

تأثیر غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید بر میزان اسانس در گیاه آویشن باعی

شکوفه انتشاری^{۱*}، صغیری رفیعی^۱ و عبدالله قاسمی پیر بلوطی^۲

گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران و ^۳گروه گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۲/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۲/۰۲)

چکیده:

در این پژوهش تأثیر غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید بر میزان و تغییرات اسانس در گیاه آویشن باعی مورد مطالعه قرار گرفت و اسانس بدست آمده از گیاه آویشن توسط دستگاه GC/MS آنالیز گردید. نتایج نشان داد که مهمترین اجزای اسانس در آویشن باعی، تیمول، کارواکرول، پی سایمن، لینالول، گاما ترپین و برنتول می‌باشند و غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید بر میزان این ترکیبات اثرات متفاوتی داشت. همچنین میزان تیمول در تیمار ۲۰۰ میکرومولار جاسمونیک اسید به طور معنی‌داری افزایش و در تیمارهای ۵۰ و ۴۰۰ میکرومولار کاهش یافت. میزان کارواکرول در تیمارهای ۲۰۰ میکرومولار جاسمونیک اسید به طور معنی‌داری افزایش یافت. از طرفی تیمار ۴۰۰ میکرومولار جاسمونیک اسید باعث کاهش معنی‌دار لینالول گردید. جاسمونیک اسید ۵۰ میکرومولار باعث افزایش معنی‌دار گاما ترپین و تیمار ۲۰۰ میکرومولار باعث کاهش معنی‌دار میزان گاما ترپین شد. میزان پی سایمن در تیمارهای ۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار جاسمونیک اسید به طور معنی‌داری افزایش یافت در حالی که غلظت ۵۰ میکرومولار جاسمونیک اسید به طور معنی‌داری باعث کاهش میزان برنتول شد. بنابراین از نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که غلظت ۴۰۰ میکرو مولار این ماده هیچ گونه اثر افزایشی بر میزان این ترکیبات نداشته در حالی که در غلظت ۲۰۰ میکرومولار اسید جاسمونیک میزان سه ترکیب تیمول، کارواکرول و پی سایمن موجود در اسانس به طور معنی‌داری افزایش یافت. بنابراین دامنه غلظت بین ۵۰ تا ۲۰۰ میکرومولار اثر تحریکی بیشتری بر تولید ترکیبات موجود در اسانس این گیاه دارد.

کلمات کلیدی: آویشن، جاسمونیک اسید، اسانس، کروماتوگرافی گازی.

ترکیبات فرار و اسانس آن می‌باشد (امیدیگی، ۱۳۸۴). اسانس گل و سر شاخه‌های آویشن دارای خواص دارویی از جمله اثر ضد روماتیسم، ضد نفخ، ضد سیاتیک و ضد عفونی کننده قوی می‌باشد. همچنین از اسانس این گیاه برای تهیه دهان شویه و شربت‌های ضد سرفه استفاده می‌شود. گونه‌های مختلف آویشن دارای اثرات قوی ضد باکتری، ضد فارچ، ضد انگل، ضد اسپاسم و آنتی اکسیدانی می‌باشد. همچنین به میزان وسیع در مناطق مختلف جهان

مقدمه:

سرده آویشن متعلق به تیره نعناعیان می‌باشد. نام علمی آویشن از واژه یونانی Thuo به معنای عطر گرفته شده است. این گیاه در نقاط مختلف ایران ۱۴ گونه دارد که برخی از آن‌ها انحصاری ایران می‌باشد. منطقه مدیترانه به عنوان مرکز گیاه آویشن معرفی شده است. این گیاه از جمله گیاهان دارویی معروف می‌باشد و اعتقاد بر این است که خواص دارویی و اثرات فیزیولوژیک آن مربوط به

*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: shenteshari@gmail.com

با حمله پاتوژن‌ها یا زخمی شدن گیاه، القا بیوستتر آنها منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند آئیون‌های سوپر اکسید و رادیکال‌های پراکسید هیدروژن می‌شود (شبانی و احسان پور، ۱۳۸۸؛ Creelman and Mullet, 1997).

هدف از این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید بر میزان ترکیبات موجود در انسانس گیاه آویشن باغی می‌باشد تا بتوان جهت استفاده بهینه از سطح زیر کشت این گیاه غلظت بهینه این محرک را بر میزان ماده مؤثره انسانس این گیاه پیدا کرد.

