اثر مراحل مختلف رشدی بر محتوی فنل و فلاونوئید کل گیاه دارویی علف طلایی اروپایی (*Solidago virgaurea* L.)

سپیده پارسافر*، جواد هادیان، محمدحسین میرجلیلی، صمد نژادابراهیمی
پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
*نویسنده مسئول: sepideh.parsafar@gmail.com

چکیده

علف طلایی اروپایی (*Solidago virgaurea* L.) متعلق به تیره کاسنی است. در طب سنتی از این گیاه به دلیل اثرات ادرارآور، ضد درد، ضد قارچ، ضد اسپاسم و ضد التهاب استفاده می‌شود. به‌منظور بررسی اثر مراحل مختلف بلوغ (قبل از گلدهی، مرحله ظهور آغازه‌های گل، مرحله گلدهی کامل و مرحله پس از گلدهی) بر تغییرات فنل و فلاونوئید کل علف طلایی اروپایی آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار طراحی گردید. مقدار فنل کل بر اساس واکنشگر فولین سیکالتو و مقدار فلاونوئید کل بر اساس واکنشگر کلرید آلومینیوم در ۳ تکرار سنجش و مقایسه شد. نتایج نشان داد در بین مراحل مختلف رشدی، بیشترین فنل و فلاونوئید کل، در مرحله گلدهی کامل (به ترتیب ۲۸/۸۴ و ۷/۹۵ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) بود.

واژه‌های کلیدی: عصاره، مراحل بلوغ، فولین سیکالتو، کلرید آلومینیوم

مقدمه

گیاه دارویی علف طلایی اروپایی (*Solidago virgaurea* L.) بومی اروپا بوده و پراکنش این گیاه در ایران به بخش‌های شمالی (مازندران، گیلان و گلستان) محدود می‌شود (Mozaffarian, 2012). عصاره علف طلایی اروپایی مدر بوده و در پیشگیری و درمان سنگ کلیه و مثانه کاربرد دارد. این گیاه به غیر از اثر مثبت بر سیستم ادراری، دارای اثرات ضد درد، ضد قارچ، ضد اسپاسم و ضد التهاب است (Melzig, 2004). فعالیت دارویی این گیاه به ترکیبات فعال بیولوژیکی مربوط می‌شود که در میان آن‌ها می‌توان به فلاونوئیدها، پلی‌فنولیک اسیدها، ساپونین، تریترپنوئید و اسانس اشاره کرد (Tkachev *et al*., 2006).

با توجه به اینکه عوامل محیطی سبب تغییراتی در کمیت و کیفیت مواد مؤثره دارویی نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، ترپنویید و ... می‌گردد، باید از نظر دور نداشت که کشت محصول یک گیاه دارویی از نظر اقتصادی زمانی مقرون‌به‌صرفه می‌باشد که مقدار متابولیت‌های اولیه و ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد (Omidbeige, 2000). میزان مواد مؤثره در گیاه به‌هیچ‌وجه ثابت نبوده و متناسب با میزان رشد گیاه تغییر می‌نماید. تغییراتی که در میزان مواد مؤثره گیاه در طول سال و حتی ساعات یک روز به وجود می‌آید اهمیت جمع‌آوری گیاهان دارویی را در زمانی که گیاه دارای حداکثر میزان مواد مؤثره است نمایان می‌سازد (Samsam Shariat, 1992). برداشت گیاهان دارویی در زمان نامناسب نه‌تنها میزان محصول به‌دست‌آمده را کاهش می‌دهد، بلکه محصول برداشت شده نیز از کیفیت مطلوبی برخوردار نخواهد بود، زیرا عملکرد اندام مورد نظر و همچنین میزان متابولیت‌های ثانویه یک گیاه دارویی در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه متفاوت است (Omidbaigi, 2005).

