تنوع اسانس بخش‌های هوایی افسنطین (*Artemisia absinthium* L.) یک‌ساله و دوساله در طول مرحله فنولوژیکی

سمیه علی میرزائی[۱]، منصور غلامی[۲*]، علی عزیزی[۳] و رمضان کلوندی[۴]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

[۲] استاد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

[۳] استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

[۴] عضو هیئت‌علمی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، همدان، ایران

*نویسنده مسئول: mgholami@basu.ac.ir

چکیده

در پژوهش حاضر تنوع کمی و کیفی اسانس افسنطین (*Artemisia absinthium* L.) در سن یک‌سالگی و دوسالگی در طول چرخه زندگی (رویشی، آغاز گلدهی و گلدهی کامل) بررسی شد. اسانس گیاه به روش تقطیر با آب از نمونه‌های هوا خشک شده به دست آمد. درصد اسانس (W/W%) در گیاهان یک‌ساله در مرحله رویشی (۰/۳۵٪)، در گیاه دوساله مرحله رویشی (۰/۳۹٪)، دوساله مرحله آغاز گلدهی (۰/۳۸٪)، دوساله مرحله گلدهی کامل (۰/۳۶٪) به دست آمد. آنالیز اسانس به‌وسیله دستگاه GC و GC/MS انجام شد. زد- بتا- اوسیمن اکساید، ترکیب اصلی اسانس بود که مقدار آن در گیاه یک‌ساله (۷۷/۸۶٪) ، دوساله در مرحله رویشی (۷۲/۱۵٪)، دوساله در مرحله آغاز گلدهی (۶۲/۸۸٪) و دوساله در مرحله گلدهی کامل (۳۷/۷۲٪) بود که در طول مرحله فنولوژیکی در گیاه دوساله مقدار آن کاهش یافت.

کلمات کلیدی: افسنطین، مراحل فنولوژیکی، زد- بتا- اوسیمن اکساید، GC، GC/MS

مقدمه

تیره کاسنی بزرگ‌ترین خانواده گیاهان گل‌دار در جهان می‌باشد که شامل بیش از ۱۶۰۰ جنس و ۲۳۰۰۰ گونه منحصر به فرد است. یکی از جنس‌های اسانس دار خانواده کاسنی، جنس آرتمیزیا[۱]می‌باشد (سلامی و همکاران، ۱۳۹۲). گونه‌های مختلف آرتمیزیا از نظر ترکیبات اسانس به دو گروه تقسیم می‌شوند، گروه اول حاوی اکالیپتول[۲]و کامفور[۳]و گروه دوم حاوی توجون می‌باشد (Mohamadi et al , 2014). از گونه‌های مهم جنس آرتمیزیا، افسنطین می‌باشد که بومی اروپا بوده ولی در آسیای مرکزی، آفریقا و قسمت‌های شرقی اروپا نیز رویش دارد. این گیاه در مناطق مختلف ایران می‌روید (حاجی مهدی پور و همکاران، ۱۳۸۷). این گیاه مدت طولانی است که به‌عنوان یک گیاه دارویی مرسوم در جهان به‌عنوان محرک قلب، بهبود دهنده حافظه و درمان کننده تب و لرز استفاده شده است (Mohamadian et al , 2016). اسانس بدست آمده از برگ‌ها و گل‌های خشک آن در ترکیب عطرها و در برخی داروهای مسکن استفاده می‌شود (Keshebo et al , 2016). اسانس آن همچنین دارای خاصیت ضد میکروبی، قارچ کشی، کنه کشی و حشره کشی است (Bailen et al, 2013). تولید اسانس و ترکیبات آروماتیک تحت کنترل مکانیسم‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، متابولیکی وابسته به سن و مراحل رشد گیاه می‌باشد (Sangwan et al, 2013). مرحله توسعه‌ای گیاه افسنطین نیز بر تجمع متابولیت‌های ثانویه در طول دوره رشد گیاه تأثیر گذار است (Numeth, 2005). پژوهشگران مختلف، ترکیبات متفاوتی را به‌عنوان ترکیب اصلی موجود در اسانس افسنطین معرفی کرده‌اند، به‌طوری‌که (Juteau et al, 2002)، گاما- ترپینن و ۱ فنیل ۲ و ۴ پنتادین و (Altunkaya et al, 2013) بتا-میرسن[۴]و