مواد و روش‌ها:

بذرهای گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد و جهت ضد عفونی نمودن بذرها از قارچ کش ریدومیل استفاده شد. بذرها در ۳۶ گلدان دو کیلو گرمی محتوی خاک مزرعه، کود پوسیده و ماسه بادی کشت داده شد و به مدت ۳ هفته روزانه آبیاری شدند. سپس گیاهان کشت داده شده با ارتفاع تقریبی ۷۰ میلی متر به ۴ گروه و هر گدام سه تکرار تقسیم شدند. گروه اول گیاهان شاهد که با آب مقطر محلول پاشی شدند. سایر گروهها با غلظت‌های ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار جاسمونیک اسید (Sigma) محلول پاشی شدند انتخاب غلظت‌ها بر اساس مطالعات انجام شده در مورد اثر اسید جاسمونیک بر سایر گیاهان و در سه غلظت کم، متوسط و بالا انتخاب شد. محلول پاشی ۲ بار در ابتدای فاز نوری و با فاصله یک ماه انجام شد. میزان محلول استفاده شده در هر نوبت محلول پاشی حدوداً ۵۰۰ سی سی بود. پس از برداشت گیاهان، عمل خشکانیدن در محیط سایه تا رسیدن به وزن ثابت انجام شد. سپس گیاهان با کمک دستگاه مولینکس آسیاب و با استفاده از دستگاه کلونجر و روش تقطیر با آب به مدت ۳ ساعت انسانس گیری شدند. انسانس بدست آمده با کمک دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) شناسایی شدند. تجزیه آماری داده‌ها نیز با کمک نرم افزار SPSS با ۳ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

به عنوان نوشیدنی، طعم دهنده مواد غذایی و داروی گیاهی کاربرد دارد (اکبری نیا و همکاران، ۱۳۸۹؛ امید بیگی، ۱۳۸۴).

اسانس آویشن مایعی زرد رنگ یا قهوه‌ای مایل به قرمز تیره با بوی مطبوع قوی و طعم تند و پایدار و خنک کننده است که از تقطیر برگ‌ها و سر شاخه‌های گل دار تیموس استخراج می‌شود (مومنی و شاهرخی، ۱۳۷۰). مهمترین ترکیبات فنلی این اسانس تیمول و کارواکرول و مهمترین ترکیبات غیر فنلی آن را لینالول و پی سایمن گزارش کرده اند (Ozcan and Chalchat, 2004). همچنین تحقیقات دیگر نیز نشان داده اند که اصلی ترین ترکیبات موجود در آویشن باغی تیمول، کارواکرول، پی سیمن، بورنول و گاما ترپن می‌باشد که میزان آنها تحت تأثیر دو عامل محیط ورثتیک است (Dababneh, 2007).

استفاده از مدل جاسمونات و ترکیبات مشابه راهکاری مؤثر برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه و مقاومت در برابر تنفس‌های محیطی و پاتوژن‌ها محسوب می‌شود (Cheong and Choi, 2003; Avanci *et al.*, 2010) فیزیولوژیکی جاسمونات‌ها در گیاهان بسته به گونه گیاهی، مرحله نموی و غلظت به کار رفته در آن متفاوت است. این مواد دارای نقش تنظیمی در فعالیت‌های متابولیسمی و فیزیولوژیکی گیاهان می‌باشند و در طول دوره نمو گیاه و سازگاری با تنفس‌های زیستی و غیر زیستی به عنوان مولکول‌های پیام رسان عمل می‌کنند. همچنین این ترکیب در بعضی از تحقیقات برای القای تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان استفاده می‌شوند (Kozlowski *et al.*, 1999)؛ قاسمی پیر بلوطی، ۱۳۸۸). جاسمونات‌ها از مسیر لینولنیک اسید مشتق شده‌اند و مشابه سایر تنظیم کننده‌های رشد و نمو گیاهی اثرات متنوعی از جمله ممانعت از پیری زودرس، ریزش و پیچش برگ، بسته شدن روزنه دارند. از طرفی این ترکیبات به عنوان پیام رسان کلیدی معرفی شده و در فرآیند القا منجر به تجمع متابولیت‌های ثانویه می‌شوند. جاسمونیک اسید و استر متیله آن (متیل جاسمونات) طیف وسیعی از پاسخ‌های نموی را در گیاه تنظیم می‌کند.