ازآنجایی‌که مرحله بلوغ گیاه، نقش عمده‌ای در بیوسنتز مواد و متابولیت‌های ثانویه دارند، تحقیق حاضر به بررسی میزان ترکیبات فنل و فلاونوئید کل در مراحل مختلف رشد می‌پردازد تا مناسب‌ترین زمان برداشت علف طلایی اروپایی، با توجه به کاربرد آن مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر مراحل مختلف رشدی بر میزان فنل و فلاونوئید کل عصاره علف طلایی اروپایی آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار طراحی گردیده است. گیاه علف طلایی اروپایی رقم اصلاح شده فسا اف‌تایپ کشت شده در کلکسیون گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی برای این منظور مورد استفاده قرار گرفت. در چهار دوره فنولوژی مختلف شامل مرحله قبل از گلدهی، مرحله ظهور آغازه‌های گل، مرحله گلدهی کامل و مرحله پس از گلدهی از رقم اصلاح شده فسا اف‌تایپ در ۳ تکرار به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها در شرایط سایه خشک شدند. به‌منظور عصاره‌گیری و استخراج ترکیبات فنل و فلاونوئیدی ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه گیاهی ساییده و توزین گردید. سپس ۱۰ میلی‌لیتر متانول به ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک[1]مدل الماسونیک - دی ۷۸۲۲۴ سینجن اچ تی دبلیو[2] ساخت شرکت الما آلمان[3]در دمای اتاق قرار گرفت. این مرحله چهار بار تکرار شد تا حداکثر میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از ماده گیاهی جدا و در متانول حل شوند. پس از سونیکِیشِن[4] عصاره متانولی حاصل از چهار مرحله سونیک جمع‌آوری شد و در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار مدل R۵۷۰۲ ساخت شرکت اپندورف[5] به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. پس از سانتریفیوژ محلول بالایی به شیشه‌های تیره مخصوص عصاره منتقل شد و تا زمان آنالیز در یخچال نگهداری شد. برای سنجش محتوی فنل و فلاونوئید کل از دستگاه پاورویو اچ تی میکروپلیت اسپکتوفوتومتر[6]مدل ایکس اس ۲ ساخت شرکت بیوتک[7]آمریکا، و سیستم پردازش اطلاعات کامپیوتری با نرم‌افزار جن دیتا آنالایزز[8]مورد استفاده قرار گرفت. محتوی کلی ترکیبات فنولی در عصاره گیاه بر اساس واکنشگر فولین سیکالتو و محتوی کلی ترکیبات فلاونوئیدی بر اساس واکنش‌گر کلرید آلومینیوم به روش (Kamtekar *et al*., 2014; Salehi *et al*., 2013) تخمین زده شد. در نهایت پلیت توسط فویل آلومینیومی پوشانده شد و جذب محلول‌ها در طول موج ۷۶۰ nm برای فنل کل و ۵۱۰nm برای فلاونوئید کل توسط دستگاه قرائت‌گر الایزا خوانده شد. داده‌ها توسط نرم افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شدند و نمودارها با نرم افزار اِکسِل رسم شد.

