بررسی کمیت و کیفیت اسانس برگ پنج‌انگشت (*Vitex pseudo-negundo*) در مراحل مختلف رشد آنتوژنیک

طاهره موحدحقیقی*[۱]، محمدجمال سحرخیز[۱]، احمدرضا خسروی[۲]، فاطمه رؤف فرد[۱]
[۱*] بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، شیراز
[۲] بخش زیست‌شناسی، دانشکده علوم، شیراز
*نویسنده مسئول: tmovahhed@gmail.com

چکیده

گیاهان دارویی و معطر دارای کاربردهای متعددی در زمینه‌های گوناگون می‌باشند. میزان و ترکیبات اسانس‌ها بسیار وابسته به عوامل خارجی و داخلی می‌باشد که مرحله برداشت آنتوژنیک نیز از آن جمله است. بنابراین دانستن زمان برداشت بهینه برای تولید اسانس با کمیت و کیفیت بالا ضروری می‌باشد. در پژوهش حاضر، تنوع در میزان و ترکیبات اسانس برگ گیاه پنج‌انگشت در دو مرحله مختلف آنتوژنیکی شامل قبل و هنگام گلدهی مورد بررسی قرار گرفت. اسانس نمونه‌های خشک شده به روش تقطیر با آب استخراج شد. عملکرد اسانس (وزنی-وزنی٪) به‌طور معنی‌داری در برگ‌های حین گلدهی (۰٪/۴۳) نسبت به برگ‌های قبل از گلدهی (۰٪/۲۵) افزایش یافت. ترکیبات اسانس به‌وسیله دستگاه‌های GC و GC-MS شناسایی گردید. ترکیبات عمده در این دو مرحله شامل آلفا-پینن (۲٪/۴-۲۵/۳۰)، لیمونن (۵٪/۹-۱۱/۱۲)، آلفا-ترپینیل‌استات (۵٪/۶-۲۲/۲۹) و ای-کریوفیلن (٪۱۱/۶-۷/۶) می‌باشد. تنها ترکیب آلفا-ترپینل استات در مرحله گلدهی بیشترین مقدار را داشت و سایر ترکیبات عمده اسانس در مرحله قبل از گلدهی بیشترین مقدار را دارا بودند.

کلمات کلیدی: **گیاهان معطر، مراحل برداشت، رشد فنولوژیکی، آلفا-پینن، لیمونن.**

مقدمه

تعیین زمان مناسب برداشت گیاهان دارویی و معطر یکی از فاکتورهای ضروری در طی فرآیند برداشت است تا حداکثر اسانس با بهترین کیفیت بدست آید (Said-Al Ahl *et al.*, 2015). وقتی از اندام‌های مورد نظر یک گیاه دارویی بیشترین مقدار ممکن مواد مؤثره استخراج گردد، در واقع محصول دلخواه به بهترین وجه بدست آمده است. مراحل مختلف رشد و نمو می‌تواند تأثیر زیادی بر روی میزان اسانس و ترکیبات شیمیایی آن بگذارد (Carvalho Filho et al., 2006; Vogel & Silva, 1999).

در پژوهشی بر روی میوه‌های رازیانه نشان داده شد که مقدار اسانس در مراحل مختلف بلوغ میوه متفاوت بوده است؛ بدین‌صورت که در مرحله خمیری ۱/۳۱٪، واکسی ۱/۱۸٪ و رسیدگی کامل ۱/۲۶٪ اسانس بدست آمد (Saharkhiz & Tarakeme, 2011).

در پژوهش حاضر مقایسه میزان و ترکیبات اسانس برگ گیاه پنج‌انگشت طی مراحل مختلف رشد آنتوژنیک مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر مرحله رشد آنتوژنیک بر کمیت و کیفیت اسانس برگ، برگ‌های تازه گیاه در اردیبهشت ۹۴ (قبل از گلدهی) و تیر ۹۴ (هنگام گلدهی) از منطقه ابرج استان فارس برداشت شدند. اسانس‌گیری از برگ خشک گیاه به روش تقطیر با آب صورت گرفت و راندمان آن به‌صورت وزنی-وزنی محاسبه شد (Saharkhiz *et al.*, 2010). ترکیبات

اسانس نیز با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) در مرکز تحقیقات کشاورزی بعثت شناسایی گردید. کلیه داده‌ها با نرم‌افزار SAS آنالیز شد و میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵٪ مقایسه شدند.

