون و ترامادول به عنوان داروی مخدری



اعتیادآور و پر عارضه که به ویژه جمعیت جوان کشور را نشانه رفته است، فراهم آورد.

تشکر قدردانی

با افتخار از تمامی افراد و نهادهایی که در تهیه و تدوین این مقاله یاری و همکاری کردند، تشکر و قدردانی می‌نمایم. علاوه بر این، از دانشگاه پیام‌نور مشهد به خاطر ارائه حمایت‌های ارزشمند برای این کار تقدیر و تشکر می‌کنیم.

منابع

چگل، غلامی، م. همایی، عابدنطنزی، غزالیان و قرشاد (۲۰۲۰). "تأثیر تمرین هوازی و مقاومتی همراه با مصرف متفاوت متادون بر فیرینوژن و نیمرخ لیپیدی مردان معتاد." نشریه علوم زیستی ورزشی ۱۲(۳): ۲۹۱-۳۰۵.

فرد، م. ص. افشار، ا. نژاد، محمودی و عاصمه (۲۰۲۰). "ارزیابی اثرات قلبی-عروقی تجویز ترامادول به کمک اکوکاردیوگرافی و الکتروکاردیوگرافی در سگ." مجله تحقیقات دامپزشکی (Journal of Veterinary Research) ۷۵(۳): ۳۴۸-۳۵۶.

قدیرزاده، یاری‌نسب، امینی، کامروز، نظری، ایمان و سالاری (۲۰۱۹). "میزان بروز مرگ‌ومیر ناشی از سوء مصرف مواد مخدر و محرک در اجساد ارجاعی به اداره کل پزشکی قانونی استان کهگیلویه و بویراحمد طی سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۷." مجله پزشکی قانونی ایران ۲۵(۲): ۱۴۵-۱۵۰.

وکیلی، ا. ساسان، رامین، پورحسن و رعنا (۲۰۲۱). "کاهش مخاطرات اجتماعی زنان معتاد با استفاده از روش ترکیبی.

- Atici, S., I. Cinel, L. Cinel, N. Doruk, G. Eskandari and U. Oral (2005). "Liver and kidney toxicity in chronic use of opioids: an experimental long term treatment model." *Journal of biosciences* 30: 245-252.
- Barnett, P. G. (2009). "Comparison of costs and utilization among buprenorphine and methadone patients." *Addiction* 104(6): 982-992.
- Bush, E., C. Miller and I. Friedman (2006). "A case of serotonin syndrome and mutism associated with methadone." *Journal of Palliative Medicine* 9(6): 1257-1259.
- ÇAKICI, M., D. ARAZ, E. AKSOY and A. GÖKYİĞİT "Comparison of methadone and buprenorphine."
- Chaithra, S., B. Saikia, B. Konwar, H. Bayan, K. Sarma, M. Lallianchunga and R. S. Arya (2022). "Evaluation of tramadol, pentazocine lactate and meloxicam as pre-emptive analgesics for pain management in canine ovariohysterectomy." *Indian Journal of Animal Research* 56(6): 695-703.
- Chen, S.-L., P.-L. Tao, C.-H. Chu, S.-H. Chen, H.-E. Wu, L. F. Tseng, J.-S. Hong and R.-B. Lu (2012). "Low-dose memantine attenuated morphine addictive behavior through its anti-inflammation and neurotrophic effects in rats." *Journal of Neuroimmune Pharmacology* 7: 444-453.
- Dole, V. P. and M. Nyswander (1965). "A medical treatment for diacetylmorphine (heroin) addiction: a clinical trial with methadone hydrochloride." *Jama* 193(8): 646-650.
- Dyer, K. R., D. J. Foster, J. M. White, A. A. Somogyi, A. Menelaou and F. Bochner (1999). "Steady-state pharmacokinetics and pharmacodynamics in methadone maintenance patients: comparison of those who do and do not experience withdrawal and concentration-effect relationships." *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 65(6): 685-694.



- Franchi, S., G. Moschetti, G. Amodeo and P. Sacerdote (2019). "Do all opioid drugs share the same immunomodulatory properties? A review from animal and human studies." *Frontiers in immunology* 10: 2914.
- Garcia, J. B. S., M. G. d. M. Cardoso and M. C. Dos-Santos (2012). "Opioids and the immune system: clinical relevance." *Revista brasileira de anesthesiologia* 62: 713-718.
- Goldberg, A., G. Gergans, H. Loevy, D. Rudman and R. Schlenker (1996). "Effect of amalgam restorations on whole body potassium and bone mineral content in older men." *General Dentistry* 44(3): 246-248.
- Greenelch, K. M., A. E. Kelly-Welch, Y. Shi and A. D. Keegan (2005). "Chronic morphine treatment promotes specific Th2 cytokine production by murine T cells in vitro via a Fas/Fas ligand-dependent mechanism." *The Journal of Immunology* 175(8): 4999-5005.
- Haddadi, M., A. Rahimi-Movaghar, F. Farrahi and M. Farahmandfar (2019). "Comparison of the effects of methadone with buprenorphine on reproductive (sexual) hormone profile and seminal fluid analysis (fertility) in men on maintenance treatment." *Clinical Excellence* 9(1): 48-60.
- Haghighia, N. B., S. Molzemi, M. Aminian and S. Molzemi (2016). "Effects of tramadol on alanine and aspartate aminotransferase." *Govaresh* 21(2): 104-109.
- Johnson, B. A. (2011). "Addiction medicine." *Science and Practice*.
- Khademi, A., A. Tofighi, J. Tolouei Azar, H. Saify Nabiabad and A. Nouri Habashi (2019). "Modulation of blood hemostasis by concurrent training in obese women with low-mobility." *Studies in Medical Sciences* 29(11): 781-792.
- Langrod, J., J. Lowinson and P. Ruiz (1981). "Methadone treatment and physical complaints: a clinical analysis." *International Journal of the Addictions* 16(5): 947-952.
- LOEI, M. A., S. Mami and S. A. PARVIZ (2013). "The effect of the opium addiction on histological structure of liver and kidney in rabbits."
- Maton, A. (1997). *Human biology and health*, Prentice Hall.
- McCarthy, L., M. Wetzel, J. K. Sliker, T. K. Eisenstein and T. J. Rogers (2001). "Opioids, opioid receptors, and the immune response." *Drug and alcohol dependence* 62(2): 111-123.
- Natalini, C. C., A. da Silva Polydoro and N. Crosignani (2007). "Antinociceptive effects of epidural tramadol administration in dogs as an analgesic technique for experimental stifle surgery." *Acta Scientiae Veterinariae* 35(2): 189-195.
- Nosek, K., W. Leppert, Ł. Puchała, A. Pawlos and D. Onichimowski (2020). "Methadone in the treatment of bone pain in a patient with disseminated breast cancer." *Palliative Medicine in Practice* 14(2): 115-119.
- Novick, D. M., M. J. Kreek, A. M. Fanizza, S. R. Yancovitz, A. M. Gelb and R. J. Stenger (1981). "Methadone disposition in patients with chronic liver disease." *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 30(3): 353-362.
- Ortelli, D., S. Rudaz, A.-F. Chevalley, A. Mino, J.-J. Deglon, L. Balant and J.-L. Veuthey (2000). "Enantioselective analysis of methadone in saliva by liquid chromatography–mass spectrometry." *Journal of Chromatography A* 871(1-2): 163-172.
- Owoade, A., A. Adetutu and O. Olorunnisola (2019). "Hematological and biochemical changes in blood, liver and kidney tissues under the effect of tramadol treatment." *J Alcohol Drug Depend* 7(327): 2.
- Pacifici, R., S. di Carlo, A. Bacosi, S. Pichini and P. Zuccaro (2000). "Pharmacokinetics and cytokine production in heroin and morphine-treated mice." *International journal of immunopharmacology* 22(8): 603-614.
- Palat, G. and S. Chary (2018). "Practical guide for using methadone in pain and palliative care practice." *Indian journal of palliative care* 24(Suppl 1): S21.
- Pilehvarian, A. A. and A. Karimi (2019). "Study of Changes in Blood Cells and Spleen Tissue on days 10 and 20 of Pregnancy and the First Week of Lactation in Rats." *Journal of Ilam University of Medical Sciences* 26(5): 20-29.
- Reddy, S., D. Hui, B. E. Osta, M. De La Cruz, P. Walker, J. L. Palmer and E. Bruera (2010). "The effect of oral methadone on the QTc interval in advanced cancer patients: a prospective pilot study." *Journal of palliative medicine* 13(1): 33-38.

- Sheikholeslami, B., Z. Tootoonchi, H. Lavasani, Y. H. Ardakani and M. Rouini (2021). "Investigation of MDMA Inhibitory Effect on CytochromeP450 3A4 in Isolated Perfused Rat Liver Model Using Tramadol." Advanced Pharmaceutical Bulletin 11(3): 530.
- Soetan, K., A. Akinrinde and T. Ajibade (2013). Preliminary studies on the haematological parameters of cockerels fed raw and processed guinea corn (Sorghum bicolor). Proceedings of 38th Annual Conference of Nigerian Society for Animal Production.
- Stefano, G. B., B. Scharrer, E. M. Smith, T. K. Hughes Jr, H. I. Magazine, T. V. Bilfinger, A. R. Hartman, G. L. Fricchione, Y. Liu and M. H. Makman (1996). "Opioid and opiate immunoregulatory processes." Critical ReviewsTM in Immunology 16(2).
- Vestal-Laborde, A. A., A. C. Eschenroeder, J. W. Bigbee, S. E. Robinson and C. Sato-Bigbee (2014). "The opioid system and brain development: effects of methadone on the oligodendrocyte lineage and the early stages of myelination." Developmental neuroscience 36(5): 409-421.