نتایج و بحث

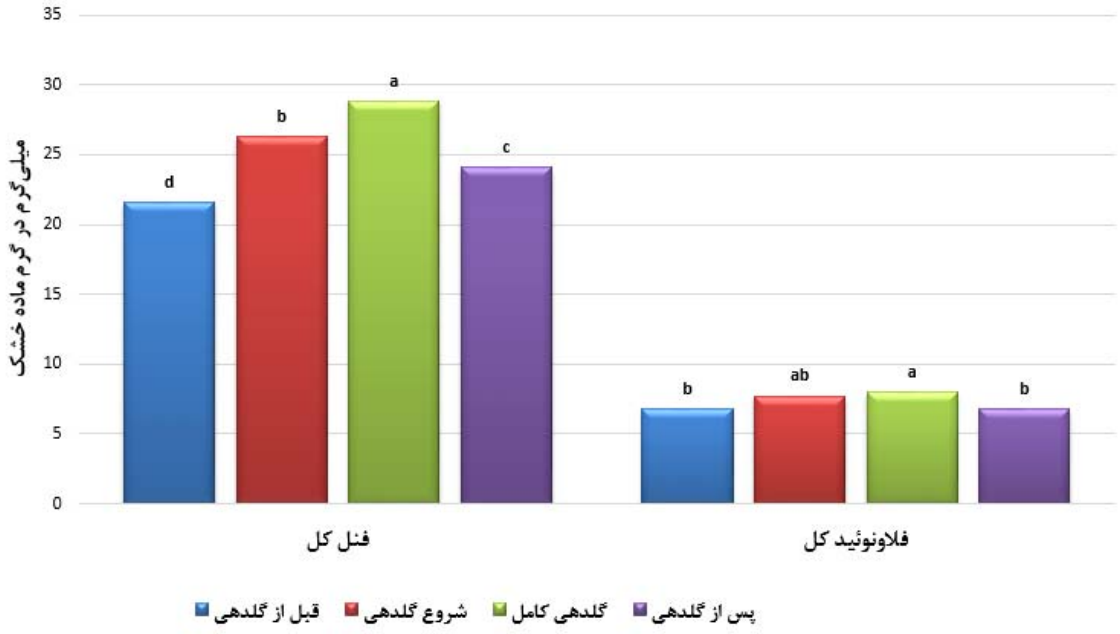
نتایج تجزیه واریانس، ترکیب فنل و فلاونوئید کل گیاه علف طلایی اروپایی در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به نتایج، مراحل مختلف رشد با اطمینان ۹۹ درصد بر محتوی فنل و فلاونوئید کل این گیاه اثر معنی‌دار داشت. نتایج مقایسه میانگین محتوی ترکیبات فنل و فلاونوئید کل در مراحل مختلف رشدی گیاه علف طلایی اروپایی در شکل ۱ آمده است. بیشترین محتوی فنل کل به ترتیب در مرحله گلدهی کامل (۲۸/۸۴ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک)، شروع گلدهی (۲۶/۲۹ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک)، پس از گلدهی (۲۴/۰۷ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) و قبل از گلدهی (۲۱/۵۵ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) مشاهده شد. بیشترین محتوی فلاونوئید کل به ترتیب در مراحل گلدهی کامل (۷/۹۵ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک)، شروع گلدهی (۷/۷۱ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک)، قبل از گلدهی (۶/۸۱ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) و پس از گلدهی (۶/۷۵ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) بوده است. در واقع مرحله گلدهی کامل زمان مناسب برداشت برای علف طلایی اروپایی می‌باشد.

[1] Ultrasonic
[2] Elmasonic- D 78224 SingenHtw
[3] Elma Germany
[4] Sonication
[5] Eppendorf
[6] Power Wave HT microplate Spectrophotometer
[7] BioTeks
[8] Gene data analysis

جدول ۱- تجزیه واریانس مقادیر فنول و فلاونوئید کل علف طلایی اروپایی در مراحل برداشت مختلف

		میانگین مربعات (MS)	
منابع تغییرات	درجه آزادی	فنل	فلاونوئید
تیمار	۳	۲۹/۰۰**	۱/۱۴۰**
خطا	۸	۰/۵۶	۰/۱۳
ضریب تغییرات٪	-	۲/۹۷	۵/۰۲

**: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد



شکل۱- محتوی فنل و فلاونوئید کل در مراحل رشدی مختلف گیاه علف طلایی اروپایی رقم اصلاح شده فسا اف‌تایپ

در پژوهشی که بر روی میزان فنل و فلاونوئید کل در مراحل مختلف رشد (شروع رشد رویشی، بعد از رشد رویشی، جوانه‌زدن، گلدهی کامل) گیاه مرزنجوش انجام گرفت، مشخص شد کمترین میزان فنل در مرحله شروع رشد رویشی (۲/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و بیشترین در مرحله بعد از رشد رویشی (۶/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) بود. در مرحله شروع رشد رویشی محتوی فنل بر فلاونوئید غالب بوده درحالیکه فلاونوئید در سایر مراحل بر میزان فنول غالب بوده است (Sellami *et al.*, 2009). ورما و کاسرا (Verma and Kasera, 2007) نشان دادند که بیشترین محتوی فنولیک اسید در گیاه *Boerhavia diffusa* و *Sida cordifolia* در مرحله گلدهی کامل مشاهده شد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. افزایش محتوی فنل و فلاونوئید در مرحله گلدهی کامل می‌تواند با نقش زیست محیطی مانند افزایش دفاع علیه قارچ، عوامل بیماری‌زا و جذب حشرات گرده‌افشان مرتبط باشد (Langenheim, 1994).

