دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی
سال دوازدهم، شماره چهل و دوم، ۱۳۹۹

تاثیر محلول پاشی عناصر غذایی آهن و روی بر ترکیبات فرار گیاه دارویی بادرنجبویه(*Melissa officinalis* L.)

اسفندیار حسنی مقدم[۱]، مظفر دولتشاه[۲]، مهدی شعبان[۳]، رضا یاراحمدی[۲]

دریافت: ۹۷/۹/۲۳ پذیرش: ۹۸/۶/۳۱

چکیده

این پژوهش با هدف اندازه‌گیری میزان ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس و بررسی تاثیر سطوح مختلف عناصر غذایی آهن و روی بر میزان اسانس و درصد ترکیبات اسانس گیاه بادرنجبویه در شرایط آب و هوایی خرم‌آباد انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در این مطالعه فاکتور **A** کود سولفات آهن (در سه سطح، ۲ در هزار، ۵ در هزار و شاهد (بدون کود)، و فاکتور B کود سولفات روی (در سه سطح، ۲ در هزار، ۵ در هزار و شاهد (بدون کود)) بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که ۲۸ ترکیب در روغن اسانس بادرنجبویه وجود دارد. این ترکیبات شامل ژرانیال (٦٦/٦٥)، ترانس کاریوفیلن (۸/٤١)، کاریوفیلن اکسید (٤/٩٩)، وربنول (۲/۱۷)، سیترونلول (۱/٦)، آلفا مورولول (۱/۵۲)، ژرماکرین د (۱/۳۸) و آلفا کادینول (۱/۳۳) با ۸۸/۰۵ درصدکه ترکیبات اصلی اسانس این گیاه را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش، ترکیب ژرانیال ٦٦/٦٥ درصد از کل ترکیبات اسانس را به خود اختصاص داد که بطور قابل ملاحظه‌ای نسبت به سایر ترکیبات بیشتر می‌باشد ولی ترکیب سیترونلول فقط ۱/٦ درصد از مواد فرار پیکره رویشی گیاه دارویی بادرنجبویه را تشکیل داد. همچنین نتایج نشان داد اثر تیمار محلول‌پاشی سولفات آهن بر صفات درصد اسانس و درصد کاریوفیلن اکسید معنی‌دار شد و اثر تیمار محلول‌پاشی سولفات روی فقط بر درصد کاریوفیلن اکسید معنی‌دار شد. میزان اسانس بین ۰/۲۲ تا ۰/٦۱ درصد در فاکتورهای مختلف متفاوت بود و محلول‌پاشی سولفات روی و سولفات آهن سبب افزایش درصد اسانس بادرنجبویه شد به طوری که بهترین تیمار جهت افزایش درصد اسانس، سولفات روی ۵ در هزار بود. درصد کاریوفیلن اکسین در اسانس بادرنجبویه با محلول‌پاشی سولفات روی و سولفات آهن افزایش یافت. در نهایت نتایج این پژوهش نشان داد که در اسانس گیاه بادرنجبویه ۲۸ ترکیب شناسایی شده که محلول‌پاشی سولفات روی و سولفات آهن سبب افزایش این ترکیبات با اثر بر افزایش درصد گیاه اسانس بادرنجبویه شد. بنابراین، به نظر می‌رسد برای افزایش استخراج اسانس و ترکیبات مفید موجود در آن به خصوص کاریوفیلن اکسید می‌توان از محلول‌پاشی سولفات روی و سولفات آهن بهره برد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، ژرانیال، سیترونلول، کروماتوگرافی

حسینی مقدم، ا.، م. دولتشاه، م. شعبان و ر. یاراحمدی. ۱۳۹۹. تاثیر محلول پاشی عناصر غذایی آهن و روی بر ترکیبات فرار گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.). مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ٤۲: ۱۳۰-۱۱٦.

۱- استادیار پژوهشی، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران- مسئول مکاتبات.
Es_hassani@yahoo.com
۲- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان، خرم آباد ، ایران
۳- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

مقدمه

بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) گیاهی معطر، پایا و علفی از خانواده نعناییان بوده و به عنوان یکی از گیاهان دارویی مهم بوده که به لحاظ ترکیب‌های موجود در اسانس آن، کشت این گیاه مورد توجه بسیاری قرار دارد. زمان گلدهی این گیاه از خرداد تا اوایل مرداد است و گل‌های فراوان و معطر آن مورد توجه زنبور عسل می‌باشد (قهرمان، ۱۳۸۰). یکی از مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه بادرنجبویه سیترونلول می‌باشد. ولی ترکیب متیل سیترونلات اسانس بادرنجبویه را از اسانس علف لیمو متمایز می‌سازد (دروژان واتلر ، ۲۰۰۲).

رویکرد جهانی استفاده از گیاهان دارویی و ترکیب‌های طبیعی در صنایع دارویی، آرایشی، بهداشتی و غذایی و بدنبال آن توجه مردم، مسئولین و صنایع داخلی به استفاده از گیاهان دارویی و معطر نیاز مبرم به تحقیقات پایه‌ای و کاربردی وسیعی را در این زمینه نمایان می‌سازد (محمدیان و همکاران، ۱۳۹۱). کاشت و فرآوری گیاهان دارویی از نظر اقتصادی زمانی مقرون به صرفه است که مقدار متابولیت‌های اولیه و ثانویهٔ آن به حد مطلوب رسیده باشد، بنابراین با انتخاب عوامل محیطی و تغذیه‌ای مناسب می‌توان در زمینه کشت و توسعه گیاهان دارویی مورد نظر اقداماتی انجام داد (محمد نژاد گنجی و همکاران، ۱۳۹٦). اسانس گیاهان دارویی در شرایط مختلف از نظر شیمیایی ناهمگن بوده و به صورت مخلوطی از ترکیبات مختلف مشاهده می‌شوند (امید بیگی ، ۱۳۸٤). اگرچه رشد و نمو و کمیت و کیفیت مواد موثره گیاهان داروی با هدایت فرآیندهای ژنتیکی صورت می‌گیرد ولی عوامل محیطی محل رویش، نقش عمده‌ای را در این زمینه دارند. این عوامل سبب بروز تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و همچنین کمیت و کیفیت مواد موثره آنها از قبیل اسانس‌ها و سایر مواد موثره گیاهان داروی می‌شوند (اسماعیلی و امیری، ۱۳۸۵). از آنجایی که اکوسیستم‌های زراعی نقش تعیین کننده‌ای در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه دارند بنابراین مطالعه تأثیر شرایط یک اکوسیستم بر تولید متابولیتی گیاهان اهمیت فراوانی دارد. عناصر غذایی نه تنها در افزایش محصول گیاهان داروی موثرند، بلکه کیفیت مواد موثره تولیدی را نیز تغییر خواهند داد (امید بیگی، ۱۳۸۳).