نتایج:**بحث و نتیجه گیری:**

جاسمونات‌ها از تنظیم کننده‌های رشد و نمو گیاهی می‌باشند که نقش‌های متفاوت تحریک کننده و یا بازدارنده بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی و رشد گیاهان دارند. جاسمونیک اسید یکی از ترکیبات سیکلوفپتان مشتق شده از اسید لینولنیک می‌باشد که از مسیر اکتا دکانوئید سنتز می‌شود و در قلمرو گیاهی پراکنش گسترده‌ای دارد. کاربرد جاسمونیک اسید اثرات متنوع فیزیولوژیکی و آناتومیکی بر گیاهان داشته و بنابراین به عنوان تنظیم کننده رشد در گیاه عمل می‌کند. امروزه مطالعات زیادی بر روی تأثیر تنظیم کننده‌های رشد به خصوص جاسمونیک اسید بر گیاهان داروئی در حال انجام است که نتایج آن نشان می‌دهد این مواد آثار متفاوتی بر تعداد و نوع ترکیبات ثانویه گیاهان Goyal, and Ramawat, 2008; Stahl, 2002,. (Biskup,. 2002). گزارش شده است که در گیاه شیرین بیان غلظت‌های ۱ و ۲ میلی مولار متیل جاسمونات باعث افزایش میزان ترکیبات فنولیک و فلاونوئید شد. همچنین اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های مسیر فنیل پروپانوئیدی در این گیاه نشان داد که غلظت‌های بیشتر از ۰/۱ میلی مولار متیل جاسمونات در طی ۲۴ ساعت پس از تیمار فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیولیاز را نسبت به گیاه شاهد تا دو برابر افزایش داد (شبانی و احسان پور، ۱۳۸۸). در این تحقیق دیده شده که تجمع ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی با افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز تحت تیمار با متیل جاسمونات افزایش یافته است. با توجه به اینکه فعالیت این آنزیم در اولین مرحله از بیوسنتر فنیل پروپانوئید است و این مرحله نقطه انشعابی میان متابولیسم اولیه و ثانویه را کاتالیز می‌کند. می‌توان نتیجه گرفت که غلظت مناسب متیل جاسمونات توان تحریک تولید متابولیت‌هایی که از این مسیر تولید می‌شوند را دارد. همچنین گزارش شده است این آنزیم نقش مهمی در بیوسنتر فلاونوئیدها، لیگنین‌ها و بسیاری از ترکیبات دیگر ایفا می‌کند (قناتی و همکاران، ۱۳۸۹). اسپولانسکی و

نتایج بدست آمده نشان داد، که مهم ترین ترکیبات موجود در آویشن باغی تیمول (۳۸-۴۸/۸ درصد)، کارواکرول (۲/۲-۱۳/۷۵ درصد)، پی سایمن (۱۲/۶-۱۸/۸ درصد)، گاما ترپین (۲/۱-۲۴/۴ درصد)، لینالول (۲/۱-۳/۱۱ درصد) و برنتول (۲/۸-۲ درصد) می‌باشد.

تیمول: آنالیز آماری نمونه‌ها نشان داد که تیمار با غلظت ۲۰۰ میکرومولار جاسمونیک اسید باعث افزایش معنی‌دار میزان تیمول و غلظت‌های ۵۰ و ۴۰۰ میکرومولار باعث کاهش معنی‌دار آن گردیده است (شکل ۱).

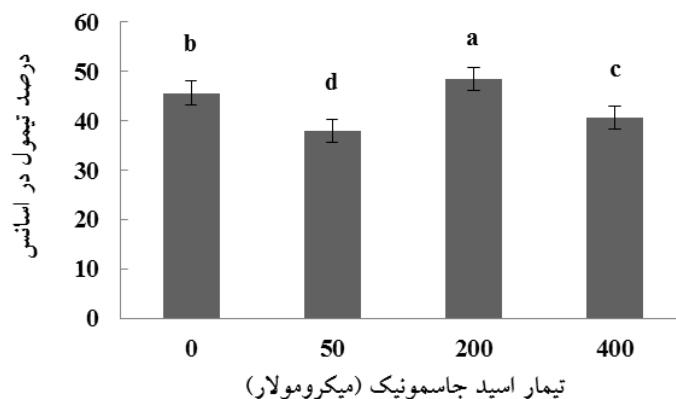
کارواکرول: آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که در بین تیمارهای جاسمونیک اسید غلظت ۲۰۰ میکرومولار باعث افزایش معنی‌دار میزان کارواکرول در حالی که تیمارهای ۵۰ و ۴۰۰ میکرومولار این ماده اختلاف معنی‌داری در میزان کارواکرول در مقایسه با نمونه شاهد ایجاد نکرد (شکل ۲).