ترکیبات شیمیایی و اثرات درمانی شیرین بیان (liquorice) در انسان

هادی خانلری^۱، بهروز فتحی هفشجانی^{*}

^۱گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد (Edsioo2022@gmail.com)

چکیده

شیرین بیان (liquorice) از پرستفاده ترین گیاهان دارویی در جهان است که امروزه با پراکندگی جهانی کشت می شود. عصاره شیرین بیان حاوی انواع قندها، نشاسته، رزین، اسانس، تانن، نمک های معدنی و ترکیبات نیتروژنی مانند پروتئین ها، اسید آمینه و اسید نوکلئیک ها است. گلیسیریزین و فلاونوئیدها از مهمترین این مشتقات اند که به ترتیب مسئول طعم و رنگ شیرین بیان هستند. مقاله مروری حاضر با استفاده از داده های موجود در پایگاه های داده ای علمی و از چندین مقاله مروری و تحقیقی نوشته شده است. مطالعات فارماکولوژیک تایید کرده اند که شیرین بیان طیف وسیعی از فعالیت های بیولوژیکی را از خود نشان می دهند. بسیاری از فعالیت های دارویی، مانند اثرات هیپوکلسترو و هیپوگلیسمی، اثرات ضداضطراب، ضدآلزیمر، ضدمیکروبی، ضدویروسی، از بین بردن رادیکال های آزاد، ترمیم کنندگی زخم، اثرات سیتوتوکسیک، ضدتومور، ضدآلرژی، ضددیابت، اثرات آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی و از بین بردگی جوش های پوستی، درمانیت و آگزما از شیرین بیان دیده شده است. عوارض جانبی اصلی شیرین بیان عموماً به فعالیت مینرالوکورتیکوئیدی آن مربوط می شود و می تواند بسته به میزان دوز مصرفی، مدت زمان مصرف و حساسیت های فردی سبب، افزایش بیش از حد فشار خون، هیپرکالمی، ادم و سقط جنین منجر شود. پس برای جلوگیری از رخداد عوارض جانبی در استفاده درمانی از شیرین بیان، باید زیر نظر پزشک معتمد استفاده گردد.

واژگان کلیدی: شیرین بیان، فلاونوئید، گلیسیریزین، ضدالتهاب، مینرالوکورتیکوئید



۱. مقدمه

شیرین بیان (liquorice) یکی از پرمصرف ترین و گسترده ترین گیاهان دارویی در جهان است. کلمه liquorice از لغت یونانی glykyrrhiza گرفته شده است که glykys به معنای "شیرین" و rhiza "ریشه" است. شیرین بیان از جنس *Glycyrrhiza* و اکثراً از دو گونه *Glycyrrhiza glabra* و *Glycyrrhiza uralensis* گرفته می شود. اعتقاد بر این است که مبدأ زیستگاهی شیرین بیان از بین النهرین در عراق امروزی است، هرچند امروزه در مقیاس تجاری در اقصای نقاط جهان کشت می شود. جنس *Glycyrrhiza* گیاهی چند ساله است که ارتفاع آن می تواند به ۱ تا ۲ متر برسد. این گیاه دارای ریشه ای استوانه ای بلندی است که تا عمق ۱ متر رشد می کند. ساقه به شکل افقی به سمت بیرون رشد می کنند و به طور معمول به طول ۱.۵ متر می رسند. پوست ریشه به رنگ قرمز تیره و داخل ریشه ها زرد روشن است. برگ ها متناوب، پینه ای، با ۹ تا ۱۷ برگچه بیضی شکل و به رنگ زرد مایل به سبز هستند و هر کدام ۲.۵ تا ۵ سانتی متر طول دارند. گل ها نوک تیز و نیزه مانندند، معمولاً ۱۰ تا ۱۵ سانتی متر طول دارند و در رنگ های سفید، بنفش یا زرد دیده می شوند. غلاف های بذر به رنگ قهوه ای به طول ۳ سانتی متر، مستطیلی، نوک تیز و پهن هستند. ریشه های شیرین بیان ۳ تا ۴ سال پس از کاشت برداشت می شوند. شیرین بیان از حدود بیش از ۴۰۰۰ سال پیش به عنوان دارو و طعم دهنده استفاده می شود. مردمان باستان از شیرین بیان برای درمان سرفه، سرماخوردگی، لرز، ذات الریه، برونشیت، آرتريت، آسم، بیماری های کلیوی، بیماری های قلبی، زخم معده و روده، احتباس مایعات، فشار خون پایین، آلرژی، آب مروارید، مسمومیت کبدی، هیپرگلیسمی، بیماری آدیسون، ناتوانی قوای جنسی و رفع عطش استفاده می کردند. ترکیبات فعال بیولوژیکی شیرین بیان عمدتاً شامل متابولیت های ثانویه و مشتقات آن ها مانند آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، فلاونوئیدها، ساپونین ها، تانن ها، ترپن ها، آنتراکینون ها و اسانس ها می باشد. از این موارد ساپونین ها، ترپن ها و فلاونوئیدها اجزای اصلی شیرین بیان هستند و فعالیت بیولوژیکی شیرین بیان عموماً بر عهده آن ها است. رنگ زرد شیرین بیان به دلیل این فلاونوئیدها می باشد و بر اساس نتایج تحقیقات مختلف بیش از ۳۰۰ فلاونوئید در گونه های مختلف شیرین بیان یافت شده است که از جمله انواع این فلاونوئیدها می توان به فلاونون، چالکون، ایزوفلاون، فلاون، لیکیریتین و ایزولیکیریتین اشاره کرد. ساپونین های تری ترپنوئیدی مانند گلیسیریزین، اسید گلیسیریزیک است عامل طعم شیرین، شیرین بیان هستند و اثری شبیه به کورتیزون دارد. اعتقاد بر این است که گلیسیریزین سبب تسریع بهبود زخم معده می شود و اسید گلیسیروتیک فعالیت های ضد التهابی و ضد آرتريت از خود نشان می دهد. از ترپن های دیگر شیرین بیان می توان به اسید لیکوریتیک، گلیسیریتول، گلابرولید، ایزوگلابرولید اشاره کرد (Mamedov and Egamberdieva 2019).

۲. مواد و روش ها

مقاله حاضر با استفاده از داده های موجود در پایگاه های داده ای علمی و از چندین مقاله مروری و تحقیقی استفاده شده

که به آن ها اشاره می شود: (Olukoga and Donaldson 2000, Nomura, Fukai and Akiyama 2002, Fiore, Eisenhut et al. 2008, Patil, Patil and Sapkale 2009, Touyz 2009, Franceschelli, Pesce et al. 2011, Al-and Sanlier Razzuqi, Al-Jawad et al. 2012, Chakravarthi, Avadhani and Narayan 2012, Icer, Sanlier 2017, Mamedov and Egamberdieva 2019).



۳. نتایج

اثرات شیرین بیان بر سلامت انسان شیرین بیان برای پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری ها با مکانیسم های مختلف استفاده می شود.

۳-۱. فعالیت ضد میکروبی

فعالیت ضد میکروبی شیرین بیان برای سال ها شناخته شده است، این اثرات که ممکن است به واسطه ی آلكالوئیدها، ساپونین ها، فلاونوئیدها، تانن ها، گلیکوزیدها و فنل های شیرین بیان باشد. بر اساس نتایج مطالعات مختلف مشتقات لیکوریسیدین و کومارین شیرین بیان مانند گلیسرول، گلیسرین و گلیسیکومارین فعالیت بالایی در برابر میکروارگانیسم ها از خود نشان داده اند. ترکیب گلابرین نیز بر علیه مخمر، قارچ های رشته ای فیلامنتوس و هلیکوباکتر پیلوری عملکرد فعالی داشته است (Mamedov and Egamberdieva 2019). علاوه بر این، ۱۸-بتا-گلیسیرتینیک اسید که یکی از اجزای شیرین بیان است، اثر آنتی بیوتیک های فعلی را در برابر باکتری های مقاوم به دارو افزایش می دهد (Icer, Sanlier and Sanlier 2017). پاتیل و همکارانش در سال ۲۰۰۹، فعالیت ضد میکروبی عصاره شیرین بیان را در برابر باکتری های باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، اشریشیا کلی و قارچ های کاندیدا آلیکنز و تریکوفیتون روبروم بررسی کردند. بر اساس نتایج تحقیقات آن ها رشد این عوامل میکروبی متوقف و فراکسیون های آن ها مهار شد (Patil, Patil and Sapkale 2009). در تحقیقات دیگر نیز اثر ضد میکروبی و ضد قارچی شیرین بیان بر آرتترینوم ساچاری، اسپرژیلوس فلاووس، مایکوباکتریوم تورکولوزیس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، استافیلوکوکوس اورئوس و پروپیونی باکتریوم آکنه، شیگلا فلکسنری، میکروکوکوس لوتوس، انتروکوکوس فائکالیس و دیگر باکتری های مجاری تنفسی فوقانی مانند استرپتوکوکوس پیورنز، هموفیلوس آنفولانزا و موراکسلا کاتارالیس مورد بررسی قرار گرفت و اثرات مثبت آن تایید شد (Mamedov and Egamberdieva 2019).

۳-۲. فعالیت ضد ویروسی

ترکیبات شیرین بیان مدت هاست که به عنوان یک عامل درمانی بالقوه برای چندین بیماری ویروسی از جمله هپاتیت مزمن A، B و C و همچنین سندرم نقص ایمنی اکتسابی انسانی (HIV) استفاده می شود. احتمالاً اثرات ضد ویروسی شیرین بیان به واسطه ی گلیسیریزین و اسید گلیسیریزیک می باشد که در رشد سلول های آلوده به هپاتیت A، B، C و HIV را مهار می کنند (Mamedov and Egamberdieva 2019). فیثوره و همکارانش در تحقیقات خود مشاهده کردند که گلیسیریزین شیرین بیان آسیب سلولی کبدی را در هپاتیت مزمن B و C کاهش می دهد و همچنین فعالیت ضد ویروسی را در برابر HIV-1، سارس-کووید ۱۹، ویروس سنسیشیال تنفسی، آربو ویروس ها، ویروس واکسینیا و ویروس استوماتیت تاولی تقویت می کند (Fiore, Eisenhut et al. 2008). تحقیقات دیگر نیز نتایج امیدوار کننده ای برای درمان انواع از بیماری های ویروسی از جمله درمان موضعی کاندیدایازیس ولوواژینال مزمن، درمان ویروس آنفولانزا، عفونت مننژوانسفالیت انترو ویروس تیپ ۷۱ از خود نشان دادند. همچنین بر اساس نتایج دیگر مطالعات مشخص شد که شیرین بیان دارای اثرات ضد التهابی و ضد آلرژیک شبه



هیدروکورتیزونی است که این اثرات عموماً به واسطه گلیسرول‌هایی مثل بنزوفوران و کومارین و بر اثر مهار فعالیت فسفولیپاز A2 (آنزیم موثر در فرآیندهای التهابی) اجرایی می‌شود (Mamedov and Egamberdieva 2019).