تقسیم‌بندی مواد موثره گیاهان دارویی به صورت چهار گروه اصلی آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، اسانس‌ها و روغن‌های فرار و سایر مواد (شامل ترکیباتی از قبیل مواد تلخ، فلاون‌ها، فلاونوئیدها، موسیلاژها، ویتامین‌ها، تانن‌ها اسید سالیسیلیک و ...) است. اسانس‌ها سومین گروه از مواد موثره موجود در گیاهان می‌باشند که از نظر ترکیبات شیمیایی همگن نیستند، بلکه به صورت ترکیبات مختلفی مشاهده می‌شوند، ولی به طورکلی از گروه شیمیایی موسوم به ترپنوئیدی‌هایند و یا منشاء ترپنی دارند (آدینه، ۱۳۸۱). اسانس‌ها معمولا در داخل سلول‌های گیاهی به شکل قطرات کروی و گلبول مانند جای گرفته‌اند. استخراج اسانس‌ها معمولا به شکل تقطیر با بخار آب انجام می‌شود. یکی از مهمترین مسایل گیاهان دارویی، مطالعه و تحقیق در مورد اسانس موجود در اندام‌های مختلف یک گیاه و مقایسه آنها از نظر کمیت و کیفیت با یکدیگر است (ویکری و ویکری ۱۹۸۱). میزان اسانس در گیاهان معطر تحت تاثیر فاکتورهای مختلفی از جمله ژنتیک گیاه، عمر برگ، تغذیه، زمان برداشت و ... قرار می‌گیرد (روفائل و همکاران، ۲۰۰۸). یکی از شاخص‌های تعیین کیفیت در اسانس شمعدانی معطر نسبت میزان سیترونلل به ژرانیال(C/G) **است** (ورما و همکاران، ۲۰۱۰). براساس وزن خشک گیاه سرشاخه‌های هوایی گیاه بادرنجبویه دارای ۰/۱-۰/۵ درصد اسانس روغنی می‌باشد. مهمترین اجزایی موجود در اسانس روغنی بادرنجبویه عبارتند از سیترونلال، نرال، ژرانیال، بتا کاریوفیلن اکساید، ژرماکرین د، لینالول، نرال و ژرانیال می‌باشد (اوانس و همکاران، ۲۰۰۲). عباس‌زاده و همکاران(۱۳۸۵) گزارش دادند مهمترین ترکیبات عمده اسانس بادرنجبویه بر حسب درصد شامل سیترونلال،ژرانیال، نرال، بتا کاریوفیلن، کاریوفیلن و متیل سیترونلات می‌باشد. در بررسی‌های مختلف که توسط دانشمندان و محققان صورت گرفته است در اسانس بادرنجبویه تا ٦٦ ترکیب مختلف شناسایی و گزارش شده است. اکثر محققان برای اسانس‌گیری از گیاه تر، از روش تقطیر با بخار آب و برای اسانس‌گیری از گیاه خشک، از روش تقطیر با آب استفاده کرده‌اند. بیش از۷۰ درصد اسانس برگ‌های بادرنجبویه شامل، سیترونلل، بتا-کاریوفیلین، نریل،سیترونلال، ژرانیول، استات اوژنول، اسیدهای فنولیک یک کربنه و فلاونوئیدها، لوتئولین۷-گلوکوزید و رامنازین می‌باشد (زرگری، ۱۳٦۹). عسگری و سفیدکن (۱۳۸۳) گیاه دارویی بادرنجبویه را در سه منطقه مختلف فارس، تهران و سمنان جمع‌آوری و اسانس آن را مورد مقایسه کمی و کیفی قرار دادند و گزارش دادند که بازده اسانس بادرنجبویه به ترتیب ۰/۱٤، ۰/۲۵ و ۰/۲٦ درصد در مناطق فارس، کرج و سمنان بود. همچنین تجزیه و شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس را توسط دستگاه GC-MS انجام دادند که در مجموع از نمونه‌های فارس، کرج و سمنان به ترتیب ۱۷، ۱۷ و ۱٤ ترکیب مختلف را شناسایی نمودند که ۱٤ ترکیب در اسانس سه نمونه با هم مشترک بودند. در این پژوهش

مهمترین ترکیبات شناسایی شده در اسانس نمونه فارس، شامل(سیترونلال ۲۵/٤٪، بتا کاریوفیلن ۱۱/۳٪، تیمول ۱۰/۵٪، کاریوفیلن اکساید ٦/۵٪)، در اسانس نمونه تهران، شامل (کارواکرول ۳۱/۸٪، هومولن اپکساید ۲۵/٤٪، آلفا هومولن ۱۰/۲٪ و سیترونلال ۹/۳٪) و در اسانس نمونه سمنان شامل (سیترونلال ٤۲/۸٪، بتا کاریوفیلن ۱۳/۵٪ تیمول ۷/۱٪ و ژرانیال ۵٪) بودند.

در تحقیقی که رمضانی و همکاران (۱۳۹٦) روی گیاه زنیان انجام دادند مشخص شد که محلول‌پاشی سولفات روی و سولفات آهن اثر مثبت بر درصد اسانس این گیاه داشته است. همچنین به عقیده خیری و همکاران (۱۳۹٦) محلول‌پاشی عناصر روی و آهن اثر مثبت بر برخی صفات گیاه دارویی گل گلوزبان باغی از جمله درصد روغن آن داشت.

عناصر غذایی با تاثیری که بر رشد رویشی و زایشی گیاهان دارند، باعث تغییراتی در عملکرد محصول می‌شوند و کمیت و کیفیت مواد موثره گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهند. توصیه استفاده از کود برای گیاهان دارویی باید با در نظر گرفتن موارد فوق صورت گیرد. بنابر تحقیقات انجام شده عوامل محیطی منطقه رویشگاهی گیاهان دارویی عمدتا تحت تاثیر این عوامل می باشد: ۱- تاثیر بر مقدار کلی ماده موثره گیاهان داروی، ۲- تاثیر بر عناصر تشکیل دهنده مواد موثره و ۳- تاثیر بر مقدار وزن خشک گیاه (امید بیگی، ۱۳۸۳). مدیریت تغذیه این عناصر می‌تواند بر تولید با کیفیت گیاهان دارویی و معطر مؤثر باشد (یادگاری و برزگر، ۱۳۸۹). عناصر غذایی کم مصرف برای رشد طبیعی گیاهان و حصول عملکرد و کیفیت مناسب محصول ضروری هستند و در واکنش‌های بیوشیمیایی گیاه دخالت دارند. به عنوان مثال عنصر آهن در تشکیل کلروفیل گیاهی ضروری است. عنصر روی نیز در تولید هورمون اکسین و فتوسنتز نقش بسزایی دارد (وارایچ و همکاران، ۲۰۱۱). کمبود آهن غالباً در خاکهایی با pH بالا و همچنین خاکهای آهکی نواحی خشک مشاهده می‌شود. زیادی بی کربنات در آب آبیاری و خاک ممکن است کمبود آهن را افزایش دهد. همچنین جذب آهن در خاکهایی که مواد آلی پایین دارند کاهش میابد. روی و منگنز قابلدسترس گیاهان نیز با افزایش pH خاک کاهش می یابد (هاوالین و همکاران، ۲۰۰۵). شریف‌آبادی و همکاران (۱۳۸۳) گزارش نمودند با مصرف عناصر مختلف درصد تعدادی از ترکیبات موجود در اسانس بادرنجبویه نسبت به شاهد کاهش یا افزایش یافت. پنج ترکیب عمده اسانس بادرنجبویه شامل سیترونلال، ژرانیال، نرال، بتا کاریوفیلین، کاریوفیلن اکسید و متیل سیترونلات می‌باشند. با بهبود تغذیه بادرنجبویه درصد ترکیبات ژرانیال و نرال افزایش یافت (عباس زاده و همکاران ۱۳۸۵).

مواد موثره گیاهان دارویی به صورت مخلوطی از چندین ماده شیمیایی مختلف بوده در حالی که ماده موثره هر گیاه یک یا چند تا از ترکیبات موجود در آنها می‌باشند به همین دلیل محققین همواره درصدد استخراج، جداسازی و شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان دارویی می‌باشند. با توجه به اینکه تاکنون تاثیر شرایط متفاوت و مقادیر مختلف کودهای آهن و روی بر روی میزان کمیت و کیفیت اسانس و مواد موثره گیاه بادرنجبویه بررسی نشده است. بنابراین مطالعه تاثیر شرایط اقلیمی شهرستان خرم‌آباد و مقادیر مختلف کودهای سولفات روی و سولفات آهن بر روی بادرنجبویه اجتناب ناپذیر است. شاید گامی هر چند کوچک در زمینه تحقیقات گیاهان دارویی و اهمیت دادن به این منابع ارزشمند داروی بومی کشور برداشته شود. لذا در این پژوهش، تاثیر سطوح مختلف کود آهن و روی بر عملکرد و کیفیت اسانس بادرنجبویه در شرایط آب و هوایی شهرستان خرم آباد انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش بر روی گیاه دارویی بادرنجبویه به صورت یک آزمایش مزرعه‌ای در سال ۱۳۹۱ در ایستگاه تحقیقاتی سراب چنگایی وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان انجام گرفت. این منطقه دارای آب و هوای مدیترانه‌ای و تابستان گرم و خشک و زمستان‌های نسبتا سرد می‌باشد. حداقل درجه حرارات سالانه در ماه‌های دی و بهمن ۱٤- درجه سانتی‌گراد و حداکثر درجه حرارات در ماه‌های تیر و مرداد ٤٤ درجه سانتی‌گراد گزارش شده است. ارتفاع از سطح دریا مزرعه، ۱۲۰۰ متر می-باشد. بر طبق نتایج آزمایش خاک، مزرعه دارای بافت لومی رسی بوده که پس از آنالیزهای شیمیایی خاک و مرتفع کردن عناصر غذایی ماکرو و میکرو مورد کشت قرار گرفت (جدول ۱). نشا-های بادرنجبویه از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهیه شدند. اقدام به کاشت خطی نشاءهای بادرنجبویه با فواصل بین ردیف ۲۵ و روی ردیف۵۰ سانتیمتر گردید. در نهایت شاخساره (اندام هوایی در مرحله شروع گلدهی) از مزرعه جمع-آوری گردید و پس از خشک کردن در دمای اتاق و در تاریکی مطلق جهت انجام آنالیزهای شیمیایی به آزمایشگاه تجزیه دستگاهی دانشگاه لرستان منتقل گردید.