نتایج و بحث

به‌منظور بررسی اثر مرحله برداشت بر میزان اسانس، مقایسه میانگین مربوط به کمیت اسانس برگ جمع‌آوری‌شده در مرحله قبل از گلدهی و هنگام گلدهی انجام گردید. نتایج نشان داد که میزان اسانس در هنگام گلدهی به‌طور معنی‌داری بیشتر از میزان اسانس برگ در مرحله قبل از گلدهی می‌باشد (شکل ۱).

شکل ۱- میزان اسانس برگ گیاه پنج‌انگشت در دو مرحله برداشت
حروف غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۵٪ در آزمون LSD می‌باشد.

بررسی ترکیبات اسانس برگ گیاه پنج‌انگشت در دو مرحله رشد آنتوژنیک: ۵۰ ترکیب در اسانس برگ پنج انگشت در مرحله قبل از گلدهی شناسایی شده است که ۹۸/۴٪ کل اسانس را تشکیل می‌دهند. در اسانس برگ در مرحله گلدهی نیز ۵۴ ترکیب شناسایی شد که ۹۸/۹٪ کل اسانس را تشکیل می‌دهند. آلفا-پینن، آلفا-ترپینیل‌استات، لیمونن و ای-کریوفیلن به ترتیب از عمده‌ترین ترکیبات اسانس برگ در این مرحله بودند که مقادیر آن‌ها در جدول شماره ۱ آورده شده است. آلفا-پینن، لیمونن و ای-کریوفیلن از ترکیبات غالب در اسانس برگ پنج‌انگشت می‌باشند که مقدار آن‌ها در برگ مرحله قبل از گلدهی بیشتر بود. برخلاف سه ترکیب عمده قبلی، میزان آلفا-ترپینیل‌استات در اسانس برگ در هنگام گلدهی بیشتر بود.

جدول ۱- ترکیبات عمده شناسایی شده در اسانس برگ پنج‌انگشت در مرحله قبل از گلدهی و هنگام گلدهی

شماره	ترکیب	شاخص بازداری	برگ قبل از مرحله گلدهی	برگ در مرحله گلدهی
1	α-Pinene	936	30.2	25.4
2	Limonene	1029	12.5	11.9
3	α-Terpinyl acetate	1351	22.6	29.5
4	(E)-Caryophyllene	1420	11.6	7.6

دلیل میزان بالاتر اسانس در برگ‌های هنگام گلدهی را می‌توان چنین بیان کرد که در طول دوره گلدهی گیاهان مقادیر بیشتری اسانس تولید می‌کنند تا بتوانند گرده‌افشان‌های بیشتری را جذب کنند (Farhat *et al.*, 2016). در بسیاری از گیاهان تولید اسانس در اواخر مراحل گلدهی افزایش می‌یابد که در اسطوخودوس مشاهده شده است (Shelepova *et al.*, 2013). میزان پائین بیوسنتز ترکیبات فرار در طول دوره رویشی ممکن است به علت غیرفعال شدن بخشی از آنزیم‌های غیرضروری که مسئول بیوسنتز برخی ترکیبات هستند، باشد (Sellami *et al.*, 2009).

درصد نسبی ترکیبات مختلف اسانس علاوه بر مرحله رشدی، تحت تأثیر گیاهخواران، محیط و ژنوتیپ نیز قرار می‌گیرد؛ درنتیجه بر مسیرهای بیوسنتزی گیاه اثر می‌گذارند (Gardeli *et al.*, 2008). در گیاه علف لیمو بیشترین عملکرد اسانس در دوره بلوغ و پس از گلدهی کامل گزارش شده است که با نتایج بدست آمده بر روی گیاه پنجانگشت مطابقت دارد (Smitha & Rana, 2015). تفاوت در تراکم کرک‌های گیاه باعث وارد شدن سطوح مختلفی از تنش به گیاه می‌شود که بر میزان اسانس تولید شده مؤثر می‌باشد (Selmar & Kleinwächter, 2013). اثرات سینرژیک و آنتاگونیستیک بین ترکیبات مختلف نیز بر درصد ترکیبات اسانس در مراحل مختلف آنتوژنیک تأثیرگذار است (Boukhris *et al.*, 2015).