۳-۳. فعالیت ضدپوسیدگی دندان

پوسیدگی دندان شایع‌ترین بیماری مسری دهان است و افزایش پوسیدگی‌ها نیز تحت تأثیر رژیم غذایی و عوامل میکروبی/استرپتوکوکی است. مطالعات اخیر نشان داده است که ترکیبات شیرین‌بیان مانند گلیسیریزین، گلابرین، لیکوکالکون A و لیکوریزیدین تأثیر مثبتی بر رفع پوسیدگی دندان و اثرات ضد استرپتوکوکی دارند. مطالعات مختلف ثابت کردند که ۱۶ mg/ml عصاره شیرین‌بیان از رشد باکتری/استرپتوکوک و تشکیل پلاک دندان جلوگیری می‌کند. با توجه به این یافته‌ها، شاید بتوان گفت که استفاده از عصاره شیرین‌بیان در محصولات بهداشتی دهان مانند محلول غرغره و خمیر دندان استفاده کرد می‌تواند اثراتی مثبتی بر سلامت دهان و دندان داشته باشد (Touyz 2009, Icer, Sanlier and Sanlier 2017).

۳-۴. فعالیت ترمیم‌کنندگی زخم‌های گوارشی

بر اساس مطالعات مختلف که بر روی اثرات شیرین‌بیان انجام شده‌است، اثر ترمیم‌کنندگی شیرین‌بیان به علت ایجاد تغییرات فرمولاسیونی، افزایش تولید مخاط، افزایش خون‌رسانی به مخاط آسیب دیده، اثرات ضدپسینی مهار ترشح گاسترین و افزایش غلظت پروستاگلاندین‌ها در دستگاه گوارش و در نتیجه بهبودی مخاطی است (Mamedov and Egamberdieva 2019).

۳-۵. فعالیت ضدسرطانی

ترکیبات فیتوشیمیایی شیرین‌بیان اثرات ضدسرطانی را در مطالعات مختلف نشان داده است. ترکیبات شیرین‌بیان از تشکیل و رشد تومور در پستان، کبد، ریه، پروستات و پوست جلوگیری می‌کنند. بر اساس تحقیقات مختلف شیرین‌بیان باعث القای آپوپتوز و توقف چرخه سلولی G1 در سلول‌های سرطانی می‌گردد. همچنین ترکیبی به نام لیکوکالکون E (که در شیرین‌بیان وجود دارد) اثر ضدتوموری قوی را از خود نشان می‌دهد (Mamedov and Egamberdieva 2019). نوموری و همکارانش در سال ۲۰۰۲، چندین ترکیب مشتق شده از شیرین‌بیان، یعنی گلیاسپرین A، گانکاونین P، لیکوکالکون B، توپازولین و گانکاونین O را مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که این ترکیبات سبب القای فعالیت ضد توموری نسبتاً بالایی در برابر سلول‌های کارسینوم سنگفرشی دهان انسان از خود نشان می‌دهند (Nomura, Fukai and Akiyama 2002).

۳-۶. اثرات آنتی‌اکسیدانی

چندین ترکیب فیتوشیمیایی مشتق شده از شیرین‌بیان دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است. اثرات آنتی‌اکسیدانی شیرین‌بیان عموماً به واسطه‌ی ترکیباتی چون ایزوفلاون، گلابرین، هیپاگلابرین A، هیپاگلابرین B، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدهایی مانند لوتئولین، روتین و آپیزنین اعمال می‌شود (Mamedov and Egamberdieva 2019). فراچسجلی و همکارانش در مطالعات خود مشاهده کردند که لیکوکالکون C شیرین‌بیان دارای خواص آنتی‌اکسیدانی فوق‌العاده زیادی است و می‌تواند تولید رادیکال‌های سوپراکسید را کاهش دهد و در نتیجه فعالیت اکسیدنتریک سنتاز القایی (iNOS) را کم کند (Franceschelli, Pesce et al. 2011).

۳-۷. فعالیت محافظتی کبد



از گذشته در طب سنتی از شیرین بیان برای درمان بیماری‌های مختلف کبدی استفاده می‌شده است. مطالعات پزشکی مدرن بعدی نشان داد که متابولیت‌های ثانویه مشتق شده از شیرین بیان باعث کاهش سطح آنزیم کبدی سرم و بهبود آسیب شناسی بافت در بیماران مبتلا به هپاتیت می‌شود. بر این اساس اسید گلیسیریزیک سبب کاهش قابل توجهی در آمینوترانسفرازهای سرم شده و بافت شناسی کبد را بهبود می‌بخشد (Mamedov and Egamberdieva 2019). در مطالعات ال‌رازقی و همکارانش، مشاهده شد که تجویز روزانه 2 mg/kg عصاره شیرین بیان اثر قابل توجهی در بهبود عملکرد کبد در بیماری‌های حاد کبدی دارد (Al-Razzuqi, Al-Jawad et al. 2012).

۳-۸. اثرات پوستی

ترکیبات فعال زیستی مشتق شده از ریشه‌های شیرین بیان دارای خواص ضدپیری، ضدآکنه هستند. علاوه بر این که استفاده از شیرین بیان سبب کاهش قابل توجه در ملانین پوست و در نتیجه سفیدکنندگی پوست می‌شود. احتمالاً گلیسیریزین با اختلال در بیان ژن تیروزیناز سبب کاهش ملانین پوست می‌شود (Mamedov and Egamberdieva 2019).

۳-۹. فعالیت‌های ضدافسردگی و تقویت‌کننده حافظه

ثابت شده است که شیرین بیان دارای فعالیت شبه ضدافسردگی و تقویت‌کنندگی حافظه است و گاهی می‌تواند سبب جابه‌جایی پارادایم یا Paradigm Shift شود. اثرات ضدافسردگی شیرین بیان احتمالاً به واسطه‌ی لیکوریتین و ایزولیکوریتین روی می‌دهد و این ترکیبات با افزایش ۵-هیدروکسی تریپتامین و نوراپی نفرین در هیپوکامپ، هیپوتالاموس و قشر مغزی این کار را انجام می‌دهند. ترکیب دیگری نیز به نام کربنوکسولون در شیرین بیان یافت می‌شود که اثرات آرام‌بخشی و شل‌شدگی عضلانی را در موش‌های مبتلا به صرع از خود نشان داده است (Mamedov and Egamberdieva 2019). چاکراواری و همکارانش، تأثیر عصاره شیرین بیان را بر یادگیری و حافظه در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار ۱ ماهه مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که به دلیل عملکرد آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی این عصاره گیاهی، سلول‌های مغزی حساسیت کمتری در معرض استرس اکسیداتیو دارند، در نتیجه آسیب مغزی در آن‌ها کاهش می‌یابد و سبب بهبود عملکرد عصبی می‌شود، به همین سبب این عامل تأثیر به‌سزایی در بهبود یادگیری و حافظه دارد (Chakravarthi, Avadhani and Narayan 2012).

۳-۱۰. فعالیت ضد دیابتی

از گذشته، گیاهان دارویی در سنین بالا برای پیشگیری و درمان دیابت استفاده می‌شده‌اند. مطالعات متعدد نشان می‌دهد که کالکون، لیکوکالگون E و آمورفوتین، که از اجزای شیرین بیان هستند، با تحریک فعال شدن فاکتور PPAR γ (که نقش کلیدی را در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و لیپیدها و تمایز سلول‌های چربی دارد) سبب القای اثرات ضد دیابتی می‌گردد. علاوه بر این گلابرین با استفاده از پروتئین آدنوزین مونوفسفات کیناز، مصرف گلوکز را افزایش می‌دهد و بدین طریق سطح گلوکز خون را پایین می‌آورد (Icer, Sanlier and Sanlier 2017).

۳-۱۱. فعالیت ضد چاقی

بر اساس مطالعات مختلف گلابیدین سبب کاهش فعالیت استیل کوآ کربوکسیلاز و افزایش فعالیت استیل کوآ دهیدروژناز می‌شود و فلاونوئیدها تشکیل بافت چربی در سلول‌های T3-L1 را کاهش می‌دهند. علاوه بر این ترکیبات



شیرین بیان با افزایش بتا اکسیداسیون مصرف انرژی را افزایش داده و با ممانعت از لیپوژنز باعث کاهش چربی و توده چربی بدن می شود (Icer, Sanlier and Sanlier 2017).

۱۲-۳. تاثیرات بر پروفایل لیپیدی

باید در نظر داشت که مکانیسم های افزایش پروفایل لیپیدی بر اثر مصرف شیرین بیان، هنوز به طور کامل مشخص نشده است. احتمالاً لیکوریتیژنین (یک نوع فلاونوئید) می تواند سبب افزایش بیان ژن PPARG و فعال شدن PPAR γ گردد. سایر مکانیسم های بالقوه سطح کلسترول کبدی را با افزایش هیدروکسی متیل گلو تاریل-CoA سنتاز و افزایش فعالیت کلسترول ۷-آلفا-هیدروکسیلاز، کاهش می دهد و با ایجاد شرایط اکسیداتیو پروفایل لیپیدی را افزایش می دهد (Icer, Sanlier and Sanlier 2017).

۱۳-۳. تاثیرات بر روی حاملگی

مطالعات متعددی در مورد تأثیر مصرف شیرین بیان در دوران بارداری بر وزن کم هنگام تولد و تولد نارس وجود دارد. گلیسیریزین شکسته شدن کورتیزول در جفت را به صورت موضعی مهار می کند با افزایش سطح کورتیزول ممکن است بر میزان پروستاگلاندین موجود در رحم موثر باشد و سبب رخداد زایمان زودرس و سقط جنین گردد. تحقیقات نشان داده است که خطر تولد زودرس در بانوانی شیرین بیان مصرف می کنند دو برابر است (Icer, Sanlier and Sanlier 2017).