جدول۱- نتایج آزمون خاک مورد استفاده برای کشت گیاه دارویی بادرنجبویه

عنوان	نتایج	عنوان	نتایج
درصد آهک	۲۶.۵	فسفر (پی	۲۱.٦
درصد رس	۳۷	پتاسیم	۸۱
درصد لای	۳۳	آهن	۳
درصد شن	۳۰	منگنز	۸/٦
بافت خاک	لوم رسی	روی	/۳۸
درصد کربن آلی	۱/٤	مس	/۲۲
درصد ازت کل	/۰۵۹	پی اچ	۷.۵۲

طرح آماری و آنالیز داده‌ها

آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به صورت فاکتوریل با دو فاکتور، فاکتور A کود سولفات آهن ($FeSo_4$ $2H_2o$) در سه سطح ۰، ۲ و ۵ کیلوگرم و فاکتور B کود سولفات روی($ZnSo_4$) در سه سطح ۰، ۲ و ۵ کیلوگرم در هکتار با سه تکرار اجرا شد. فاصله بلوک‌ها از هم دو متر، فاصله کرت‌ها در هر بلوک ۱ متر در نظر گرفته شد و ابعاد کرت‌ها نیز ۲ × ٤ متر بود. نشاها در تمام تیمارها در ردیف‌هایی به فاصل ۵۰ سانتی‌متر و به طور متراکم کشت گردید. پس از سبز شدن گیاهان در مرحله ۵ تا ٦ برگی عملیات تنک انجام و فاصله دو بوته در طول ردیف۲۰سانتی‌متر در نظر گرفته شد. عملیات زراعی شامل آبیاری، کوددهی، وجین علف‌های هرز، سله‌شکنی، مبارزه با آفات به طور یکنواخت در مورد تمامی تیمارها اعمال شد. مراحل سه‌گانه اعمال تیمارهای کود از ٤۵ روز بعد از کاشت شروع و هر ۱۵ روز یکبار تکرار گردید. پیکره رویشی (سرشاخه‌های گلدار) گیاه بادرنجبویه از ۲۰ سانتی‌متری بالای سطح خاک به منظور استخراج اسانس در مرحله گلدهی کامل قطع گردید و در دمای اتاق در سایه و در معرض جریان باد خشک شدند. در نهایت داده‌های حاصل از آماربرداری با کمک نرم‌افزار آماریMstat-C و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت. در این تجزیه و تحلیل از سطح معنی-داری$p=۰/۰۱$ استفاده شده است.

روش اسانس گیری

از سر شاخه‌های خشک شده ۸۰ گرم نمونه تهیه و پس از خرد کردن با استفاده از آسیاب خانگی، استخراج اسانس توسط دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با بخارآب انجام گرفت. بدین منظور نمونه گیاهی خشک شده را پس از آسیاب در بالن تقطیر ریخته روی آن، آنقدر آب اضافه گردید تا دو سوم حجم بالن اشغال شد. سپس بالن به دستگاه کلونجر متصل گردید و با حرارات دادن بالن بخار آب تولید شده همراه با اسانسی که از اندام‌های مختلف گیاهی تبخیر می‌شود از بالن خارج شده و در قسمت مبرد کلونجر سرد شده و تبدیل به مایع شدند و همراه با آب یک مخلوط دو فازی تشکیل می‌دهد که اغلب اسانس فاز بالایی را تشکیل می‌دهد و در پایان اسانس‌گیری، روغن اسانسی به رنگ زرد لیمویی کم رنگ و به صورت لایه‌ای مجزا روی آب تشکیل شد. جهت شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس استخراج شده از پیکر رویشی گیاه بادرنجبویه از دستگاه گاز کروماتوگرافی همراه با طیف سنج جرمی GC-Mass به شرح ذیل استفاده شد.

مشخصات دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی

برای شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، پس از استخراج اسانس از نمونه‌های گیاهی توسط دستگاه کلونجر، به دستگاه GC/MS تزریق شد. دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent 6890 با ستونی به طول ۳۰ سانتی‌متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه ، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲٤۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و سه دقیقه توقف در این دما. دمای اتاقک ترزیق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش

یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتیگراد بود (دایجل و کانکرتون، ۱۹۸۲).

تشخیص ترکیبات شیمیایی

هلیم ۹۹.۹۹۹٪ به عنوان گاز حامل استفاده شد که از شرکت رومان گاز خریداری گردید (تهران، ایران). مخلوط آلکان‌ها شامل آلکان‌های C8-C20 (غلظت ٤٠ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در هگزان) با آرت ٤٠٧٠بود که از شرکت فولکا خریداری شدند. سایر ترکیبات شیمیایی مورد استفاده با بالاترین خلوص از شرکت‌های مرک و یا فولکا تهیه شدند. در تمام آزمایشات از آب دو بار تقطیر استفاده شد.

مرحله‌ی شناسایی با MS

برای شناسایی طیف‌ها از نرم‌افزار Chemstation استفاده شد. شناسایی ترکیبات با استفاده از دو پارامتر زمان بازداری (t_R) و شاخص بازداری (RI) صورت گرفت. طیف‌های جرمی ترکیبات با اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه GC/MS توسط برنامه کامپیوتری با کتابخانهWiley 229 مقایسه شدند. همچنین با استفاده از تزریق مخلوط هیدروکربن‌های C8-C20 شاخص‌های بازداری (RIs)ترکیبات محاسبه و با مقادیر گزارش شده در متون استاندارد علمی (با ستونDB5) مورد مقایسه قرار گرفتند.

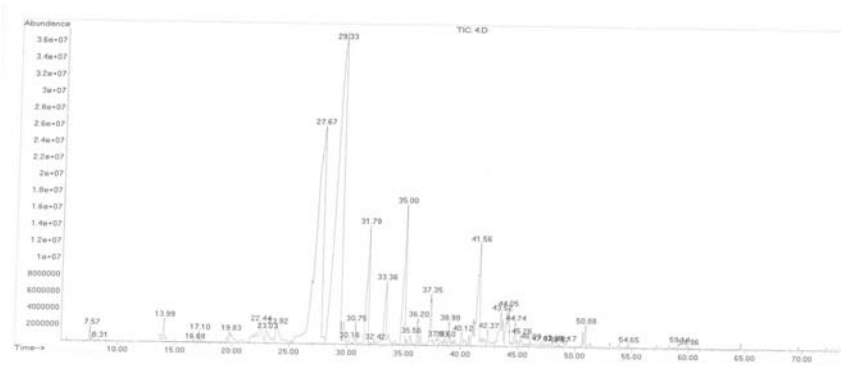
نتایج و بحث

ترکیبات تشکیل‌دهنده‌ی اسانس

برای شناسایی ترکیبات موجود در گیاه بادرنجبویه از تیمار شاهد (عدم استفاده از تیمارهای کودی سولفات آهن و سولفات روی) استفاده شد. همچنین کروماتوگرام ترکیبات تشکیل دهنده اسانس موجود در پیکره رویشی بادرنجبویه در سایر تیمارهای کودی رسم و از داده‌های حاصل از آنها برای آنالیز آماری و مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

نتایج حاصل ازآنالیز کروماتوگرافی گازی با استفاده از شاخص کواتس ترکیبات موجود در اسانس بادرنجبویه را مشخص نمود. در این آنالیز ۲۸ ترکیب شناسایی شدند که ۹۹/۲۱ درصد از کل ترکیبات اسانس بادرنجبویه را شامل بودند (جدول ۲). در این مطالعه ترکیبات عمده‌ی اسانس بادرنجبویه و درصد آنها عبارت بودند از : ژرانیال (٦٦/٦٥ درصد)، ترانس کاریوفیلن (۸/٤١ درصد)، کاریوفیلن اکسید (٤/۹۹ درصد)، وربنول (۲/۱۷ درصد)، سیترونلول (۱/٦ درصد)، آلفا مورولول (۱/۵۲ درصد)، ژرماکرین د (۱/۳۸ درصد) و آلفا کادینول (۱/۳۳ درصد) که حدود ۸۸/۰۵ درصد ترکیبات اصلی اسانس این گونه گیاهی را تشکیل داده و ۲۰ ترکیب باقیمانده فقط ۱۱/۱٦ درصد از کل ترکیبات اسانس را تشکیل دادند (جدول ۲).