[1]. Artemisia
[2]. Eucalyptol
[3]. Camphor
[4]. β-Myrcene

کامفور را ترکیب اصلی اسانس افسنطین دانسته‌اند. درحالی‌که ترکیبات دیگری همچون ۱ و ۸- سینئول[5] بورنئول[6] و کامفور (Taherkhani et al, 2013)، کامازولن[7] (Msaada et al, 2015)، کامفور و کامازولن (Kordali et al, 2005)، توجون[8] و ترانس سابینیل استات[9] (Juduentiene and Mockute, 2004) و سیس- اپوکسی اوسیمن[10] و سیس کریسانتئول[11] (Julio et al, 2015) نیز به‌عنوان ترکیب اصلی اسانس گزارش‌شده‌اند. در این مطالعه ترکیبات اسانس گیاه یک‌ساله و دوساله افسنطین در مراحل مختلف رشدی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش از اسفندماه سال ۱۳۹۳ تا شهریور ۱۳۹۵ در گلخانه و آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشگاه بوعلی سینا و مزرعه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی استان همدان انجام گرفت. بذر افسنطین از باغ گیاهان دارویی بوعلی سینا، وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان تهیه شد و در اسفند ۹۳ در گلخانه پژوهشی گروه علوم باغبانی دانشگاه بوعلی سینا کشت شدند. پس از انجام عملیات آماده‌سازی زمین و دفع علف‌های هرز در سال ۹۳ و ۹۴ آبیاری و نگهداری از بوته‌ها به‌طور مرتب طی دو فصل متوالی (تا سال ۹۴) انجام شد. انتقال دانهال‌ها به گلدان در مرحله سه برگی انجام شد و پس از ۲ ماه گیاهچه ها برای سازگاری به خارج از محیط گلخانه منتقل شدند (شکل ۱). کشت گیاهان سازگار یافته در زمین اصلی، در اردیبهشت‌ماه انجام شد و در آن زمان ارتفاع گیاهان ۱۰ سانتی‌متر بود. نمونه‌برداری از گیاهان در سال اول به دلیل به گل نرفتن تنها در مرحله رویشی انجام گرفت (شکل ۲). در سال دوم در سه مرحله شامل رویشی، آغاز گلدهی و گلدهی کامل از گیاهان نمونه‌برداری صورت گرفت (شکل ۳). نمونه‌های گیاهی سریعاً برای خشک شدن به آزمایشگاه منتقل و در دمای اتاق خشک شدند. نمونه‌های خشک شده (۵۰ گرم) در هر مرحله برای سه ساعت با استفاده از کلونجر اسانس گیری شد. آبگیری اسانس استحصالی با استفاده از سدیم سولفات صورت گرفت و اسانس‌ها تا زمان تزریق به دستگاه در دمای ۴درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. رنگ اسانس در زمان اسانس گیری قهوه‌ای تیره بود که پس از چند ساعت به سبز تیره تغییر پیدا کرد. شناسایی کمی و کیفی ترکیبات موجود در اسانس به‌وسیله دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی انجام گرفت.

شکل ۱: گیاهچه‌های حاصل از کشت بذری افسنطین در گلخانه

5. 1,8- Cineole
6. Borneol
7. Chamazulene
8. Thujone
9. trans- sabinyl acetate
10. Cis- Epoxy- Ocimene
11. Cis- Chrysanthenol