۱۴-۳. تاثیرات بر فشارخون شیرین

مصرف شیرین بیان می تواند سبب هیپوکالمی، ایجاد فشار خون بالا و آلکالوز متابولیک شود. ترکیب اسید گلیسیریزیک موجود در شیرین بیان، آنزیم ۱۱-بتا-هیدروکسی استروئید دهیدروژناز کلیه را (که کورتیزول را غیرفعال می کند) مهار می کند. مهار این آنزیم توسط شیرین بیان سبب تشکیل بیش از حد کورتیزول فعال می شود و کورتیزول بیش از حد ممکن است با تحریک گیرنده های مینرالوکورتیکوئیدی باعث فشار خون بالا، از دست دادن پتاسیم کلیوی، بی کربنات بالا و آلکالوز متابولیک شود باید توجه داشت که شدت و شروع علائم به مدت و دوز مصرف شیرین بیان و همچنین حساسیت های فردی بستگی دارد (Icer, Sanlier and Sanlier 2017).

۱۵-۳. عوارض جانبی و سمیت

با وجود این که ترکیبات سمی بالقوه ای در شیرین بیان وجود ندارد، اثرات سمی و عوارض جانبی شیرین بیان به خوبی مستند شده است. مقادیر زیاد شیرین بیان ممکن است منجر به پرفشاری خون شدید، هیپوکالمی، ادم و سایر علائم افزایش مینرالوکورتیکوئید شود. همچنین شیرین بیان منجر به افزایش وابسته به دوز در رنین و سدیم پلاسما با کاهش همزمان کورتیزول پلاسما، هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک (ACTH)، آلدوسترون و سطوح پتاسیم می شود. همچنین حدس زده می شود که از آنجایی که به نظر می رسد دیابتی های وابسته به انسولین مستعد هیپوکالمی و احتباس سدیم هستند، مصرف شیرین بیان با دیابت در تناقض است. همچنین بر اساس مطالعات، شیرین بیان نباید همراه با ملین ها یا دیورتیک های کاهش دهنده فشار خون مانند تیازیدها استفاده شود (Mamedov and Egamberdieva 2019). برای تشخیص زود هنگام، و به منظور جلوگیری از انجام آزمایش های غیر ضروری در مواردی که مشکوک به مسمومیت با شیرین بیان هستیم، اطلاع یافتن از تاریخچه کامل دارو، غذا،



نوشیدنی و عادات فردی ضروری است. باید توجه داشت که مراقبت‌های حمایتی اغلب در درمان هر گونه عواقب متابولیکی و سیستمیک حاد ناشی از مسمومیت با شیرین بیان مورد نیاز است (Olukoga and Donaldson 2000).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

در این مقاله ترکیبات فوتوشیمیایی و اثرات درمانی شیرین بیان مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس مطالعات مختلف گلیسیریزین، ساپونین، ترپن و فلاونوئیدها از اجزای اصلی شیرین بیان هستند که فعالیت بیولوژیکی گسترده‌ای را از خود نشان می‌دهند. اثرات ضدباکتریایی شیرین بیان عموماً به واسطه‌ی فلاونوئید و اثرات ضدویروسی آن به واسطه‌ی گلیسیریزین روی می‌دهد. همچنین شیرین بیان با القای آپوپتوز و توقف چرخه سلولی G1 در سلول‌های توموری، کاهش فعالیت اکسیدانتریک سنتاز و افزایش فاکتور PPAR γ اثرات سلامتی را در بدن ارتقاء می‌دهد. باید توجه داشت که افراد مبتلا به فشار خون، نارسایی قلبی، دیابتی‌ها و غیره و زنان باردار باید از مشکلات سلامتی احتمالی ناشی از مصرف شیرین بیان مطلع شوند. علاوه بر این مصرف دوزهای زیاد در مدت زمان طولانی می‌تواند منجر به تعدادی از اختلالات شدید شود. از این داده‌ها و گزارش‌ها می‌توان نتیجه گرفت که شیرین بیان می‌تواند به عنوان یک داروی درمانی در دوزهای پایین و تحت نظر پزشک، برای بیماری‌های اصلی بدن مورد استفاده قرار گیرد. البته همچنان توصیه می‌شود که برای رسیدن به نتیجه‌گیری دقیق‌تر انجام تحقیقات بیشتر ضروری است.

منابع

- Al-Razzuqi, R., Al-Jawad, F.H., Al-Hussaini, J.A. and Al-Jeboori, A., 2012. Hepatoprotective effect of Glycyrrhiza glabra in carbon tetrachloride-induced model of acute liver injury. *J Phys Pharm Adv*, 2(7): pp.259-263.
- Chakravarthi, K.K., Avadhani, R. and Narayan, R.S., 2012. Effect of Glycyrrhiza glabra root extract on learning and memory in wistar albino rats. *Drug Invention Today*, 4(7): pp.387-390.
- Fiore, C., Eisenhut, M., Krausse, R., Ragazzi, E., Pellati, D., Armanini, D. and Bielenberg, J., 2008. Antiviral effects of Glycyrrhiza species. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 22(2): pp.141-148.
- Franceschelli, S., Pesce, M., Vinciguerra, I., Ferrone, A., Riccioni, G., Patruno, A., Grilli, A., Felaco, M. and Speranza, L., 2011. Licocalchone-C extracted from Glycyrrhiza glabra inhibits lipopolysaccharide-interferon- γ inflammation by improving antioxidant conditions and regulating inducible nitric oxide synthase expression. *Molecules*, 16(7): pp.5720-5734.
- Icer, M.A., Sanlier, N. and Sanlier, N., 2017. A review: Pharmacological effects of Licorice (Glycyrrhiza glabra) on human health. *International Journal of Basic and Clinical Studies*, 6(1): pp.12-26.
- Mamedov, N. A. and D. Egamberdieva (2019). "Phytochemical constituents and pharmacological effects of licorice: a review." *Plant and human health, Volume 3: Pharmacology and therapeutic uses: 1-21*.
- Nomura, T., Fukai, T. and Akiyama, T., 2002. Chemistry of phenolic compounds of licorice (Glycyrrhiza species) and their estrogenic and cytotoxic activities. *Pure and Applied Chemistry*, 74(7), pp.1199-1206.
- Olukoga, A. and D. Donaldson (2000). "Licorice and its health implications." *The journal of the Royal Society for the Promotion of Health* 120(2): 83-89.
- Patil, S.M., Patil, M.B. and Sapkale, G.N., 2009. Antimicrobial activity of Glycyrrhiza glabra Linn. roots.
- Touyz, L. Z. (2009). "Licorice Health Check, Oro-Dental Implications, and a Case Report." *Case reports in medicine* 2009(1): 170735.

تعیین دماهای بهینه بذور گیاه دارویی کاپاریس (*Capparis spinosa*) در مرحله جوانه زنی

فاطمه فاطمی نیک^۱

^۱ گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران Email: ffateminick@pnu.ac.ir

چکیده

پس از مرحله آب گیری بذور، دما بحرانی ترین عاملی می باشد که موفقیت یا عدم موفقیت در استقرار گیاه را تعیین می کند. با توجه به اهمیت دما در سرعت و درصد جوانه زنی بذور، تعیین بهترین دما برای جوانه زنی بذور مختلف، از اهمیت خاصی برخوردار است. به منظور بررسی دماهای بهینه (کاردینال) رشد بذور گیاه دارویی کاپاریس (کپر) با نام علمی (*Capparis spinosa*) آزمایشی در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با ۳ تکرار ۲۵ بذری در دماهای ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱، ۲۴، ۲۷ و ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۱ روز اجرا شد. تعداد بذور سبز شده در هر روز به صورت تجمعی ثبت گردید و زمان لازم برای ۵۰ درصد (D_{50}) سبز شدن برآورد گردید و از این مؤلفه سرعت سبز شدن محاسبه گردید. بر اساس نتایج به دست آمده بهترین دماها برای جوانه زنی بذور کاپاریس دماهای ۲۴، ۲۷ و ۳۰ درجه سلسیوس بود. دمای بهینه بر اساس سرعت و درصد جوانه زنی برای کاپاریس ۲۷ درجه سلسیوس بود. کمترین مقادیر درصد و سرعت جوانه زنی در دماهای ۳، ۶، ۹ و ۱۲ مشاهده شد و بین دمای ۲۷ و ۳۰ درجه هم اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

واژگان کلیدی: درصد جوانه زنی، دمای بهینه، سرعت جوانه زنی، کاپاریس



۱. مقدمه

جوانه زنی فرایندی فیزیولوژیکی است که از رشد گیاهچه آغاز شده و با نفوذ گیاهک به داخل بافت های پوششی بذر کامل می شود. بنابر این زمان جوانه زنی حداثی بین ورود آب به داخل بذر تا خروج بافت گیاهک از پوسته بذر می باشد (Bradford, 2002). بر اساس معیارهای کنترل کیفیت، جوانه زنی، عبارت است از نمو گیاهچه به مرحله ای که حضور و یا فقدان ساختمان های ضروری آن قابل تشخیص باشد و این فرایند تا حدود زیادی تحت تأثیر دما و رطوبت قرار می گیرد. پس از مرحله آب گیری بذر، دما بحرانی ترین عاملی می باشد که موفقیت یا عدم موفقیت در استقرار گیاه را تعیین می کند. با توجه به اهمیت دما در سرعت و درصد جوانه زنی بذور، تعیین بهترین دما برای جوانه زنی بذور مختلف، از اهمیت خاصی برخوردار است و اثر دما بر جوانه زنی بر اساس دماهای بهینه (کاردینال) بیان می شود و این دماها شامل سه دمای حداقل (Tb)، بهینه (To) و حداکثر (Tc) می باشند. دمای حداقل، کمترین دمایی است که در آن سرعت جوانه زنی صفر است و در واقع جوانه زنی در آن اتفاق نمی افتد. دمای حداکثر، نیز بالاترین دمایی است که در آن سرعت جوانه زنی صفر است و دمای بهینه نیز دمایی است که در آن بیشترین سرعت جوانه زنی مشاهده می شود (هاشمی و همکاران، ۱۳۹۵). دما دارای دو اثر متفاوت روی بذر شامل تأثیر بر خواب بذر و جوانه زنی در بذرهایی فاقد خواب می باشد. با توجه به شرایط خواب بذر، تغییرات فصلی دما عامل مهمی برای از بین بردن خواب اولیه بذر بوده و عاملی موثر بر تحمیل خواب ثانویه در دماهای بالاتر می باشد (Bradford, 2002). واکنش گیاهان نسبت به دما بستگی به گونه، رقم، محل رشد و مدت زمان پس از برداشت گیاه دارد. به عنوان یک قاعده کلی بذور گیاهان مناطق معتدله در مقایسه با بذور گیاهان مناطق گرمسیری به دمای کمتری نیاز داشته و گونه های وحشی نیاز دمایی کمتری از گیاهان اهلی دارند. دمای مناسب جوانه زنی برای اکثر بذور بین ۱۵ و ۳۰ درجه سلسیوس است. حداکثر دما برای اکثر گونه ها بین ۳۰ تا ۴۰ درجه سلسیوس است. البته در دماهای بالاتر از ۵۰ درجه سلسیوس عمل جوانه زنی در دانه ها متوقف می شود (Seefeldt, 2002).