مقدار ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس بر حسب درصد، ۵ ترکیب تشکیل دهنده اسانس بادرنجبویه از بقیه ترکیب‌ها بیشتر بودند. عوامل تغذیه‌ای و اقلیمی می‌تواند بر نوع و درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس موثر باشد و دلیل احتمالی در نتایج حاصل شده از این آزمایش باشد. در بررسی‌های مختلفی که توسط محققان صورت گرفته، در اسانس بادرنجبویه تا ٦٦ ترکیب اسانسی، ۳۷ مونوترپن و ۲۰ سسکویی ترپن شناسایی شده است (درسینگ، ۱۹۹۲). در لهستان برای اسانس گیری از روش بخار آب و برای تجزیه اسانس از GC/MS استفاده نموده و مشاهده کردند که میزان اسانس گیاه بین ۰/۰٦ تا ۰/۲۵ میلی لیتر در ۱۰۰ گرم بوده و بیشترین ترکیب اسانس را سیترونلال، ژرانیل، ژرانیل استات، لینالول، لینالیل استات و لیمونین تشکیل داده است (کلیمک و همکاران، ۱۹۹۸). شمس اردکانی و همکاران (۱۳۸۳) ۱۵ ترکیب شیمیایی مختلف که ۹۱ درصد از کل ترکیبات اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه بودند را به روش GC-MS استخراج و شناسایی نمودند که ترکیبات ژرانیال (۲۵ ٪)، بتا کاریوفیلن (۱۹٪)، نرال (۱۸/۲٤٪)، کاریوفیلن اکساید (۱٤٪)، ژرماکرین دی (۵/۵٤٪) و سیترونلال (۵/۰٤٪) قسمت عمده ترکیبات اسانس را به خود اختصاص دادند که از این نظر در برخی از ترکیبات با پژوهش حاضر مطابقت و همخوانی دارد ولی از نظر تعداد ترکیبات شناسایی شده نتایج این پژوهش با پژوهش شمس اردکانی و همکاران مغایرت دارد که در این پژوهش تعداد ۱۳ ترکیب بیشتر شناسایی گردید. در کوبا اسانس بادرنجبویه با استفاده از GC/MS تجزیه و مشاهده شد که ٤۱ درصد آن را ژرانیل و ۲۹ درصد اسانس را نرال تشکیل داده است (پینو و همکاران، ۱۹۹۹). روش تقطیر با بخار آب برای جداسازی و شناسایی اسانس‌های گیاهی دارای معایبی می‌باشد. دمای بالا باعث تبدیل و تغییر شیمیایی بیشتر ترکیبات اسانسی شده و اغلب از دست دادن مولکول‌های فرار زیادی می-گردد. وقتی که استخراج با حلال صورت می‌گیرد به دست آوردن محصول عاری از حلال غیر ممکن است و در این روش معمولا میزان ترکیبات غیرفرار کاهش می‌یابد ولی در مورد روش‌های جدید استخراج محصول عاری از حلال و با کیفیت بالا حاصل می‌شود.



شکل ۱- کروماتوگرام اسانس پیکره رویشی گیاه دارویی بادرنجبویه استخراج شده به روش HD

جدول ۲- ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه کاشته شده در خرم‌آباد در تیمار شاهد

ردیف	ترکیبات	شاخص کواتس	زمان بازداری	درصد
۱	هپتان -۲-وان	۹۸٦	۱۳/۹٦	۰/۷۸
۲	۱و۸ سینئول	۱۰۳۱	۱٦/۱	۰/۲۷
۳	بتا اوسیمن	۱۰۵۰	۱۷/۰۸	۰/۱۹
٤	لینالول	۱۰۹۷	۱۹/۷۹	۰/٦۳
٥	سیترونلول	۱۱٥۳	۲۲/٤۲	۱/٦
٦	وربنول	۱۱٦٥	۲۲/۹۹	۲/۱۷
۷	ژرانیال	۱۲٦۷	۲۷/٥۹	٦٦/٦٥
۸	متیل ژرانات	۱۳۲٥	۳۰/۷	۰/۳۸
۹	ژرانیل استات	۱۳۸۱	۳۰/۳٥	۳/۳
۱۰	ترانس کاریوفیلن	۱٤۱۹	۳٥/۰٥	۸/٤۱
۱۱	آرومادندرین	۱٤۱۹	۳٥/٥۷	۰/۱۲
۱۲	آلفا هومولن	۱٤٥٥	۳٦/۲	۰/۸۳
۱۳	ژرماکرین د	۱٤۸٥	۳۷/۳٥	۱/۳۸
۱٤	آلفا مورولن	۱٥۰۰	۳۷/۹۹	۰/۳٤
۱٥	گاماکادینن	۱٥۱٤	۳۸/٥۸	۰/۲۹
۱٦	دلتا کادینن	۱٥۲۳	۳۸/۹٦	۰/٥۳
۱۷	آلفا کادینن	۱٥۳۹	۳۹/٤۷	۰/۱٦
۱۸	کاریوفیلن اکسید	۱٥۸۳	٤۰/۰۷	٤/۹۹
۱۹	هومولن اپوکسید	۱٦۰۸	٤۲/۳۳	۰/٥۳
۲۰	آلفا مورولول	۱٦٤۲	٤۳/٦	۱/٥۲
۲۱	آلفا کادینول	۱٦٥٤	٤٤/۱٤	۱/۳۳
۲۲	کاریوفیلن	۱٦۷۰	٤٤/٦۹	۰/۸۹
۲۳	۲-زد٦-زد فارنیسال	۱۷۱۸	٤٦/۱	۰/۲۸
۲٤	۲ ای ٦ ای- فارنیسال	۱۷۲٥	٤۷/۰٦	۰/۱٦
۲٥	کادینن	۱۸۰٤	٤۹/۱۹	۰/۱۸
۲٦	۲- پنتا دکانون	۱۸٤۱	٥۰/٦۳	۰/۲٥
۲۷	۲-بنزینیدی کاربوکسیلیک اسید	۱۸٦۲	٥۱/۳٤	۰/۰۸
۲۸	هگزا دکانونئیک اسید	۱۹٦۰	٥٤/٥۹	۰/۱٦
	جمع کل			۹۸/٤

میزان و ترکیب موجود در اسانس گیاهان دارویی بسته به شرایط محیطی و کاربرد عناصر ریزمغذی و همچنین بر حسب مرحله رشدی گیاه با هم متفاوت می باشد. میزان اسانس گیاهان دارویی در مرحله گلدهی بیشتر از رویشی است ضمن آن که ترکیبات موجود در اسانس در زمان گلدهی نیز بیشتر می‌شوند (سفیدکن و عسگری، ۱۳۸۲). در این مطالعه نیز پس از شناسایی ترکیبات مختلف موجود در اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه اثر محلول‌پاشی روی و منگنز بر ترکیبات موجود در اسانس این گیاه دارویی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار محلول‌پاشی سولفات آهن بر صفات درصد اسانس و درصد کاریوفیلن اکسید معنی‌دار شد ولی بر سایر صفات اندازه‌گیری شده اثر معنی‌داری نداشت. همچنین نتایج نشان داد اثر تیمار محلول‌پاشی سولفات روی فقط بر درصد کاریوفیلن اکسید معنی‌دار شد ولی بر سایر صفات اثر معنی‌داری نداشت. اثر متقابل محلول‌پاشی سولفات روی و سولفات آهن بر هیچ کدام از صفات اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۳). با توجه به اینکه اثر تیمارهای کود بر عملکرد خشک شاخساره دارای اختلاف معنی‌داری نبود، لذا توصیه کود برای افزایش عملکرد پیکره رویشی گیاه بادرنجبویه پیشنهاد نمی‌شود.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی سولفات آهن و روی بر عملکرد ماده خشک و ترکیبات اسانس گیاه بادرنجبویه

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد خشک پیکره رویشی	درصد اسانس	سیترونلول	ژرانیال	کاریوفیلن اکسید	ترانس کاریوفیلن
سولفات آهن (a)	۲	۱٤/۲۷	۰/۰٤۲**	۰/۰۹۸	۸/۵۵	۲۰/٤**	٤/۳
سولفات روی (b)	۲	۹/۱٤	۰/۰۰۱	۰/۰۹۳	۱/۱٦٦	۳/۷*	٤/۰۵
a*b	٤	٦/۵۳	۰/۰۰۱	۰/۰۱۳	۲/۱٦۵	۱/۷	۲/۱۳
خطا	۱٦	۲٦/۹٤	۰/۰۰٦	۰/۰۵٤	۸/۸۲۵	۰/۹۱	٦/٦
ضریب تغییرات		۷/۸۸	۲٤	۱۵/۵	۱۲/۵	۱۲/۸	۳۲