لینالول: آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که در بین تیمارهای جاسمونیک اسید هیچ کدام از تیمارهای استفاده شده تفاوت معنی‌داری در میزان لینالول نسبت به شاهد نشان ندادند (شکل ۳).

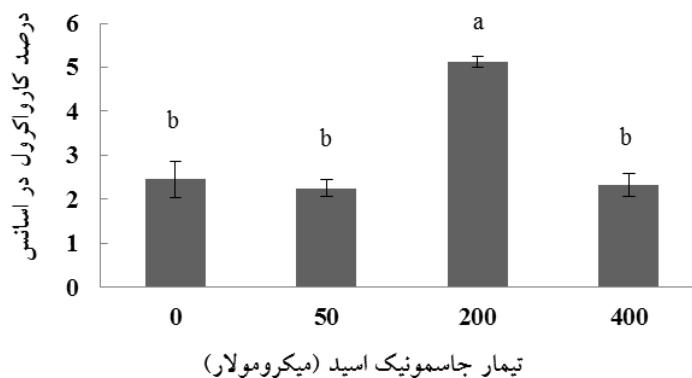
ترپین: آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که در بین تیمارهای جاسمونیک اسید تیمار ۵۰ میکرومولار افزایش معنی‌دار و تیمار ۲۰۰ میکرومولار نیز کاهش معنی‌داری در میزان ترپین نشان داد (شکل ۴).

پی سایمن: آنالیز آماری داده‌ها نشان می‌دهد که تیمار جاسمونیک اسید ۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار باعث افزایش معنی‌دار میزان پی سایمن نسبت به شاهد شد در حالی که اثر جاسمونیک اسید ۵۰ میکرومولار در این مورد بیشتر بود (شکل ۵).

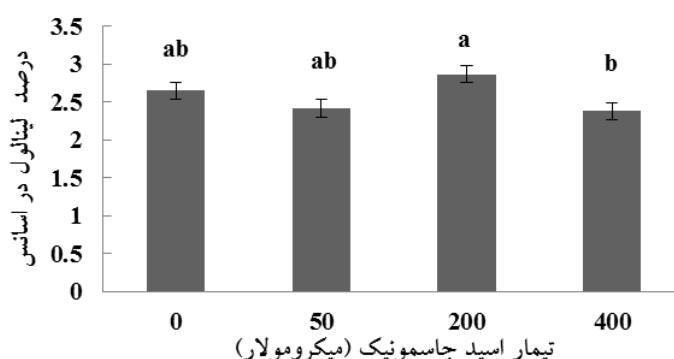
بورنتول: آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که در بین تیمارهای جاسمونیک اسید، غلظت ۵۰ میکرومولار باعث ایجاد کاهش معنی‌دار در میزان بورنتول شد در حالی که سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری را در میزان این ماده نسبت به شاهد ایجاد نکردند (شکل ۶).



شکل ۱- بررسی اثر غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید بر میزان تیمول در گیاه آویشن باغی (حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی‌دار بودن در سطح $P \leq 0/05$).



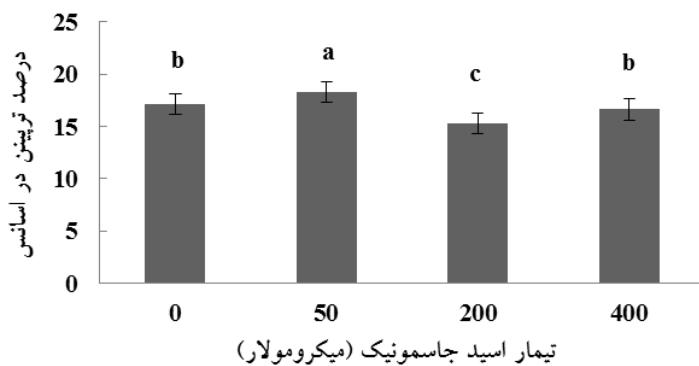
شکل ۲- بررسی اثر غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید بر میزان کارواکرول در گیاه آویشن باغی (حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی‌دار بودن در سطح $P \leq 0/05$).