گیاه دارویی کاپاریس با نام علمی *Capparis spinosa* از خانواده *Capparidaceae*، بوته ای دائمی بوده که حدود ۲۵۰ گونه از آن شناخته شده است و با نام های متعددی از جمله کپر، کابر و کبر یا علف مار در ایران شناخته می شود. این بوته گیاهی دائمی با ریشه های عمیق و ضخیم در حدود ۳۰ تا ۱۰۰ سانتیمتر ارتفاع دارد تمام قسمت های مختلف کاپاریس مانند شاخه های جوان، جوانه های گل، میوه ها و دانه های آن برای رژیم غذایی انسان استفاده می شود (Saadaoui et al., 2007). از برگ های این گیاه برای معالجه بیماری های پوستی، درد گوش و ضد عفونی زخم گوش و از جوانه های آن در مقابل بیماری های طحال استفاده می شده است (Jiang et al., 2007). همچنین برای کاهش سطح گلوکز خون در دیابت نوع دوم (Fallah Huseini et al., 2013) و فعالیت ضد تیروئیدی و پیشگیری از سرطان کارآیی دارد (Cao et al., 2010). همه قسمت های مختلف کاپاریس مانند شاخه های جوان، جوانه های گل، میوه ها و دانه های آن برای رژیم غذایی انسان استفاده می شود. مطالعات قبلی در مورد ترکیب شیمیایی *C. spinosa* وجود تعداد زیادی از ترکیبات مفید مانند ویتامین ها، مواد معدنی، آلکالوئیدها و لیپیدها را گزارش کرده اند (Tlili et al., 2014). این گیاه دارای حدود ۱۹ تا ۲۲ درصد پروتئین، ۲۶ درصد فیبر و حدود ۳۰ تا ۳۵ درصد روغن است (بی نام، ۱۴۰۳).



هدف از این تحقیق تعیین دامنه دمایی مناسب جوانه زنی در بذور گیاه دارویی کاپاریس و دماهای بهینه جوانه زنی این گیاه بود.

۲. مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۴۰۲ در دانشگاه پیام نور مرکز شوش استان خوزستان با طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار ۲۵ بذری در دماهای ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱، ۲۴، ۲۷ و ۳۰ درجه سلسیوس صورت گرفت. بذرها با محلول وایتکس ضد عفونی و سپس با آب مقطر شستشو شدند و در پتری‌دیش‌هایی استریل شده قرار داده شدند. بازدید از بذرها به صورت روزانه انجام می‌گرفت. در طول آزمایش در صورت نیاز آب مقطر به پتری‌دیش‌ها اضافه شد. تعداد بذور سبز شده در هر روز به صورت جمعی ثبت گردید و زمان لازم برای ۵۰ درصد (D_{50}) سبز شدن برآورد گردید. و از این مولفه سرعت سبز شدن محاسبه گردید نمودارها با کمک نرم افزار Excel رسم شدند. تجزیه آماری داده‌ها با SAS v9.4 انجام گردید.

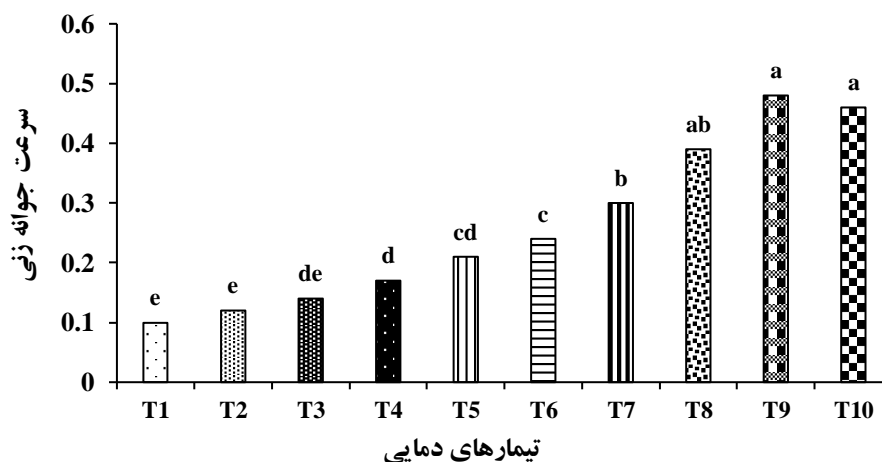
۳. نتایج

بر اساس نتایج جدول میانگین مربعات سرعت و درصد جوانه زنی در بین دماهای مختلف دارای اختلاف معنی‌داری بود و درصد و سرعت جوانه زنی در دماهای مختلف متفاوت بود (جدول ۱ و شکل ۱ و ۲). همچنین سرعت جوانه زنی نیز در بین دماهای مختلف متفاوت بود که البته در دماهای بالاتر درصد جوانه زنی هم بیشتر بود و در مورد سرعت جوانه زنی هم نتایج در دماهای مختلف قابل مشاهده است (جدول ۱، شکل ۱ و ۲). بر اساس نتایج به دست آمده بهترین دماها برای جوانه زنی بذر کاپاریس دماهای ۲۴، ۲۷ و ۳۰ درجه سلسیوس بود. دمای بهینه بر اساس سرعت و درصد جوانه زنی برای کاپاریس ۲۷ درجه سلسیوس بود (جدول ۱ و شکل ۱ و ۲). کمترین مقادیر درصد و سرعت جوانه زنی در دماهای ۳، ۶، ۹ و ۱۲ مشاهده شد و بین دمای ۲۷ و ۳۰ درجه هم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

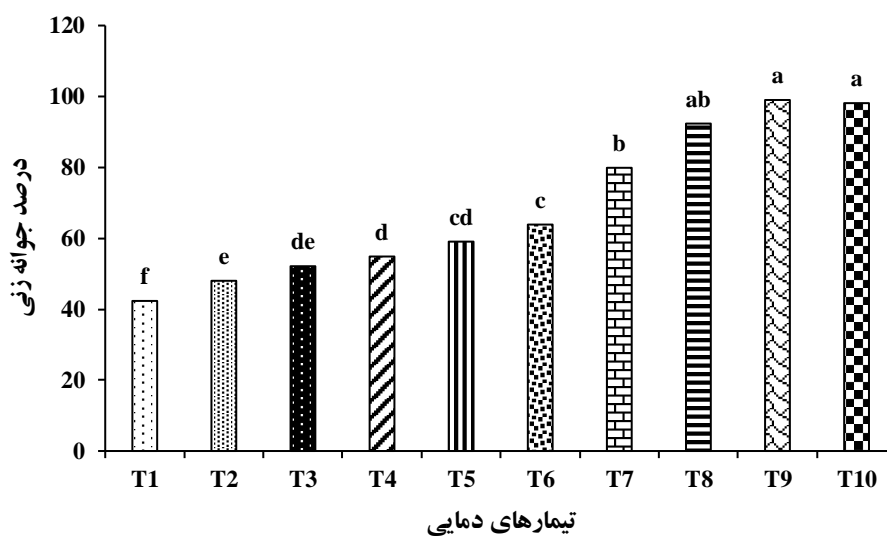
جدول ۱ - مقایسه میانگین جوانه زنی بذور گیاه کاپاریس در دماهای مختلف

تیمار	دما (سلسیوس)	درصد جوانه زنی	سرعت جوانه زنی
T ₁	۳	۴۲/۳۳ ^f	۰/۱۰ ^e
T ₂	۶	۴۸/۰۱ ^e	۰/۱۲ ^e
T ₃	۹	۵۲/۱۲ ^{de}	۰/۱۴ ^{de}
T ₄	۱۲	۵۴/۸۶ ^d	۰/۱۷ ^d
T ₅	۱۵	۵۹/۰۶ ^{cd}	۰/۲۱ ^{cd}
T ₆	۱۸	۶۳/۸۷ ^c	۰/۲۴ ^c
T ₇	۲۱	۷۹/۸۸ ^b	۰/۳۰ ^b
T ₈	۲۴	۹۲/۳۶ ^{ab}	۰/۳۹ ^{ab}
T ₉	۲۷	۹۹/۰۱ ^a	۰/۴۸ ^a
T ₁₀	۳۰	۹۸/۱۲ ^a	۰/۴۶ ^a

حروف غیر مشترک در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



شکل ۱: سرعت جوانه زنی کاپاریس در تیمارهای دمایی مختلف



شکل ۲: درصد جوانه زنی کاپاریس در تیمارهای دمایی مختلف

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که سرعت و درصد جوانه زنی بذور گیاه دارویی کاپاریس تحت تأثیر دماهای بالاتر واکنش بهتری نشان می دهد و در دماهای ۲۴، ۲۷ و ۳۰ بهترین نتایج حاصل شد. اثر دمای بالاتر (۲۴، ۲۷ و ۳۰) بر درصد بیشتر جوانه زنی مطابق با شکل ۱ مشاهده می شود. هر چه گیاه بتواند در مدت زمان کمتری درصد جوانه زنی بیشتری داشته باشد دارای کیفیت مطلوب تری است. اثر افزایش دما بر درصد و سرعت جوانه زنی تا یک محدوده مشخص است (نجفی و همکاران، ۱۳۸۸). در دماهای بالاتر و پایین تر نسبت به دمای بهینه جوانه زنی که در این پژوهش در محدوده ۲۴ و ۲۷ به دست آمد درصد و سرعت