*و** به ترتیب معنی‌دار در سطوح پنج و یک درصد

درصد اسانس

نتایج مقایسه میانگین داده نشان داد کاربرد کود سولفات روی با مقدار ۵ در هزار باعث افزایش میزان اسانس به مقدار ۰/٦۱ درصد شد (شکل ۲). کمترین مقدار اسانس مربوط به عدم کاربرد سولفات آهن و سولفات روی بود. بین تیمارهای کاربرد سولفات آهن ۲ در هزار و ۵ در هزار از نظر درصد اسانس اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ولی در این دو تیمار درصد اسانس به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود. افزایش اسانس گیاهان دارویی با کاربرد عناصر روی و آهن در مطالعات مختلف گزارش شده است. از جمله در مطالعه ای زهتاب سلماسی و همکاران (۲۰۰۸) عنوان داشتند که تیمار محلولپاشی با عناصر کم مصرف (آهن و روی) باعث افزایش معنی‌دار درصد اسانس بوته و برگ گیاه دارویی نعناع فلفلی شد. حیدری و همکاران (۲۰۰۸) نیز افزایش معنی دار درصد اسانس تحت محلول پاشی عناصر ریز مغذی در این گیاه دارویی را گزارش نمودند. در مطالعه ای دیگر سعید ال اهل و عمر (۲۰۰۹) گزارش نمودند که محلول پاشی روی و آهن سبب افزایش درصد اسانس در گیاه دارویی گشنیز شده است. گرجتووسکی و همکاران (۲۰۰٦) در مطالعه خود روی گیاه گل محمدی دریافتند که محلول پاشی آهن سبب افزایش درصد اسانس در گیاه دارویی گل محمدی می‌گردد. به هر حال شاید بتوان علت اصلی افزایش درصد اسانس در تیمار محلولپاشی نسبت به عدم مصرف آن را دسترسی آسانتر اندامهای هوایی گیاه به کود کم تحرک آهن و نقش آن در فتوسنتز و کمک به جذب سایر عناصر دانست. در این زمینه لایق حقیقی و همکاران (۱۳۹۵) در مطالعه خود روی گل محمدی به دلایل مشابهی در زمینه افزایش درصد اسانس اشاره نمودند. در این زمینه حدادی و همکاران (۱۳۹۵) در پژوهشی که روی گیاه دارویی بادرنجبویه انجام دادند به این نتیجه رسیدند که محلول‌پاشی برخی از عناصر ریزمغذی سبب افزایش درصد اسانس در این گیاه دارویی شده است. به هر حال نتایج این مطالعه نشان داد بهترین تیمار کودی جهت افزایش میزان اسانس کود سولفات روی ۵ در هزار می‌باشد. بر اساس نتایج به‌دست آمده از این پژوهش افزایش میزان کود مصرفی از یک حد خاصی، موجب کاهش بازده اسانس و عملکرد اسانس در این گیاه می‌شود. علت این امر احتمالا ناشی از تحریک تولید مواد اولیه در تیمارهای مربوط به مقادیر بالای مصرف کود در

خاک و تاثیر سوختگی برگها در اثر محلول‌پاشی باشد و این مسئله ممکن است بیان کننده محدودیت بادرنجبویه در استفاده از کود شیمیایی جهت افزایش درصد و عملکرد اسانس باشد. از آن جایی که عملکرد اسانس به درصد اسانس و عملکرد بیولوژیکی و به ویژه به میزان برگ تولید شده وابسته است بنابراین هر گونه کاهش در درصد اسانس و عملکرد بیولوژیکی منجر به کاهش عملکرد اسانس خواهد شد.اردکانی و همکاران (۱۳۸٦) تاثیر تنش خشکی را بر روی ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه دارویی بادرنجبویه در شرایط مزرعه را مورد بررسی قرار دادند و اعلام کردند که بیشترین درصد حجمی/ وزنی اسانس ۰/۳ درصد می‌باشد که در شرایط تنش متوسط (٦۰ درصد) استخراج گردید. در حالی که در پژوهش حاضر میزان اسانس گیاه بین ۰/۲۲ تا ۰/٦۱ درصد در تیمارهای کودی مختلف استخراج و اندازه گیری گردید. این در حالی بود که محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی به خصوص سولفات آهن ۲ در هزار و ۵ در هزار سبب افزایش درصد اسانس آن شد واز این نظر بین دو سطح تیمار سولفات آهن اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در یا زمینه حیدری (۱۳۸۵) بر روی گیاه نعناع فلفلی و نصیری و همکاران (۱۳۸۵) بر روی گیاه بابونه آلمانی افزایش درصد اسانس را با کاربرد سولفات آهن گزارش نمودند که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت داشت. به نظر میرسد با توجه به تأثیر عناصر آهن و روی در رشد و نمو گیاه، میتوان یکی از دلایل بیشتر شدن میزان اسانس را افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه و نقش این عنصر در فعالیت ساختمان کلروپلاست دانست که این افزایش می‌تواند منجر به تولید بیشتر غده‌های ترشح کننده اسانس در برگ شود (ایوانز، ۱۹۹٦). نصیری و همکاران (۲۰۱۰) بیان داشتند که نقش آهن به عنوان یک کاتالیزور در فرایند تنفس اثبات شده است، از این رو فراهمی آهن می‌تواند در تولید متابولیت‌های ثانویه مؤثر باشد که در این مطالعه سبب افزایش درصد اسانس در گیاه دارویی بادرنجبویه شده است.

شکل۲- مقایسه میانگین اثر کود سولفات روی بر روی میزان اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه

(FeSo4-0= عدم کاربرد سولفات آهن، FeSo4-2= سولفات آهن ۲ در هزار و FeSo4-5= سولفات آهن ۵ در هزار)

درصد سیترونلول

نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس نشان داد که میزان سیترونلول بین تیمارهای مختلف کود در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ولی با این حال مشخص شد که افزایش غلظت سولفات روی سبب کاهش درصد سیترونلول در اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه شد (جدول٤). ترکیب سیترونلول به فرمهای D, L در برخی از گیاهان گزارش شده است و یکی از مهمترین ترکیباتی است که در صنایع عطرسازی و آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد جزئ اساسی در ترکیب روغن رز است. ترکیب سیترونلول به علت بالا بودن قیمت آن مصرفش محدود می‌باشد. در این زمینه برخی از محققین از جمله لایق حقیقی و همکاران (۱۳۹۵) گزارش نمودند که درصد سیترونلول در گل محمدی با یکبار محلول پاشی عنصر آهن نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته که با نتایج این مطالعه مطابقت نداشت.

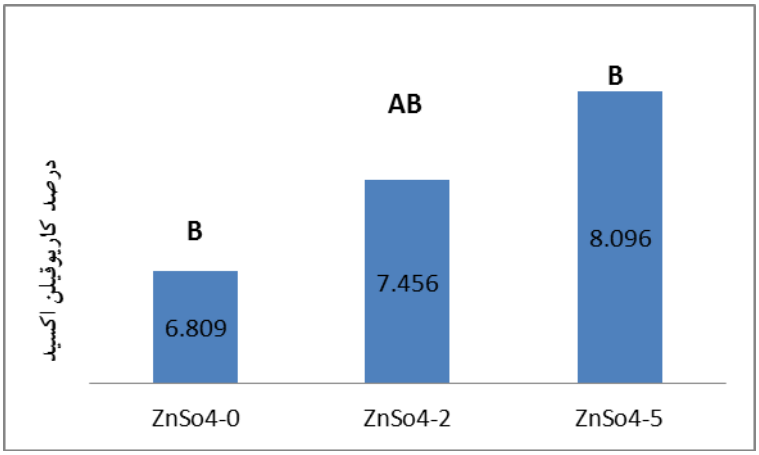
درصد ژرانیال

میزان ژرانیال بین تیمارهای مختلف کود در سطح یک درصد تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول٤). ژرانیال به طور طبیعی در بسیاری از اسانس‌ها وجود دارد و در برخی از موارد ماده اصلی اسانس می‌باشد این ترکیب در الکل و اتر محلول ولی در آب نامحلول است ژرانیال به حالت آزاد یا استری نیز یافت می‌شود. و در صنایع عطرسازی، آرایشی و بهداشتی و در صنعت صابون‌سازی مورد استفاده قرار می‌گیردد. در این زمینه سپهری و همکاران (۱۳۹٦) نیز گزارش نمودند که محلول‌پاشی سولفات روی و آهن اثری بر درصد ترکیباتی از اسانس گیاه کاسنی از جمله درصد کامفرول نداشت که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشت.