منابع

Boukhris, M., Hadrich, F., Chtourou, H., Dhouib, A., Bouaziz, M., & Sayadi, S. (2015). Chemical composition, biological activities and DNA damage protective effect of Pelargonium graveolens L'Hér. essential oils at different phenological stages. *Industrial Crops and Products, 74*, 600-606.

Carvalho Filho, J. L. S., Blank, A. F., Alves, P. B., Ehlert, P. A., Melo, A. S., Cavalcanti, S. C., Arrigoni-Blank, M. d. F., & Silva-Mann, R. (2006). Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (Ocimum basilicum L.) essential oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia, 16*(1), 24-30.

Farhat, M. B., Jordán, M. J., Chaouch-Hamada, R., Landoulsi, A., & Sotomayor, J. A. (2016). Phenophase effects on sage (Salvia officinalis L.) yield and composition of essential oil. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*.

Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., & Komaitis, M. (2008). Essential oil composition of Pistacia lentiscus L. and Myrtus communis L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry, 107*(3), 1120-1130.

Saharkhiz, M. J., & Tarakeme, A. (2011). Essential Oil Content and Composition of Fennel (Foeniculum vulgare L.) Fruits at Different Stages of Development. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 14*(5), 605-609.

Saharkhiz, M. J., Smaeili, S., & Merikhi, M. (2010). Essential oil analysis and phytotoxic activity of two ecotypes of Zataria multiflora Boiss. growing in Iran. *Natural product research, 24*(17), 1598-1609.

Said-Al Ahl, H. A., Sabra, A. S., El Gendy, A. N. G., Aziz, E. E., & Tkachenko, K. G. (2015). Changes in content and chemical composition of Dracocephalum moldavica L. essential oil at different harvest dates. *Journal of Medicinal Plants, 3*(2), 61-64.

Sellami, I. H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannes, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (Origanum majorana L.). *Industrial Crops and Products, 30*(3), 395-402.

Selmar, D., & Kleinwächter, M. (2013). Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. *Industrial Crops and Products, 42*, 558-566.

Shelepova, O., Kondrat'eva, V., Voronkova, T., & Olekhnovich, L. (2013). Correlation between the output and composition of essential oil and the level of salicylic acid in mint plants at different ontogenetic stages. *Biology Bulletin, 40*(3), 275-280.

Smitha, G., & Rana, V. S. (2015). Variations in essential oil yield, geraniol and geranyl acetate contents in palmarosa) Cymbopogon martinii, Roxb. Wats. var. motia) influenced by inflorescence development. *Industrial Crops and Products, 66*, 150-160.

Vogel, H., & Silva, M. (1999). Seasonal fluctuation of essential oil content in lemon verbena. *International Society horticultural science, 70*(6), 44-49.

Different Ontogenetic Stages Change the Leaf Essential Oil Content and Composition of *Vitex pseudo-negundo*

Tahereh Movahhed Haghighi[1]*, Mohammad Jamal Saharkhiz[1], Ahmad Reza Khosravi[2], Fatemeh Raouf Fard[1]

[1*] Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shiraz

[2] Department of Biology, Faculty of Science, Shiraz

Corresponding Author: tmovahhed@gmail.com

Abstract

Medicinal and aromatic plants have many useful applications in different aspects. The content and composition of essential oils are known to depend on extrinsic and intrinsic factors such as phenological growth stages. Knowledge of the optimal harvesting time is necessary for the production of high quantity and quality of essential oil. In the present study, the variations in the content and compositions of *Vitex-pseudo-negundo* leaf essential oil (EO) were examined at two different ontogenetic stages, i.e. before and during flowering. Fresh leaves of *Vitex pseudo-negundo* were harvested before and during flowering stage. The EOs of air-dried samples were extracted by hydrodistillation. The yield of EOs (w/w%) were significantly ($P < 0.05$) increased in the leaves at flowering stage (0.43%) compared to before flowering stage (0.25%). The EOs were analyzed by gas chromatography (GC) and GC–mass spectrometry (GC–MS). The main essential oil components in these two stages were α-pinene (25.4-30.2%), limonene (11.9-12.5%), α-terpinyl acetate (22.6-29.5%) and (E)-caryophyllene (7.6-11.6%). Moreover, α-terpinyl acetate had the most content at flowering stage (29.5%) while α-pinene, limonene and (E)-caryophyllene showed the most content before flowering stage (30.2, 12.5 and 11.6%), respectively.

Keywords: Aromatic Plants, Harvest Stages, Phenological growth, α-pinene, Limonene.