جوانه‌زنی کاهش محسوس تری نشان دادند و در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری کرد که گیاه کاپاریس دماهای بالاتر را بهتر از دماهای پایین‌تر تحمل می‌کند. در کل دما به دلیل تأثیری که بر سرعت جوانه‌زنی و سرعت رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه دارد درصد جوانه‌زنی نهایی بذور را در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌دهد (Bradford et al., 2002) و به‌طور معمول بین سرعت جوانه‌زنی، عکس‌زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد از جوانه‌زنی نهایی، و دما تا دمای مطلوب برای جوانه‌زنی بذور، رابطه‌ی خطی مثبت وجود دارد. در پژوهشی که به‌منظور بررسی تأثیر دماهای مختلف بر درصد و سرعت جوانه‌زنی در چندین گونه دارویی انجام گرفت مشاهده شد که افزایش دما از ۲۵ و یا ۳۰ درجه سلسیوس به ترتیب باعث کاهش معنی‌داری در سرعت و درصد جوانه‌زنی گیاهان مورد آزمایش شد (Bannayan et al., 2006). چنین به‌نظر می‌رسد که با افزایش دما شرایط مناسب‌تری از نظر دمایی برای جوانه‌زنی کاپاریس ایجاد شده و در نهایت باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی آن می‌شود و با افزایش دما تا ۲۷ درجه سلسیوس روند افزایشی اما پس از آن روند کاهش در دمای ۳۰ درجه را طی می‌کند. تأثیر مثبت دمای بهینه بر تنفس سلولی، فعالیت آنزیم‌ها، هورمون‌ها و نفوذپذیری غشای سلولی باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌شود که در نتایج در جدول ۱ و شکل‌های ۱ و ۲ قابل مشاهده هستند.

منابع

بی‌نام. ۱۴۰۳. آشنایی با گیاه کاپاریس. <https://www.areeo.ac.ir/fa-IR/AREEO/1/news/view/23064/220332>

نجفی، ف.، کوچکی، ع.ر.، رضوانی مقدم، پ.، و راستگو، م. ۱۳۸۸. مطالعه داروسازی مردمی گونه پونه سای بینالودی

Nepeta binaludensis Jamzad، گونه‌ای نادر و در حال انقراض از ایران. نشریه گیاهان دارویی. پیاپی ۳۰: ۴. ۳۸۵-۳۹۲.

هاشمی، ع.، باروتی، ش. و توکل افشاری، ر. ۱۳۹۵. تعیین دماهای کاردینال جوانه‌زنی بذر مارگریت (*Chrysanthemum*

maximum Ramond). نشریه علوم و فناوری بذر ایران. جلد پنجم. ش: ۲ ص: ۸۴-۷۷. DOI:

10.22034/ijst.2017.108163

Bannayan, M., Nadjafi, F., Rastgoo, M. & Tabrizi, L. (2006). Germination properties of some wild medicinal plants from Iran. Journal of Seed Technology, 28, 80-86.

Bradford, K. J. (2002). Application of hydrothermal time to quantifying and modeling seed germination and dormancy. Weed Sci, 50:248-260.

Cao, Y. L., Zheng, M. (2010). Effect of *Capparis spinosa* on fibroblast proliferation and type II collagen production in progressive systematicsclerosis. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 33: 560-3.

Fallah Huseini, Hassan., Hasani, Shirin., Nayeibi, Neda., Heshmat, Ramin., Khaligi Sigaroodi, Farahnaz., Ahvazi, Mary., Abassi Alaci, Behroz., Kianbakht, Saeed. (2013) *Capparis spinosa* L. (caper) fruit extract in treatment of type 2 diabetic: A randomized-controlled cilical trial. Complementary Therapies in Medicine 21: 447-452.

Jiang, H.-E., Li, X., Ferguson, D.K., Wang, Y.-F., Liu, C.-J., Li, C.-S. (2007). The discovery of *Capparis spinosa* L.(Capparidaceae) in the Yanghai Tombs (2800 years bp), NW China, and its medicinal implications. Journal of Ethnopharmacology, 113, 409-420.

Saadaoui, E., Khaldi, A., Khouja, M. L., El-Gazzah, M. (2007). Etude de la variabilité morphologique du câprier (*Capparis spp.*) en Tunisie. Revue des régions arides, 2, 523-527.



- Seefeldt, S.S., Kidwell, K.K., and Waller, J.E. (2002). Base growth temperatures, germination rates and growth response of contemporary spring wheat (*Triticumaestivum* L.) cultivars from the US Pacific Northwest. *Field Crops Res.* 75: 47-52.
- Tlili, N., Nasri, N., Nasri, N., Saadaoui, E., Khaldi, A., Triki, S. (2010). Sterol composition of cape(*Capparis spinosa*) seeds. *Journal Biotechnology*, 9, 3328-3333.

تأثیرات ضددرد و ضدالتهابی آلکالوئیدهای تاتوره: یک مرور جامع بر خواص و کاربردها

پرویز ملک زاده^۱، زهرا قادری مقدم^{*}، رضا شیخ اکبری مهر^۱

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه قم، قم. (ghaderi.moghadam.z@gmail.com)

چکیده

این مقاله مروری به بررسی خواص دارویی گیاه تاتوره و ترکیبات شیمیایی آن می پردازد. تاتوره، به دلیل وجود آلکالوئیدهای تروپان نظیر هیوسیامین و آتروپین، دارای اثرات ضددرد و ضدالتهابی است. مطالعات نشان داده اند که عصاره های این گیاه در کاهش دردهای حاد و مزمن مؤثر می باشند. با این حال، سمی بودن تاتوره و فاصله کم بین دوزهای دارویی و خطرناک، مصرف آن را با احتیاط همراه می سازد. لذا مشاوره با پزشک متخصص پیش از استفاده از این گیاه ضروری است. علاوه بر خواص ضددرد و ضدالتهابی، تاتوره در درمان بیماری های پوستی، مشکلات تنفسی و اختلالات عصبی نیز کاربرد دارد. این مقاله تأکید می کند که با تحقیقات بیشتر، می توان از پتانسیل های این گیاه به طور ایمن و مؤثر بهره برداری کرد.

واژگان کلیدی: آلکالوئیدهای تروپان، تاتوره، ترکیبات شیمیایی، ضددرد، خواص دارویی.



۱. مقدمه

درد مزمن یکی از عوارض شایع دیابت است که کیفیت زندگی بیماران را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که دیابت با افزایش حساسیت به درد و بروز هیپرآلرژی همراه است. با توجه به محدودیت‌های داروهای شیمیایی در کنترل دردهای مزمن، جستجوی روش‌های درمانی جایگزین از جمله گیاهان دارویی اهمیت ویژه‌ای یافته است. گیاه تاتوره

تاتوره (*Datura stramonium* L.) به دلیل وجود آلکالوئیدهای متعدد، از جمله آگونیست‌های موسکارینی، به عنوان یک داروی سنتی با خواص ضد درد شناخته شده است. با این حال، مطالعات جامع و سیستماتیک در مورد اثر ضد درد عصاره بذر این گیاه در مدل‌های حیوانی دیابت محدود است (Batoool, Batoool, Qureshi, & Raja, 2020; Firdaus, Viquar, & Kazmi, 2020). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که عصاره بذر گیاه تاتوره در کاهش درد حاد ناشی از دیابت موثر است. با این حال، اثر این عصاره بر هیپرآلرژی مزمن و مکانیسم‌های مولکولی دخیل در این اثر، به طور کامل شناخته شده نیست. هدف از این مطالعه مروری، بررسی جامع مطالعات موجود در مورد اثر ضد درد عصاره بذر گیاه تاتوره در مدل‌های حیوانی دیابت، با تمرکز بر مکانیسم‌های اثر و پتانسیل درمانی آن، می‌باشد (Alam, Khan, Khan, Nazir, & Akkol, 2021; Thapa et al, 2022).

در این مطالعه مروری، به بررسی مطالعاتی پرداخته می‌شود که به ارزیابی اثر عصاره بذر گیاه تاتوره بر انواع مختلف درد در مدل‌های حیوانی دیابت پرداخته‌اند. همچنین، به بررسی مکانیسم‌های مولکولی احتمالی دخیل در اثر ضد درد این گیاه و مقایسه آن با سایر داروهای ضد درد پرداخته می‌شود. در نهایت، با توجه به یافته‌های مطالعات موجود، پتانسیل درمانی عصاره بذر گیاه تاتوره در مدیریت درد مرتبط با دیابت مورد بحث قرار خواهد گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت یک مطالعه مروری سیستماتیک انجام شده است تا به بررسی جامع ادبیات موجود در خصوص بذر گیاه تاتوره و خواص دارویی و کاربردهای اقتصادی آن پرداخته شود. برای این منظور، جستجوی جامع در پایگاه‌های اطلاعاتی معتبر از جمله Google Scholar، PubMed، Scopus، Web of Science انجام شد.

۳. نتایج

۳-۱. سیستماتیک و رده‌بندی گیاه تاتوره

گیاه تاتوره با نام علمی *Datura stramonium* L. شناخته می‌شود و متعلق به خانواده سب‌زمینیان (solanaceae) می‌باشد. این گیاه دارای نام‌های رایج مختلفی است؛ به عنوان مثال، در عربی به آن تاتوره، جوز مثل و جوز مائل می‌گویند. در زبان چینی به نام های yang jin hu می‌نامند و در انگلیسی به نام‌هایی همچون Downy thorn-apple، Hindu datura، Hindu Purple thorn-apple و thorn-apple، Hoary thorn-apple، Horn-of-plenty، Metel هندی با نام sada dhatura و در کره‌ای به صورت huindogmalpul ذکر می‌شود. در زبان پرتغالی آن را burbiaca و در اسپانیایی burladora می‌نامند و در سوئدی نیز به نام indisk spikklubba شناخته می‌شود (Akbar & Akbar, 2020; Al-Snafi, 2017; Bhaduri & Sharma, 1946).