درصد کاریوفیلن اکسید

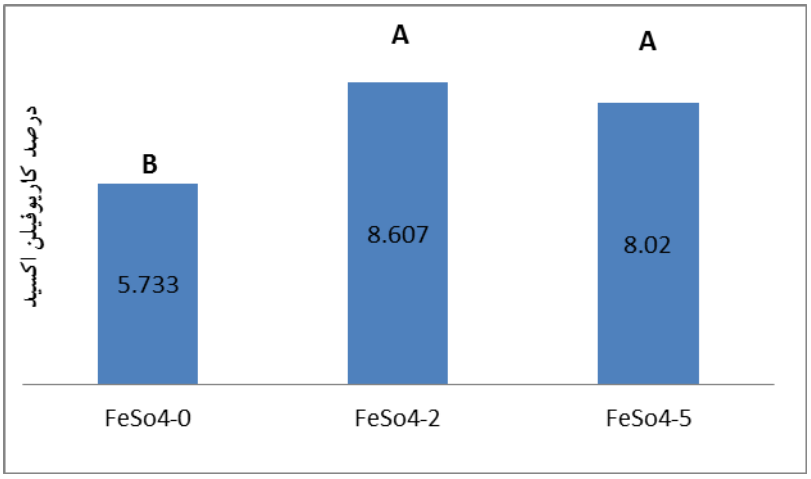
نتایج مقایسات میانگین داده‌ها نشان داد که بین تیمارهای مختلف سولفات روی تیمار ۵ در هزار دارای بالاترین درصد (۸/۰۹٦ درصد) کاریفیلن اکسید بود. این نتایج بیان می‌دارد که افزایش میزان کاریوفیلن اکسید با افزایش غلظت سولفات روی اتفاق افتاده است و با توجه به اینکه کمترین میزان کاریوفیلن اکسید در تیمار شاهد (٦/۸ درصد) رخ داده است شاهد افزایش خطی درصد کاریوفیلن اکسید با افزایش غلظت کاربرد سولفات روی می‌باشیم (شکل ۳). عنصر روی از طریق اثرگذاری بر انتقال عناصر ضروری مانند آهن و منیزیم به کلروپلاست، در عملکرد این عناصر در گیاه مؤثر بوده (زارع و همکاران، ۱۳۸٦) و یکی از دلایل اصلی افزایش درصد کاریوفیلن اکسید در ترکیبات اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه می‌باشد. اثر کود سولفات آهن بر روی میزان کاریوفیلن اکسید در شکل شماره (٤) نشان داده شده است. در تیمار کاربرد کود سولفات آهن ۲ در هزار میزان کاریوفیلن اکسید بیشترین مقدار (۸/٦ درصد) را دارا بود در حالی که کمترین میزان کاریوفیلن اکسید در تیمار شاهد (۵/۷۳ درصد) حاصل شد. همچنین پس از تیمار سولفات آهن ۲ در هزار تیمار میزان کاریوفیلن اکسید در تیمار کاربرد ۸/۰۲ درصد بود که نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشت ولی اختلاف بین تیمارهای کاربرد سولفات روی ۲ و ۵ در هزار از این نظر معنی‌دار نبود. گیاهان دارویی برای رشد و تولید مواد مؤثره به مقادیر مناسبی از ریزمغذّیها نیاز دارند بنابراین با کاربرد ریزمغذّیها به روش محلولپاشی می‌توان وضعیت رشد گیاه را بهبود و درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاهان دارویی را افزایش داد (ایوانز، ۱۹۹٦). در مطالعه‌ای که یادگاری و قربانی (۱۳۹۱) روی گیاه آویشن باغی انجام دادند به این نتیجه رسیدند که محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی آهن و روی سبب افزایش برخی ترکیبات موجود در اسانس این گیاه از جمله ترکیبات تیمول و کارواکرول گردید. همچنین نتایج مشابهی توسط امیدبیگی و ارجمندی (۲۰۰۲) گزارش شده است. غلظت عناصر میکرو و فلزات سنگین در خاک، یکی از معیارهای اساسی در تولید ترکیبات دارویی موجود در گیاهان تازه کشت شده است. این مورد، نشان‌دهنده این حقیقت است که، مقدار جذب و ورود آنها متناسب با غلظت بوده و در بیوسنتز ترکیبات دارویی تأثیر زیادی دارند (ولچ و همکاران، ۱۹۹۹). روی در سنتز تریپتوفان که پیش مادهٔ اکسین (ایندول استیک اسید) است، دخالت داشته و تأمین این عنصر غذایی میتواند موجب توازن عناصر غذایی در گیاه و در نهایت افزایش عملکرد کمی و کیفی محصول شود (کرمی چمه و همکاران، ۲۰۱۳). از مطالعات مختلف چنین استنباط می‌شود که بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه نه تنها توسط ژنتیک گیاه کنترل میشود، بلکه به شدت تحت تأثیر تغییرات محیط رشد نیز قرار دارد (میرانصاری و همکاران، ۱۳۹٤). همچنین گزارش شده است که روی به عنوان اجزای فلزی آنزیم‌های مختلف عمل می‌کند و یا به عنوان یک کوفاکتور عملکردی، ساختاری و تنظیمی در ارتباط با متابولیسم ساکارید، فتوسنتز و ساخت پروتئین نقش دارد (یاسین و همکاران، ۲۰۱۰). عنصر روی در فتوسنتز و متابولیسم ساکاریدها نقش دارد و از آنجایی که CO_2 و گلوکز از منابع احتمالی کربن مورد استفاده در بیوسنتز ترپن‌ها هستند، بنابراین نقش روی در ساخت و تجمع اسانس و ترکیبات موجود دراسانس بسیار مهم و مؤثر به نظر می‌رسد و از این طریق محلول‌پاشی روی سبب افزایش درصد کاریوفیلن اکسید در گیاه بادرنجبویه شده است. از طرف دیگر رابطه نزدیکی بین فتوسنتز و تنفس نوری و ساخت ترپنوئیدها در برخی گیاهان وجود دارد که به نقش عنصر آهن در افزایش فتوسنتز و در نتیجه افزایش ترکیبات اسانس مانند کاریوفیلن اکسید اشاره نمود. در پژوهشی که بر زردچوبه صورت گرفت محققین اعلام کردند که یک ارتباط قوی بین مسیر متابولیسم اولیه و بیوسنتز متابولیسم ثانویه وجود دارد. همچنین آنها اظهار داشتند که همبستگی مناسب آسیمیلاسیون کربن و تجمع ترکیبات متابولیتهای ثانویه به چندین عامل درونی و بیرونی به ویژه سطوح بهینه عناصر ریزمغذی وابسته است (سریواستاوا و همکاران، ۱۹۹۷). درصد کاریوفیلن اکسید در تیمار محلول پاشی سولفات آهن ۵ در هزار کمتر از تیمار سولفات آهن ۲ در هزار بود. این امر ممکن است

که به دلیل اثرات سمیت عنصر آهن بر تولید این ترکیب باشد هر چند که با تیمار کاربرد سولفات آهن ۲ در هزار اختلاف معنی‌داری نداشت که البته ممکن است در صورت کاربرد مقادیر بیشتر سولفات آهن درصد کاریوفیلن اکسید به طور معنی‌داری کاهش یابد. در شرایط سمیت آهن (مقادیر بالا) عدم خنثی شدن رادیکال‌های اکسیژن و باقیماندن پراکسید هیدروژن در گیاه منجر به واکنش فنتون و هابر وایس میشود که در ازای آن رادیکال خطرناک هیدروکسیل تولید می‌شود که می‌تواند به صورت پی در پی انواع ماکرومولکول‌های زیستی از جمله لیپیدها و پروتئین را ناپایدار کند و به دنبال آن میزان تولید ترکیباتی مانند کاریوفیلن اکسید کاهش یابد. نتیجه تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت آهن در گیاهان کاهش میزان پروتئین‌ها، قندهای محلول، کلروفیل و صدمات برگشت ناپذیر به غشای زیستی و اسیدهای نوکلئیک است که توسط بسیاری از محققین گزارش شده است (کو و کائو، ۲۰۰٤ و کیانی و همکاران، ۲۰۱٤).