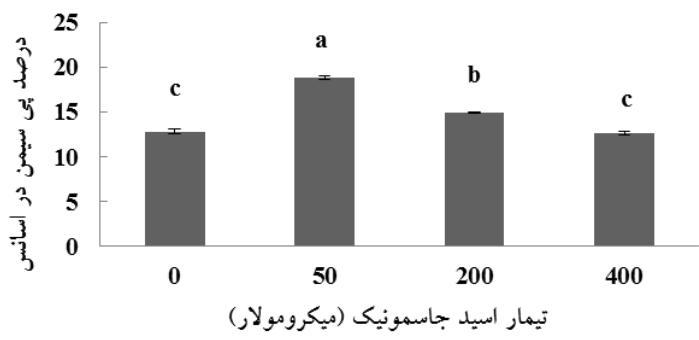
شکل ۳- بررسی اثر غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید بر میزان لینالول در گیاه آویشن باغی (حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی‌دار بودن در سطح $P \leq 0/05$).

این گیاه میزان ماده خشک و تر و میزان آلkaloidهای تروپیان در غلظت ۲۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات به

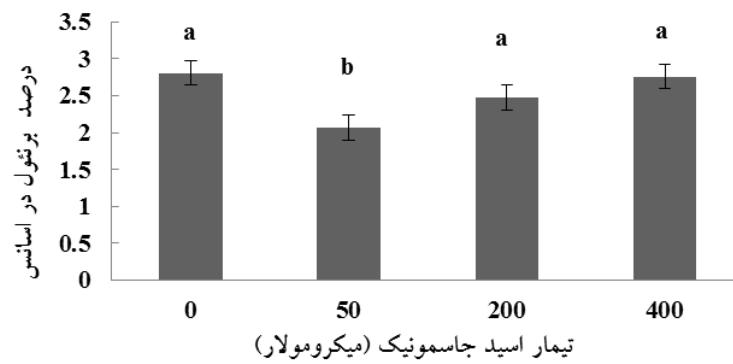
همکاران در سال ۲۰۰۰ طی مطالعه‌ای بر روی گیاه *Brugmansia candida* مشاهده کردند که در کشت ریشه



شکل ۴- بررسی اثر غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید بر میزان ترپیلن در گیاه آویشن باعی (حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی‌دار بودن در سطح $P \leq 0.05$).



شکل ۵- بررسی اثر غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید بر میزان پی‌سایمن در گیاه آویشن باعی (حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی‌دار بودن در سطح $P \leq 0.05$).



شکل ۶- بررسی اثر غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید بر میزان بورنول در گیاه آویشن باعی (حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی‌دار بودن در سطح $P \leq 0.05$).

دیده شد که متیل جاسمونات باعث افزایش تولید ماده کپساسین در این شرایط شد (Sudha and Ravishankar, 2003). در تحقیقی دیگر، Goyal و Ramawat (۲۰۰۸) با بیشترین مقدار خود رسید، در حالی که در غلظت ۴۰۰ میکرومولار این مقدار کاهش یافت (Spollanesky *et al*, 2000).

اسانس شامل کارواکرول و تیمول افزایش یافتند. قابل توجه است که ترکیب لینالول در هیچ کدام از این تیمارها افزایش معنی داری نداشت. با توجه به اینکه این ترکیب از نظر ساختار شیمیایی غیر فنلی می‌باشد اما دیده می‌شود که غلظت‌های ۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار جاسمونیک اسید بر تولید پی سایمن که آن هم از دسته ترکیبات غیر فنلی می‌باشد اثر تحریکی دارد. پس می‌توان نتیجه گیری کرد که غلظت‌های متفاوت اسید جاسمونیک بر فعالیت آنزیم‌های مسیر فنیل پروپانوئیدی و سایر مسیرهای تولید اسانس در گیاه آویشن اثرات متفاوتی دارد و تحقیقات بیشتری با دامنه غلظتی بیشتر برای نتیجه گیری دقیق تر در مورد تأثیر اسید جاسمونیک بر مسیرهای مختلف تولید مواد موجود در اسانس گیاه آویشن لازم است. اما با توجه به ازمايش طرح شده در این پژوهش و با در نظر گرفتن این موضوع که بیشترین درصد مواد موجود در اسانس آویشن مربوط به دو ماده کارواکرول و تیمول است استفاده از غلظت ۲۰۰ میکرومولار این ماده باعث تحریک مسیر بیوستزی ترکیبات کارواکرول و تیمول و افزایش بازده اسانس در گیاه آویشن می‌شود.

سالیسیلیک اسید. مجله زیست شناسی ایران ۴:

.۶۹۱-۷۰۳

قاسمی پیر بلوطی، ع. (۱۳۸۸) گیاهان دارویی و معطر (شناخت و بررسی اثرات آنها)، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی.