شکل ۱. گیاه تاتوره

۳-۲. اطلاعات عمومی، متابولیت‌های ثانویه و دارویی گیاه تاتوره

تاتوره یک گیاه علفی یک‌ساله است که از خرداد تا مهر گل می‌دهد و احتمالاً بومی شمال شرقی آمریکای شمالی می‌باشد. این گیاه از آنجا به سایر مناطق آمریکا، اروپا و دیگر نقاط جهان منتقل شده است. تاتوره در زمین‌های بایر، کنار جاده‌ها و نزدیک مناطق مسکونی در ارتفاعات کم تا نسبتاً زیاد در بیشتر مناطق معتدل و نیمه‌حاره‌ای نیمکره شمالی یافت می‌شود و امروزه در تمام کشورهای دنیا وجود دارد. داروهای خام بیشتر در برگ‌های گیاهان گلدار و به ندرت در بذور رسیده یافت می‌شوند. برگ‌ها معمولاً در سایه یا در گرمای مصنوعی حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک می‌شوند و طعم تلخ و شوری دارند (Akbar & Akbar, ۲۰۲۰). با توجه به سمی بودن شدید این گیاه، احتیاط زیادی در جمع‌آوری آن باید رعایت شود. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، برگ‌ها حاوی آلکالوئیدهای تروپان به میزان ۰/۵ درصد بوده و بذور آن نیز حدود ۲۰ درصد روغن دارند. اثرات آلکالوئیدهای تروپان و موارد استفاده آن‌ها مشابه بذرالبنج و بلادون است و گاهی اوقات در سیگارهای ضد تنگی نفس به کار می‌روند. تاتوره معمولاً به صورت وحشی جمع‌آوری می‌شود، در حالی که انواع زراعی آن‌ها به‌ویژه گونه‌هایی که غنی از اسکوپولامین هستند، مانند *Datura innoxia* (مناطق حاره‌ای آمریکا) و *Datura metel* (مناطق حاره و نیمه‌حاره آسیا و آفریقا) برای تهیه دارو استفاده می‌شوند. همچنین، ارقامی از *Datura stramonium* که کپسول‌های بدون برآمدگی و محتوای بیشتری از آلکالوئید دارند، مورد توجه هستند. این گیاه از نیمه دوم قرن شانزدهم در اسپانیا شناخته شده و به عنوان یک گیاه زینتی به سایر کشورها وارد شده است. یک قرن بعد، به عنوان یک گیاه وحشی مستقر گردید (Akbar & Akbar, 2020; Al-Snafi, 2017; Alam et al., 2021; Céspedes-Méndez, Iturriaga- (۲۰۲۱), Vásquez, & Hormazábal, 2021; Cinelli & Jones

جدول ۱. متابولیت‌های ثانویه فرار و کاربرد اقتصادی گیاه تاتوره

متابولیت ثانویه	مقدار	اثرات دارویی و درمانی
آلکالوئیدهای تروپان	۰.۵ درصد	استفاده در داروهای ضد درد و ضد تنگی نفس
روغن	حدود ۲۰ درصد	استفاده در سیگارهای ضد تنگی نفس
اسکوپولامین	غنی در گونه‌های خاص	کاربردهای دارویی در درمان تنگی نفس و برخی بیماری‌ها
سایر آلکالوئیدها	-	مشابه بذرالبنج و بلادون



نام داتوره (DATURA) که به این گیاه داده شده، مشتق از نام فارسی تاتوره است، زیرا این گیاه دراصل بومی ایران بوده و به نام‌های تاتوله، جوزماش، نبات اهریمنی و علف شیطان نیز شناخته می‌شود. دو عالم برجسته یونانی، دسقوریدس و تئوفراستوس، در قرن اول و دوم میلادی، این گیاه را جزو نباتات سمی معرفی کرده‌اند. در گذشته، تاتوره در داروسازی کاربرد زیادی داشته و در طب انسانی و دامپزشکی به کار می‌رفته است. این گیاه به‌طور وحشی در زمین‌های لم‌یزرع و کنار جاده‌ها می‌روید و منشأ اصلی آن کناره دریای خزر است. در اواسط قرون وسطی، تاتوره به تمام اروپا و سپس به آمریکا و دیگر نقاط منتقل شده و در اکثر کشورهای دنیا به مقدار فراوان وجود دارد (Das, Mazumder, & Pentela, 2023; Firdaus et al., 2020; Prasathkumar et al., 2022).

تاتوره، درختچه‌ای یک‌ساله با ساقه‌ای استوانه‌ای، بی‌کرک و منشعب به طول ۴۰ سانتی‌متر تا ۲ متر و به رنگ سبز است. قطر ساقه اصلی در صورت رشد به ۱ تا ۲ سانتی‌متر می‌رسد. برگ‌های این گیاه معمولاً متناوب هستند و صفحات آن‌ها پهن و بیضی نوک‌تیز یا مدور می‌باشد. طول برگ‌ها ۱۰ تا ۱۲ سانتی‌متر و عرض آن‌ها ۶ تا ۸ سانتی‌متر است. اگر برگ تازه تاتوره را له کنید، بویی تهوع‌آور و نامطبوع از آن متصاعد می‌شود، در حالی که برگ خشک شده بوی کمتری دارد. این برگ‌ها گس، قی‌آور و کمی تلخ هستند. گل‌های تاتوره به شکل شیپور و به‌صورت تک‌تک می‌باشند و بیش از یک یا دو روز دوام نمی‌آورند. دانه‌های این گیاه شبیه دانه‌های سماق هستند و شکل آن‌ها قلوه‌ای است، با دو سطح جانبی صاف و هموار و سطح زیرین و رویی زگیل‌دار، رنگ این دانه‌ها سیاه مایل به قهوه‌ای است و اندازه آن‌ها ۴ تا ۵ میلی‌لیتر می‌باشد (Alam et al., 2021). میوه تاتوره کپسولی بیضی شکل و خاردار است که با چهار شکاف باز می‌شود. ماده سمی این گیاه داتورین است که از سه آلکالوئید آتروپین، هیوسامین و اسکوپولامین تشکیل شده است. این آلکالوئیدها در گیاه به حالت ترکیب با اسید مالیک، اسید آتروپین و اسید داتوریک وجود دارند که در بین آن‌ها، مقدار آلکالوئید هیوسامین بیشتر است. Sharma و Bhaduri (۱۹۴۶) اظهار می‌دارند که تاتوره بوته‌ای است که در ساحل نهرها می‌روید و دارای نوعی آلکالوئید است که باعث مسمومیت اعصاب می‌شود و در صورت مصرف، می‌تواند باعث نفخ، بی‌قراری، فلج، کوری مطلق و مرگ سریع شتر گردد (Bhaduri & Sharma, ۱۹۴۶). برای درمان مسمومیت ناشی از این گیاه، باید سم وارد شده به معده را با استفاده از داروهای قی‌آور خارج کرد، زیرا حالت استفراغ غالباً به‌طور خودبه‌خود ایجاد نمی‌شود. معمولاً از ضدسم‌هایی مانند مورفین یا پیلوکارپین استفاده می‌شود و خوراندن قهوه غلیظ و محرک‌های مختلف نیز مفید است (Firdaus et al., 2020; Islam et al., 2023).

۳-۳. کاربرد گیاه تاتوره در پزشکی

گیاه تاتوره دارای کاربردهای سنتی متنوعی است. برگ‌ها، گل‌ها و ریشه‌های خشک شده این گیاه به عنوان مخدر، ضد اسپاسم و ضد سرفه استفاده می‌شوند. علاوه بر این، تاتوره به عنوان یک گشادکننده برونش و داروی ضد آسم نیز شناخته می‌شود و اثرات توهم‌زایی دارد. این گیاه در درمان مشکلاتی نظیر اسهال، بیماری‌های پوستی، صرع، هیستری، دردهای روماتیسمی، هموروئید، قاعدگی دردناک، زخم‌های پوستی و سوختگی‌ها نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین، تاتوره به عنوان یک ضد عفونی‌کننده و میکروب‌کش شناخته شده است (Akbar & Akbar, 2020; Batool et al., 2020).

جدول ۲. کاربردهای درمانی گیاه تاتوره در طب

کاربرد	توضیحات
مخدر	استفاده به عنوان مسکن و آرام‌بخش



کاهش انقباضات عضلانی	ضد اسپاسم
تسکین سرفه و مشکلات تنفسی	ضد سرفه
کمک به بهبود تنفس در بیماران آسمی	گشاد کننده برونش
تسکین علائم بیماری آسم	ضد آسم
ایجاد حالت توهم و تغییرات در ادراک	توهم‌زا
کاهش علائم اسهال	درمان اسهال
بهبود زخم‌ها و عفونت‌های پوستی	درمان بیماری‌های پوستی
کاهش حملات صرع	درمان صرع
تسکین علائم هیستری	درمان هیستری
کاهش درد و التهاب در بیماری‌های روماتیسمی	درمان دردهای روماتیسمی
تسکین علائم هموروئید	درمان هموروئید
کاهش درد قاعدگی	قاعدگی دردناک
کمک به بهبود زخم‌ها و سوختگی‌ها	درمان زخم‌ها و سوختگی‌ها
از بین بردن میکروب‌ها و عفونت‌ها	ضد عفونی کننده و میکروب کش