شکل۳- مقایسه میانگین اثر کود سولفات روی بر روی میزان ترکیب کاریوفیلن اکسیدگیاه دارویی بادرنجبویه

(ZnSo4-0= عدم کاربرد سولفات روی، ZnSo4-2= سولفات روی ۲ در هزار و ZnSo4-5= سولفات روی ۵ در هزار)



شکل ٤- مقایسه میانگین اثر کود سولفات آهن بر روی میزان ترکیب کاریوفیلن اکسیدگیاه دارویی بادرنجبویه

(FeSo4-0= عدم کاربرد سولفات آهن، FeSo4-2= سولفات آهن ۲ در هزار و FeSo4-5= سولفات آهن ۵ در هزار)

ترانس کاریوفیلن

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس بین تیمارهای مختلف کود در سطح یک درصد تفاوت معنی‌داری از نظر میزان ترکیب ترانس کاریوفیلن وجود ندارد (جدول٤). کاریوفیلن از ترکیبات اصلی بادرنجبویه با فرمول یک سزکویی ترپن دو حلقه‌ای است و سه ایزومر آلفا، بتا و گاما دارد. کاریوفیلن بویی مانند ادویه دارد و به عنوان طعم‌دهنده در ادویه، صمغ و آدامس به‌کار می رود و به طور تجاری به‌صورت مایع با رنگ زرد روشن مورد

استفاده قرار می‌گیرد. کاریوفیلن از تعداد زیادی گیاه به دست می‌آید ولی منبع اصلی آن گیاه میخک است که در قسمت‌های مختلف برگ، ساقه و جوانه آن وجود دارد. در این زمینه میر انصاری و همکاران (۱۳۹٤) عنوان داشتند که محلول‌پاشی سولفات روی و سولفات آهن سبب کاهش درصد برخی از ترکیبات گیاه شوید از جمله آلفا فلاندرن شده ولی با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشت.

جدول٤- مقایسه میانگین ساده اثر غلظت‌های مختلف سولفات روی و سولفات آهن بر برخی ترکیبات گیاه دارویی بادرنجبویه

تیمارها	درصد سیترونلول	درصد ژرانیال	درصد ترانس کاریوفیلن
سولفات روی			
۰	a۱/٦	a٦٦/٦٥	a۸/٤۱
۲ در هزار	a۱/٤٦	a٦٦/۹۸	a۸/۸
۵ در هزار	a۱/٤	a٦۸/٥٤	a۸/٤۱
سولفات آهن			
۰	a۱/٦	a٦۰/۸۲	a۱۰/٥۹
۲ در هزار	a۱/۲۷	a٦۰/۷٥	a۹
۵ در هزار	a۱/۱۹	a٦۳/٦٦	a۱۰/۷۷

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش، ماده موثره سیترونلول با ۱/٦ درصد، مقدار کمی از مواد فرار پیکره رویشی گیاه دارویی بادرنجبویه را تشکیل داده است. ولی میزان ماده موثره ژرانیال با ٦٦/٦٥ درصد از کل ترکیبات اسانس را به خود اختصاص داده است که به نحو بارزی زیاد می باشند. علاوه بر ژرانیال (٦٦/٦٥)، ترکیبات ترانس کاریوفیلن (۸/٤۱)، کاریوفیلن اکسید (٤/۹۹)، وربنول (۲/۱۷)، سیترونلول (۱/٦)، جزء ترکیبات اصلی گیاه دارویی بادرنجبویه می‌باشند که خواص ضد قارچی، ضد باکتریایی، ضد ویروسی، خواص آنتی اکسیدانتی و در نهایت اثرات درمانی این گیاه را بطور کامل تایید می‌کند. به نظر می‌رسد با توجه به اینکه شرایط اکولوژیک منطقه می‌تواند بر کمیت و کیفیت گیاهان دارویی تاثیر گذار باشد، وجود برخی از تفاوت-های موجود در نتایج این پژوهش با سایر پژوهش‌های صورت گرفته از قبیل کاهش میزان ماده موثر سیترونلول و افزایش درصد ماده موثره ژرانیل در پژوهش‌های قبلی را می توان ناشی از تغییرات اکولوژیک نظیر اقلیم و خاک منطقه کاشت دانست. با توجه به بالا بودن میزان ترکیب ژرانیال در گیاه بادرنجبویه کاشته شده در شرایط آب و هوایی خرم آباد می‌توان به منظور بهرمندی از این ترکیب مفید اقدام به کاشت گیاه بادرنجبویه در شرایط آب و هوایی و خاکی مشابه نمود. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد محلول‌پاشی سولفات روی و سولفات آهن سبب شد که درصد اسانس و درصد برخی از ترکیبات موجود در اسانس بادرنجبویه به خصوص درصد کاریوفیلن اکسید افزایش یابد. با توجه به این نتایج می‌توان شرایط آب و هوایی شهرستان خرم‌آباد را به عنوان یکی از مناسب‌ترین مناطق جهت کشت و بهربرداری از گیاه بادرنجبویه به منظور استخراج و دستیابی به ترکیباتی مانند ژرانیال معرفی نمود. از طرفی برای افزایش درصد اسانس و در نتیجه افزایش استخراج ترکیبات موثر از این گیاه می‌توان از محلول‌پاشی سولفات آهن و سولفات روی بهره جست.

تشکر و قدرانی

بدینوسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی لرستان و مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی این دانشگاه به دلیل تامین هزینه‌های مالی مورد نیاز طرح تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

اردکانی، م.ر.، ب. عباس‌زاده، ا. شریفی عاشورآبادی، م. ح. لباسچی و ف. پاک‌نژاد. ۱۳۸٦. بررسی اثر کمبود آب بر کمیت و کیفیت گیاه دارویی بادرنجبویه. فصلنامه علمی و پژوهشی گیاهان دارویی. جلد ۲۳، شماره ۲: ۲٦۱-۲۵۱.

اسماعیلی، ا. و ح. امیری. ۱۳۸۵. بررسی تغییرات کمی وکیفی اسانس گیاه آوندول (*Smyrnium corditoliom*) در پنج منطقه رویشی استان لرستان. فصلنامه گیاهان دارویی. جلد ۵، شماره ۲۰: ٤۱- ۳٦.