شکل ۲: گیاهان یک‌ساله افسنطین کشت شده در مزرعه مرکز تحقیقات کشاورزی استان همدان

شکل ۳: گیاهان دوساله افسنطین کشت شده در مزرعه مرکز تحقیقات کشاورزی استان همدان

نتایج و بحث

درصد اسانس در مراحل مختلف شامل مرحله رویشی گیاه یک‌ساله (۰/۰۳۵٪)، رویشی گیاه دوساله (۰/۰۳۹٪)، آغاز گلدهی گیاه دوساله (۰/۰۳۸٪) و گلدهی کامل گیاه دوساله (۰/۰۳۶٪) بود. به نظر می‌رسد بالاترین میزان اسانس در مرحله رویشی گیاه دوساله وجود دارد که در طول مرحله فنولوژیکی مقدار آن کاهش می‌یابد. درصد برخی از ترکیبات شناسایی شده اسانس در جدول ۱ آورده شده است. در گیاه یک‌ساله در مجموع ۴۱ ترکیب شناسایی شد. در گیاه دوساله ۳۶، ۴۹ و ۲۵ ترکیب به ترتیب در مرحله رویشی، آغاز گلدهی و گلدهی کامل به دست آمد. ترکیبات اصلی شناسایی شده در گیاه یک‌ساله و مراحل مختلف گیاه دوساله زد- بتا- اوسیمن اکساید بود. بیشترین میزان این ترکیب در گیاه یک‌ساله (۷۷/۸۶٪) مشاهده شد. در گیاه دوساله میزان این ترکیب ۷۲/۱۵٪، ٪ ۶۲/۸۸ و ٪۳۷/۷۲ به ترتیب در مرحله رویشی، آغاز گلدهی و گلدهی کامل بود که در گیاه دوساله میزان زد- بتا اوسیمن اکساید در طول مرحله فنولوژیکی کاهش یافت. با توجه به نتایج به نظر می‌رسد که ترکیب اصلی افسنطین در طول دوره رشد گیاه، همچنین با افزایش سن تغییر می‌کند، ازآنجایی‌که ترکیب اصلی گزارش شده اسانس گیاه افسنطین در اغلب تحقیقات آلفا و بتا توجون می‌باشد، در تحقیق حاضر اسانس گیاه فاقد این دو ترکیب مضر بود. احتمالاً دلیل تفاوت ترکیب اصلی اسانس در پژوهش‌های مختلف به علت این است که تولید اسانس و ترکیبات آروماتیک تحت کنترل مکانیسم‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، متابولیکی وابسته به سن و مراحل رشد گیاه می‌باشد (Sangwan et al, 2013). همچنین تفاوت موجود در تیپ‌های شیمیایی اسانس ممکن است به علت اثرات مختلف ناحیه رشد، ژنوتیپ، اندام‌های گیاهی و عوامل گوناگون دیگر تحت تأثیر قرار گیرد. (Cirak et al, 2013) نیز به ارتباط بین محتوای شیمیایی با بخش‌های گیاه در مراحل رشد و توسعه در

طول چرخه فنولوژی اشاره کرده‌اند. همچنین (Numeth, 2005) بیان نمود که مرحله توسعه‌ای گیاه افسنطین بر تجمع متابولیت‌های ثانویه در طول دوره رشد گیاه تأثیرگذار است.

جدول ۱: برخی از ترکیبات اسانس افسنطین یک‌ساله و دوساله در طول مرحله فنولوژیکی

		نام ترکیب	اندیس کواتس	یک‌ساله رویشی (درصد)	دوساله رویشی (درصد)	دوساله آغاز گلدهی (درصد)	دوساله گلدهی کامل (درصد)
۱		Sabinene	۹۷۳/۵	۱/۶۴	۴/۸۵	۴/۴۳	۲/۳۰
۲		β-Myrcene	۹۹۰/۰	۱/۱۹	۲/۷	۱/۵۷	۱/۱۵
۳		ρ-Cymene	۱۰۲۴/۲	۰/۰۶	-	-	-
۴		γ-Terpinene	۱۰۵۸/۴	۰/۰۲	-	-	-
۵		Epoxymyrcene	۱۰۹۲/۷	۰/۵۰	-	-	-
۶		Myrtanal	۱۰۹۸/۲	۰/۱۶	-	-	-
۷		Linalool	۱۱۰۲/۰	۰/۱۵	۰/۷۴	۰/۱۶	۰/۸۱
۸		(Z)-β-Ocimene oxide	۱۱۳۷/۳	۷۷/۸۰	۷۲/۱۵	۶۲/۸۸	۳۷/۷۲
۹		(E)-β-Ocimene oxide	۱۱۴۳/۹	۲/۷۲	۳/۰۱	۳/۱۷	۱/۹۸
۱۰		Lavandulol	۱۱۷۰/۵	۰/۱۶	-	-	۰/۶۱
۱۱		Carvacrol	۱۳۰۷/۱	۰/۸۳	-	-	-
۱۲		Neryl acetate	۱۳۶۵/۵	۰/۰۲	۰/۴۷	۰/۳۶	-
۱۳	۱'	trans-Caryophyllene	۱۴۲۳/۸	۰/۴۴	-	-	-
۱۴		Neryl propanoate	۱۴۵۵/۳	۰/۰۴	-	۰/۳۲	-
۱۵		Germacrene D	۱۴۸۵/۲	۰/۱۰	-	-	-
۱۶		Neryl isovalerate	۱۵۸۵/۸	۰/۳۰	-	۱/۵۷	-
۱۷		Geranyl isovalerate	۱۶۱۰/۳	۰/۲۸	۰/۶۴	-	۵/۹۶
۱۸		Chamazulene	۱۷۳۷/۶	۰/۴۵	-	-	-
۱۹		Geranyl linalool	۲۰۳۸/۰	۰/۱۶	-	-	-
		سایر ترکیبات		۱۱/۲۸	۱۳/۰۱	۲۴/۳۴	۴۸/۹۷
		جمع کل		۹۸/۰۳	۹۷/۵۵	۹۶/۸	۹۹/۵