رسلون و همکارانش (Roslon *et al.*, 2014) محتوی فنل و فلاونوئید را در مراحل مختلف رشد (رویشی، شروع گلدهی و گلدهی کامل) گیاه علف طلایی اروپایی بررسی کردند. طبق نتایج آن‌ها بیشترین میزان فلاونوئید در مرحله رویشی و بیشترین میزان فنل در مرحله رویشی و گلدهی کامل مشاهده شد. نتایج آن‌ها از نظر فلاونوئید با نتایج این تحقیق مغایرت ولی از نظر فنل با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. مشاهدات این تحقیق و همچنین نتایج سایر محققین نشان می‌دهد که مراحل مختلف رشد می‌تواند تأثیر شگرفی بر میزان متابولیت‌های ثانویه داشته باشد. بنابراین این‌طور

استنباط می‌شود که مواد مؤثره گیاه هیچ‌گاه ثابت نیست و کاملاً وابسته به فاکتورهای محیطی، شرایط رویشگاهی، نوع اندام، تنوع ژنتیکی و فنولوژی گیاه است. بنابراین با توجه به نیاز صنایع دارویی باید مرحله رشدی و حداکثر بیوماس را تعیین و بر اساس آن برداشت نمود.

منابع

Langenheim, J.H. 1994. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. Journal of chemical ecology, 20(6):1223-1280.

Melzig, M. 2004. Echtes Goldrutenkraut – ein Klassiker in der urologischen Phytoterapie. Wien Med. Wochenschr, 154 (21–22): 523–527.

Mozaffarian, V. 2012. Identification of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. Farhang Moaser Publishers, 274-275. Tehran, Iran. (in Persian).

Omidbaigi, R. 2005. Production and processing of medicinal plants. Astan Godesa Razavei Publication, 1: 346.

Omidbeige, R. 2000. Approaches to the production and processing of medicinal plants, 2th Ed, Tehran, Press DesignersPublication, 286. (In Persian).

Roslon, W., Osinska, E., Mazur, K. and Geszprych, A. 2014. Chemical characteristics of European goldenrod (Solidago virgaurea L. subsp. virgaurea) from natural sites in Central and Eastern Poland. Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus, 13(1): 55-65.

Samsam Shariat, H. 1992. Extraction of plant materials and quantitative evaluation. Mani, Isfahan, Iran, 293. (In Persian).

Sellami, I.H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannes, W.A., Kchouk, M.E. and 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.

Tkachev, A.V., Korolyuk, E.A. and Letchamo, W. 2006. Volatile oil-bearing flora of Siberia VIII: Essential oil composition and antimicrobial activity of wild Solidago virgaurea L. from the Russian Altai. Journal of Essential Oil Research, 18(1):46-50.

Verma,V. and Kasera, P.K. 2007. Variations in secondary metabolites in some arid zone medicinal plants in relation to season and plant growth. Indian journal of plant physiology, 12(2): 203-206.

Effect of Growth Stage on the Total Phenolic and Flavonoid Contents of European Goldenrod (*Solidago virgaurea* L.)

Sepideh Parsafar*, Javad Hadian, Mohammad hossein Mirjalili, Samad Nejad ebrahimi
Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, G.C. Evin, Tehran, Iran
*Corresponding Author: sepideh.parsafar@gmail.com

Abstract

European Goldenrod (*Solidago virgaurea* L.) belonging to Asteraceae. In traditional medicine, this plant used because of a diuretic, analgesic, anti-fungal, antispasmodic and anti-inflammatory. In order to evaluate effect of various stages of maturity (Pre-flowering stage, beginning of flowering, full flowering stage and after flowering stage) on variations total phenol and flavonoid European Goldenrod, experimental design was completely randomized design with three replications. Total phenolic content by Folin Ciocalteus Reagent (FCR) and total flavonoid content based on aluminum chloride reagent at three repeated was measurement and comparison. The results showed that during the developmental stages, the highest amount of total phenolic and flavonoid was in full flowering stage (respectively 28.84 and 7.95 milligrams per gram of dry powder).

***Keywords*: Extract, stages of maturity, Folin Ciocalteus, aluminum chloride.**