۳-۴. ترکیبات شیمیایی بافت خشک گیاه تاتوره

این گیاه حاوی ترکیبات مختلفی است که شامل چربی (۱۴.۷۲ درصد)، کربوهیدرات (۵۱.۲۲ درصد)، پروتئین (۲۰.۷۳ درصد)، رطوبت (۴.۶۳ درصد) و محتوای خاکستر (۵.۱۴ درصد) می‌باشد. همچنین، کل قند موجود در آن ۵.۶۳ درصد و قند احیا کننده ۲.۶۵ درصد است. فیبر خام این گیاه ۱۷.۳۵ درصد و عناصر کمیاب موجود در آن به شرح زیر است: کلسیم ۱۷۴.۰ میلی گرم، فسفر ۶۹۰.۰ میلی گرم، پتاسیم ۰.۵۰ میلی گرم، سدیم ۰.۰۸۵ میلی گرم، آهن ۱۶.۸ میلی گرم، روی ۲.۶۳ میلی گرم، مس ۶.۹ میلی گرم و منیزیم ۳۹۰.۰ میلی گرم. همچنین، درصد کل اسیدهای چرب اشباع ۱۸.۰۳ و کل اسیدهای چرب غیر اشباع ۸۱.۷۴ درصد است که شامل ۲۷.۴۹ درصد اسیدهای چرب تک غیر اشباع و ۵۴.۲۵ درصد اسیدهای چرب چند غیر اشباع می‌باشد. پروفیل اسید چرب شامل ۱۵.۳۱ درصد اسید پالمیتیک است. آلکالوئیدهای تروپان که بیش از ۲۰۰ ترکیب را شامل می‌شوند، به دلیل وجودشان در خانواده Solanaceae شناخته شده‌اند که این خانواده شامل بیش از ۱۰۰ جنس و ۳۰۰۰ گونه گیاهی است (Batool et al., 2020; Thapa et al., 2022). این آلکالوئیدها با ساختار دو حلقه‌ای شامل یک حلقه پیرولیدین و یک حلقه پیریدین که دارای یک اتم نیتروژن و دو اتم کربن در گروه آمینه هستند، مشخص می‌شوند. مهم‌ترین آلکالوئیدهای تروپان طبیعی شامل (-)-هیوسامین و (-)-اسکوپولامین (که به هیوسین نیز معروف است) می‌باشند (جدول ۳) (Cinelli & Jones, 2021; Das et al., 2023).



جدول ۳. ترکیبات، عناصر، اسید چرب و آلکالوئیدهای گیاه تاتوره

ترکیب	مقدار (%)	عنصر	مقدار (mg/100g)	نوع اسید چرب	مقدار (%)	آلکالوئید	توضیحات
چربی	14.72	کلسیم	174.0	کل اسیدهای چرب اشباع	18.03	هیوسامین	آلکالوئیدهای تروپان
کربوهیدرات	51.22	فسفر	690.0	کل اسیدهای چرب غیر اشباع	81.74	اسکوپولامین	به عنوان هیوسین
پروتئین	20.73	پتاسیم	0.50	اسید چرب تک غیر اشباع	27.49		
رطوبت	4.63	سدیم	0.085	اسید چرب چند غیر اشباع	54.25		
خاکستر	5.14	آهن	16.8	اسید پالمیتیک	15.31		
کل قند	5.63	روی	2.63	نوع اسید چرب	مقدار (%)		
قند احیا کننده	2.65	مس	6.9				
فیبر خام	17.35	منیزیم	390.0				

۳-۵. نقش تاتوره به عنوان داروی ضد درد و ضد التهاب

گیاه تاتوره دارای خواص ضد درد و ضد التهاب است که این اثرات ناشی از ترکیبات آلکالوئیدی آن، از جمله هیوسامین و آتروپین، می باشد. این ترکیبات با تأثیر بر سیستم عصبی مرکزی و محیطی، به کاهش درد و التهاب کمک می کنند. تحقیقات نشان داده اند که عصاره های تاتوره در کاهش دردهای حاد و مزمن مؤثر هستند (Akbar & Akbar, 2020; Batool et al., 2020; Thapa et al., 2022). با این حال، از آنجا که تاتوره به شدت سمی است و در عین حال خاصیت دارویی دارد، لازم است توجه ویژه ای به دوز مصرفی آن داشته باشید. فاصله بسیار کمی بین دوزهای دارویی و دوزهای خطرناک برای انسان وجود دارد؛ بنابراین، حتماً قبل از مصرف تاتوره، از پزشک متخصص مشاوره بگیرید.

نتیجه گیری نهایی

گیاه تاتوره (Datura) یکی از گیاهان دارویی و سمی مهم از خانواده سیب زمینیان (Solanaceae) است که به دلیل ترکیبات آلکالوئیدی قوی خود، از دیرباز مورد توجه طب سنتی و داروسازی مدرن بوده است. این گیاه به صورت خودرو در بسیاری از مناطق جهان رشد می کند و به دلیل داشتن ترکیباتی مانند آتروپین، هیوسامین و اسکوپولامین دارای اثرات دارویی قابل توجهی است. از مهم ترین کاربردهای دارویی آن می توان به درمان آسم، کاهش اسپاسم های عضلانی، بیهوشی و آرام بخشی اشاره کرد. با این حال، سمی بودن این گیاه یک چالش اساسی محسوب می شود، زیرا مصرف نادرست آن می تواند باعث ایجاد توهّم، گیجی، خشکی دهان، افزایش ضربان قلب، اختلالات عصبی و حتی مرگ شود.

بررسی های علمی نشان داده است که تاتوره می تواند در پزشکی، داروسازی و حتی صنایع مرتبط با کنترل آفات و بیولوژیک کاربرد داشته باشد. با این وجود، به دلیل خطرات ناشی از دوز نامناسب، استفاده از آن باید تحت نظارت دقیق متخصصان صورت گیرد. از سوی دیگر، مطالعات بیشتری برای تعیین دوز مؤثر و ایمن این گیاه در درمان بیماری های مختلف مورد نیاز است.



در کنار کاربردهای دارویی، برخی از گونه‌های تاتوره به عنوان گیاهان زینتی نیز کشت می‌شوند، اما به دلیل خاصیت سمی آن‌ها، تماس یا مصرف ناخواسته به‌ویژه در کودکان و حیوانات خانگی می‌تواند خطرناک باشد. از نظر زیست‌محیطی، رشد سریع این گیاه و انتشار بذریه‌های آن باعث شده است که در برخی مناطق به عنوان علف هرز مهاجم شناخته شود.

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که زمان کاشت و تراکم بوته می‌تواند بر محتوای آلکالوئیدها و صفات فیزیولوژیک این گیاه تأثیرگذار باشد. به عنوان مثال، تحقیقی در سال ۱۴۰۱ نشان داد که تغییر در تاریخ کاشت و تراکم بوته می‌تواند منجر به تغییرات قابل توجهی در میزان آلکالوئیدها و سایر ویژگی‌های فیزیولوژیک تاتوره شود.

به طور کلی، تاتوره گیاهی دوجبهی است که هم دارای خواص دارویی ارزشمند و هم اثرات سمی خطرناک می‌باشد. بهره‌گیری از پتانسیل‌های دارویی این گیاه مستلزم مطالعات دقیق‌تر در زمینه فارماکولوژی، سمیت‌شناسی و دوزبندی ایمن است. در آینده، تحقیق بر روی مشتقات این گیاه و ترکیب آن با سایر داروهای گیاهی یا شیمیایی می‌تواند مسیرهای جدیدی را برای درمان بیماری‌های عصبی، التهابی و تنفسی باز کند. از دوز نامناسب، استفاده از آن باید تحت نظارت دقیق متخصصان صورت گیرد. از سوی دیگر، مطالعات بیشتری برای تعیین دوز مؤثر و ایمن این گیاه در درمان بیماری‌های مختلف مورد نیاز است.

منابع

- Akbar, S., & Akbar, S. (2020). *Datura stramonium* L. (Solanaceae). Handbook of 200 Medicinal Plants: A Comprehensive Review of Their Traditional Medical Uses and Scientific Justifications, 857-868.
- Al-Snafi, A. E. (2017). Medical importance of *Datura fastuosa* (syn: *Datura metel*) and *Datura stramonium*-A review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 7(2), 43-58.
- Alam, W., Khan, H., Khan, S. A., Nazir, S., & Akkol, E. K. (2021). *Datura metel*: A review on chemical constituents, traditional uses and pharmacological activities. *Current pharmaceutical design*, 27(22), 2545-2557.
- Batool, A., Batool, Z., Qureshi, R., & Raja, N. I. (2020). Phytochemicals, pharmacological properties and biotechnological aspects of a highly medicinal plant: *Datura stramonium*. *Plant Sci*, 8(2), 29-40.
- Bhaduri, P., & Sharma, A. (1946). Cytogenetics of *Datura fastuosa* L. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 438-450.
- Céspedes-Méndez, C., Iturriaga-Vásquez, P., & Hormazábal, E. (2021). Secondary metabolites and biological profiles of *Datura* genus. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 66(2), 5183-5189.
- Cinelli, M. A., & Jones, A. D. (2021). Alkaloids of the genus *Datura*: Review of a rich resource for natural product discovery. *Molecules*, 26(9), 2629.
- Das, S., Mazumder, A., & Pentela, B. (2023). Phytochemical components in *Datura metel* plant and their therapeutic properties. *Allelopathy Journal*, 60(2).
- Firdaus, N., Viquar, U., & Kazmi, M. H. (2020). Potential and pharmacological actions of *Datura safed* (*Datura metel* L.): as a deadly poison and as a drug: an overview. *Int Journal Pharm Sci & Res*, 11(7), 3123-3137.
- Islam, T., Ara, I., Islam, T., Sah, P. K., de Almeida, R. S., Matias, E. F. F., . . . Islam, M. T. (2023). Ethnobotanical uses and phytochemical, biological, and toxicological profiles of *Datura metel* L.: a review. *Current Research in Toxicology*, 4, 100106.
- Prasathkumar, M., Anisha, S., Khusro, A., Essa, M. M., Chidambaram, S. B., Qoronfleh, M. W., . . . Almeahmadi, M. (2022). Anti-pathogenic, anti-diabetic, anti-inflammatory, antioxidant, and



- wound healing efficacy of Datura metel L. leaves. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(9), 104112.
- Thapa, A., Ali, Y., Madan, S., Verma, P., Verma, P., & Gaurav, N. (2022). An Assessment of in Vitro Propagation and Medicinal Properties of Datura stramonium (Dhatura). *The Scientific Temper*, 13(02), 293-301.