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان می‌دهد که از نظر نوع ترکیبات اصلی، اسانس گیاه یک‌ساله با اسانس مراحل مختلف گیاه دوساله تفاوتی ندارد، گرچه از نظر تعداد ترکیبات شناسایی شده تغییرات نسبتاً زیادی بین آن‌ها وجود دارد. همچنین نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد ترکیب اصلی گیاه زد- بتا- اوسیمن اکساید می‌باشد و دو ترکیب آلفا و بتا توجون در اسانس گیاهان یک‌ساله و دوساله مشاهده نشد. با توجه به عدم مشاهده ترکیبات آلفا و بتا توجون در اسانس پژوهش حاضر و غالبیت ترکیب زد- بتا- اوسیمن اکساید در گیاه یک‌ساله و دوساله و تحقیقات متعدد انجام شده بر روی این گیاه، به نظر می‌رسد که افسنطین یک تنوع درون‌گونه‌ای قابل توجهی در ترکیبات اسانس دارد که با منشأ گیاه در ارتباط می‌باشد. همچنین گزارشات زیادی نیز در ارتباط با تغییر محتوای اسانس با توجه به منطقه جغرافیایی وجود دارد و علاوه بر پتانسیل ژنتیکی عواملی چون شرایط رشد، مرحله توسعه، زمان برداشت و حتی شرایط نگهداری مانند نور، درجه حرارت و وضعیت رطوبت می‌تواند ترکیبات اسانس را تا حد زیادی تحت تأثیر قرار دهد. مطالعات نون و نمت (Nguyen and Nemeth, 2016) در جمع‌آوری نتایج تحقیقات مختلف نیز بر این مطلب تأکید دارد.

منابع

حاجی مهدی پور، هما، زاهدی، حمیرا، کلانتری خاندانی، نیلوفر، عابدی، زهرا، پیر علی همدانی، مرتضی و ادیب، نوشین (۱۳۸۷) " بررسی میزان مواد سمی آلفا و بتا توجون در بازار دارویی ایران" . فصلنامه گیاهان دارویی. (۲۶): ۴۵-۴۰.

سلامی، ا.، مهدوی، م.، اکبر زاده.، م. و قلیچ نیا، ح. ۱۳۹۲. بررسی ترکیبات اسانسی موجود در گیاه دارویی درمنه معطر (*Artemisia fragrans*) در سه طبقه ارتفاع در مراتع شرق هراز- استان مازندران. همایش ملی گیاهان دارویی. ۱۰۶ صفحه.

Altunkaya, A., Yıldırım, B., Ekici, K. and Terzioğlu, Ö. (2014) "Determining essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of water wormwood extract" . Gida, 39: 17- 24.

Bailen, M., Julio, L. F., Diaz, C. E., Sanz, J., Martínez-Díaz, R. A., Cabrera, R. and Gonzalez-Coloma, A. (2013) "Chemical composition and biological effects of essential oils from *Artemisia absinthium* L. cultivated under different environmental conditions" . Industrial Crops and Products, 49: 102-107.

Cirak, C., Radusiene, J., Camas, N., Caliskan, O. and Odabas, M. S. (2013) "Changes in the contents of main secondary metabolites in two Turkish Hypericum species during plant development" . Pharmaceutical biology, 51(3), 391- 399.