قتانی، ف.، بختیاریان، س. و عبدالمالکی، پ. (۱۳۸۹) تأثیر متیل جاسمونات بر متابولیت‌های ثانویه گل همیشه بهار. علوم و فناوری زیستی مدرس ۱: ۲۱-۳۳.

مومنی، ت و شاهرخی، ن. (۱۳۷۰) انسان‌های گیاهی و اثرات درمانی آنها. انتشارات دانشگاه تهران.

Avanci, N. C., Luche, D. D., Goldman G. H. and Goldman M. H. S. (2010) Jasmonates are phytohormones with multiple functions, including plant defense and reproduction. *Genetics and Molecular Research* 1: 484- 505.

Creelman, R. A. and Mullet, J. E. (1997) Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates:

تأثیر غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات بر گیاه *Puerraria tuberosa* به این نتیجه رسیدند که تیمار ۴۰۰ میکرومولار این ترکیب بهترین تأثیر را بر افزایش تولید ایزو فلاونوئیدها در کشت سوسپانسیون داشت (Goyal and Ramawat, 2008). از طرفی قناتی و همکاران (۱۳۸۹) تأثیر غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات را بر تولید متابولیت‌های ثانویه گل همیشه بهار بررسی کردند و نتایج نشان داد که محتوی کل فلاونوئید ریشه در تیمار ۵۰ میکرومولار در مقایسه با نمونه شاهد افزایش معنی‌دار و در تیمار ۱۰۰ میکرومولار کاهش معنی‌دار را نشان داد، همچنین محتوی فنلهای متصل به دیواره ریشه در تیمارهای متیل جاسمونات افزایش و در اندام هوایی کاهش یافت. طبق نظر این محققین متیل جاسمونات قدرت تغییر مواد تولید شده در مسیر فنیل پروپانوئیدی را دارد (قناتی و همکاران، ۱۳۸۹). در این پژوهش با توجه به نتایج بدست آمده، بهترین تیمار غلظت ۲۰۰ میکرومولار جاسمونیک اسید می‌باشد، زیرا باعث افزایش تعداد بیشتری از متابولیت‌های ثانویه شد و به ویژه در این تیمارها ترکیبات فنلی اصلی

منابع:

- اکبری نیا، ا.، شریفی عاشور آبادی، ا. و میرزا، م. (۱۳۸۹) فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲: ۲۰۵-۲۱۴.
- امیدیگی، ر. (۱۳۷۴) کشت گیاهان دارویی و نکاتی مهم پیرامون آنها. مـاهنامه دارویی رازی. سال پنجم ۷: ۲۴-۳۹.
- امیدیگی، ر. (۱۳۸۴) تولید و فراوری گیاهان دارویی، جلد سوم، انتشارات آستان قدس رضوی.
- امیدیگی، ر. (۱۳۸۴) رهیافت‌های تولید و فراوری گیاهان دارویی. جلد اول. انتشارات طراحان نشر.
- شبانی، ل. و احسان پور، ع. ا. (۱۳۸۸) القاء آنزیم‌های آنتی اکسیدان، ترکیبات فنولیک، فلاونوئید در کشت درون شبیشه‌ای شیرین بیان با استفاده از متیل جاسمونات و

- Phythium ultimum*. Physiological, Molecular and Plant Pathology 55: 53- 58.
- Ozcan, M. and Chalchat, J. C. (2004) Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey, Bulgarian Journal of Plant Physiology 30:68-73
- Spollanesky, C., Pitta- Alvarez, S. and Giulietti, A. (2000) Effect of jasmonic acid and aluminium on production of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia candida*. Electronic Journal of Biotechnology 1:72-75
- Sudha, G. and Ravishankar, G. A. (2003) Influence of methyl jasmonate and salicylic acid in the enhancement of capsaicin production in cell suspension cultures of *Capsicum frutescens* Mill. Current Science.8:1212-1217.
- nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression. American Society of Plant Biology 9: 1211- 1223.
- Cheong, J. J. and Choi, Y. (2003) Methyl jasmonate is a vital substance in plants. Trends in Genetics 7:409-413
- Dababneh, B. F. (2007) Antimicrobial activity and genetic diversity of Thyme species on pathogenic microorganisms. Journal of Food, Agriculture and Environment 5:158-162
- Goyal, S. and Ramawat, K. G. (2008) Increased isoflavonoids accumulation in cell suspension cultures of *Pueraria tubeosa* by elicitors, Indian Journal of Biotechnology 7 :378- 382.
- Kozlowski, G., Buchala, A. and Metraux, J. P. (1999) Methyl jasmonate protects Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] seedlings against