Judþentiene, A. and Mockute, D. (2004) "Chemical composition of essential oils of *Artemisia absinthium* L (wormwood) growing wild in Vilnius" . Chemija, 15(4), 64-68.

Julio, L. F., Burillo, J., Gimenez, C., Cabrera, R., Diaz, C. E., Sanz, J. and Gonzalez-Coloma, A. (2015) "Chemical and biocidal characterization of two cultivated *Artemisia absinthium* populations with different domestication levels" . Industrial Crops and Products, 76, 787- 792.

Juteau, F., Masotti, V., Bessiere, J.M. and Viano, J. (2002) "Compositional characteristics of essential oil of *Artemisia campestris* Var. glutinosa" . Biochemical Systematics and Ecology, 30: 1065-1070.

Keshebo, D. L., Washe, A. P. and Alemu, F. (2016) "Determination of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Extracts from Selected Medicinal Plants" American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS), 16(1), 212- 222.

Kordali, S., Cakir, A., Mavi, A., Kilic, H. and Yildirim, A. (2005) "Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish Artemisia species" . Journal of agricultural and food chemistry, 53(5), 1408-1416.

Mohammadi, A., Sani, T. A., Ameri, A. A., Imani, M., Golmakani, E. and Kamali, H. (2014) "Seasonal variation in the chemical composition, antioxidant activity, and total phenolic content of *Artemisia absinthium* essential oils". Pharmacognosy research, 7(4): 329- 334.

Mohammadian, A., Moradkhani, S., Ataei, S., Shayesteh, T. H., Sedaghat, M., Kheiripour, N. and Ranjbar, A. (2016) "Antioxidative and hepatoprotective effects of hydroalcoholic extract of *Artemisia absinthium* L. in rat" . Journal of HerbMed Pharmacology, 5(1), 29-32.

Msaada, K., Salem, N., Bachrouch, O., Bousselmi, S., Tammar, S., Alfaify, A. and Hammami, M. (2015) "Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) essential oils and phenolics" . Journal of Chemistry, ID 804658: 1- 12.

Németh, E. (2005) "Changes in Essential Oil Quantity and Quality Influenced by Ontogenetic Factors" . Acta Hortculturae, 159- 165.

Nguyen, H. T. and Nemeth, Z. E. (2016) "Sources of variability of wormwood (Artemisia absinthium L.) essential oil" . Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic, 3: 143- 150.

Sangwan, N. S., Farooqi, A. H. A., Shabih, F. and Sangwan, R. S. (2001) "Regulation of essential oil production in plants" . Plant growth regulation, 34(1), 3-21.

Taherkhani, M., Rustaiyan, A., Rasooli, I. and Taherkhani, T. (2013) "Chemical composition, antimicrobial activity, antioxidant and total phenolic content within the leaves essential oil of *Artemisia absinthium* L. growing wild in Iran" . African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 7(2), 30- 36.

Changes in the Essential Oils of One Years Old and Two Years Old *Artemisia Absinthium* L. Plants at Different Phenological Stages

Somayeh Alimirzaei[1], Mansour Gholami[1]*, Ali Azizi[1], Ramazan Kalvandi[2]
[1] Dept. of Holticulture., Faculty of Agric., Bu-Ali Sina Univ, Hamadan, Iran.
[2] Agriculture and Natural Resources Research and Education Center
* Corresponding Author: mgholami@basu.ac.ir.

Abstract

In this research, changes in the essential oils of *Artemisia absinthium* at phenological stages (vegetative, early flowering and full flowering) and at two ages (one years old and two years old) were studied. The essential oils were extracted from air dried plants by hydro distillation method. The essential oil of plants in vegetative stage of one years old plants and vegetative, early flowering and full flowering stage of two years old plants were 0.35%, 0.39%, 0.38% and 0.36%, respectively. The component identification was achieved by the GC and GC-MS analysis. Most essential oil of *Artemisia absinthium* was (Z)-ß-Ocimene oxide that the values of (Z)-ß-Ocimene oxide in vegetative stage of one years old plants and vegetative, early flowering and full flowering stage of two years old plants were 77.86%, 72.15%, 62.88% and 37.72%, respectively. Also the amount of (Z)-ß-Ocimene oxide at phenological stages of two years old decreased.

Key Words: *Artemisia absinthium* L., phenological stages, (Z)-ß-Ocimene, GC, GC-MS