امید بیگی، ر. ۱۳۸٤. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد ۳. انتشارات آستان قدس رضوی. ٤۰۰ ص.
امیدبیگی، ر. ۱۳۸۳. تولید و فراوری گیاهان دارویی. جلد ۳. انتشارات آستان قدس رضوی.
آدینه، ج. ۱۳۸۱. مطالعه کشت بافت و تغیرات کمی وکیفی مواد موثره سیترونلول و ژرانیول در اسانس گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) درشرایط Invitro و Invivo در منطقه همدان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه بوعلی-سینا.
حدادی، ه.، پ. مرادی و ا. مطلبی. ۱۳۹۵. تأثیر محلولپاشی متانول و سولفات منگنز بر میزان و اجزای اسانس بادرنجبویه. فصلنامه گیاهان دارویی. جلد ۱۵، شماره ۲: ۸۸-۸۰.
حیدری ف. ۱۳۸۵. تاثیر عناصر ریز مغذی و تراکم بوته بر فنولوژی، عملکرد و اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی. پایان نامه کارشناسی ارشد، رشته زراعت. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ۹۲ صفحه.
خیری، ع.، م. ویسی و م. ثانی خانی. ۱۳۹٦. تأثیر عناصر ریزمغذی آهن، روی و منگنز بر برخی خصوصیات گیاه دارویی گلگاوزبان باغی. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. جلد ۹، شماره ۲۹: ۱۸۳-۱۹٤.
رمضانی، م.ر.، م.ج. ثقه الاسلامی، م. ح. سیاری زمان و س. غ. موسوی. ۱۳۹٦. اثر شوری و محلولپاشی روی و آهن بر عملکرد و برخی ویژگیهای مورفولوژیکی و کیفی زنیان. مجله تنشهای محیطی در علوم زراعی. جلد ۱۰، شماره ٤: ۵۹٦-٦۰٤.
زارع، د. س.، ز. اسرار و م. مهربانی. ۱۳۸٦. اثر فلز روی بر رشد و برخی از شاخصهای فیزیولوژیکی و بیوشیمایی در گیاه نعناع. مجله زیست شناسی ایران. جلد۲۰، شماره۳: ۲٤۱-۲۳۰.
زرگری، ع. ۱۳٦۹. گیاهان دارویی. جلد۲. انتشارات دانشگاه تهران. ۹۲۳ صفحه.
سپهری، ع.، ا. چیت ساز، ن. قره باغی و م. ثمن. ۱۳۹٦. اثر سولفات روی و آهن بر عملکرد و محتوای کامفرول گیاه دارویی کاسنی تحت تنش خشکی. فن آوری تولیدات گیاهی. جلد۷، شماره۱: ۱۱۱-۹۹.
سفید کن، ف و ف. عسگری. ۱۳۸۲. مقایسه کمی و کیفی اسانس پنج گونه آویشن .مجله پژوهش و سازندگی. جلد ۵۹، شماره٦: ۷-۲.
شریفی عاشورآبادی، ا.، م. برازنده، م. ح. لباسچی، م. میرزا، و ب. عباس‌زاده. ۱۳۸۳. تاثیر کاربرد کود نیتروژن به‌صورت رایج، کند رهاشونده و محلول‌پاشی بر ترکیبات روغن اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه. خلاصه مقالات دومین همایش گیاهان دراویی. دانشگاه شاهد. ۵ صفحه.
عباس‌زاده، ب.، ا. شریفی عاشورآبادی، م. ر. اردکانی، م. ح. لباسچی، ف. صفی‌خانی، م. نادری و ح. ب. کندی. ۱۳۸۵. بررسی تاثیر روش مصرف کود نیتروژن بر بازده و درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه تحت شرایط مزرعه. فصلنامه علمی و پژوهشی گیاهان دارویی. جلد ۲۲، شماره ۳: ۲۳۰-۲۲۲.
عزیزی، ع. ۱۳۸۱. مطالعه کشت بافت گیاه دارویی افسنتین *Artemisia absinthum* در بررسی تغییرات کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه اسانس آن در شرایط Invitro و Invivo؛ پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی گیاهی دانشگاه بوعلی‌سینا، دانشکده کشاورزی. ۹۹ صفحه.
عسگری، ف.، و. نادری و ف. سفیدکن. ۱۳۸۳. مقایسه کمی و کیفی اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه از مناطق مختلف. فصلنامه علمی و پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر. جلد ۲، شماره ۷: ۲۳۷-۲۲۹.
علیمدد، م. ۱۳۷۵. بررسی مواد و ترکیبات متشکله اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه. پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیمی تجزیه دانشگاه تهران. ۲۳۱ صفحه
قهرمان، ا. ۱۳۸۰. فلور رنگی ایران. موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. جلد۹، شماره۳: ۱۰٦-۹۵.
لایق حقیقی، م.، م. حسن پور اصیل و ب. عباس زاده. ۱۳۹۵. تأثیر نانو کلات آهن بر کمیت و کیفیت اسانس گل محمدی. وماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۳۲، شماره ۱: ۱٤۷-۱۳۸.
محمد نژادگنجی س. م.، ح. مرادی، ع. قنبری و م. اکبرزاده. ۱۳۹٦. کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویهٔ گیاه اسطوخودوس تحت تأثیر عامل بوم‌شناختی ارتفاع از سطح دریا. یافته‌های نوین در علوم زیستی. جلد ٤، شماره ۲: ۱۷۲-۱٦٦.
محمدیان، ع.، ر. کرمیان و پ. هاشمی. ۱۳۹۱. مقایسه میزان کمی و کیفی اسانس اکوتیپ‌های مختلف مریم نخودی (*Teucrium polium*) در رویشگاه‌های استان لرستان. فصلنامه علمی پژوهشی یافته، جلد ۱٤، شماره ۲: ۵٦-۵۱.

میرانصاری، ه.، ع. مهرآفرین و ح. نقدی بادی. ۱۳۹٤. پاسخ‌های مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی شوید به محلولپاشی سولفات آهن و سولفات روی. فصلنامه گیاهان دارویی. جلد١٤، شماره٢: ٣٠-١٥.

نصیری ی.، س. زهتاب سلماسی ص. نصراله‌زاده و ک. قاسمی گلعذانی. ۱۳۸۹. تاثیر محلول پاشی آهن و روی بر روی صفات مورفولوژیک و عملکرد گل بابونه آلمانی. یازدهمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران. صفحه ۱۹۹.

یادگاری، م و ف. قربانی. ۱۳۹۱. اثر عناصر ریزمغذی آهن و روی بر ترکیبات اسانس و عملکرد گیاه آویشن باغی. مجله پژوهشهای به زراعی. جلد٤، شماره٣: ٢٧٧-٢٦٥.

یادگاری، م و ر. برزگر. ۱۳۸۹. تأثیر گوگرد و تیوباسیلوس بر قابلیت جذب عناصر غذایی، رشد رویشی و تولید اسانس در بادرنجبویه. فصلنامه داروهای گیاهی. جلد ۱۰، شماره ۱: ٤٠-٣٥.

Daigel, D.J. and E.J Conkerton. 1982. High-performance liquid chromatography of 34 selected flavonoid. Journal of chromatography. 240: 202-205.

Derosion, A and A. B. Eutler. 2002. The review of natural product, First ed, facts and comparison USA. pp: 293.

Dressing, H., D. Riemann and H. Insomina. 1992. Valerian Melissa combinations of equal value to benzodiazepine. Therapie. 42: 726 - 36.

Evans, W. C. 1996. Pharmacognosy. 14th Edition. Chapter 21. Volatile Oils and Resins. John Wiley, New York. 450 pp.

Evans, W. C. 2002. Pharmacognosy. 15 th. Ed. Wb. Saunders,U.K. pp: 221-253

Grejtovsky, A., K. Markusova and A. Eliasova. 2006. The response of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) plants to soil zinc supply. Plant Soil and Env. 52: 1-7.

Havalin. J. L., J. D. Beaton, S. L. Tisdale and W. L. Nelson. 2005. Soil Fertility and Fertilizer: An Introduction to Nutrient Management. Upper Saddle River, New Jersey. 515p.

Heidari, F., S. Zehtab -Salmasi, A. Javanshir, H. Aliari and M. R. Dadpoor. 2008. The effects of application microelements and plant density on yield and essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). Iranian J. Med. Arom. Plants. 24(1): 1-9.

Karami-chameh, S., S. Behamin and A. Fathi A. 2013. Evaluation of iron foliar application, reduction of salinity on crop damage. National Conference on Sustainable Agriculture Development and Healthy Environment.

Kiani, M. H., A. Mokhtari, H. Zeinali, A. Abbasnejad and L. Afghani-Khoraskan. 2014. Rosmarinic acid and anthocyanin content improvement by foliar application of Fe and Zn fertilizer in Lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Int. J. Adv. Biol. Biomed. Res. 2 (5): 1525- 1530.

Klimek, B., T. Majda and J. Pator. 1998. Investigation of essential oil and phenolic compounds of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) cultivated in Poland. VIIth Conference on the Application of Chromatographic Methods in phytochemical and Biomedical Research Lublin, Poland. Herba Polonica. 44(4): 324 - 331.

Kuo, M. C and C. H. Ka. 2004. Antioxidant enzyme activities are up regulated in response to cadmium in sensitive, but not in tolerant, rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. Bot. Bull. Acad. 45: 291 - 99.

Nasiri, Y., S. Zehtab-Salmasi, S. N. Nasrullahzadeh, N. Najafi and K. Ghassemi-Golezani. 2010. Effects of foliar application of micronutrients (Fe and Zn) on flower yield and essential oil of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). J. Med. Plants Res. 4(17): 1733 - 37.

Omidbaigi, R and A. Arjmandi. 2002. Effects of NP supply on growth, development, yield and active substances of garden thyme (*Thmus vulgarisL*.). Acta Hort. 576: 263-265.

Pino, J. A., A. Rosado and V. Fuentes. 1999. Composition of the essential oil of *Melissa officinalis* L. from Cuba. J. Essential oil Res. 11 (3): 363 - 64.

Rouphael, Y., M. Cardarelli, E. Rea and G. Colla. 2008. The influence of irrigation system and nutrient solution concentration on potted geranium production under various conditions of radiation and temperature. Sci Hortic. 118: 328-337.

Said-Al Ahl, H. A. H and E. A. Omer. 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. J. Med. Food Plants. 1(2): 30-46.

Srivastava, N. K., A. Mirsa and S. Sharma. 1997. Effect of Zn deficiency on net photosyntheticrate, 14 Cpartitioning, and oil acuumulationin leavesof -.-peppermint. Photosyn. 33 (1): 71 - 9.

Verma, R. S., A. K. Verma A. K. Yadav and A Chauhan. 2010. Changes in the essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargoniumgraveolens* L' Herit. ex Ait) due to date of transplanting under hill conditions of Uttarakhand. Indian J Nat Prod Resour. 3: 367-370.

Waraich, E. A., R. A. Saifullah and M. Y. Ehsanullah. 2011. Role of mineral nutrition in alleviation of drought stress in plants. Aust. J. Crop Sci. 5(6): 764- 777.

Welch, R. M., W. H. Allaway, W. A. House and J. Kubota. 1991. Geographic distribution of trace element problems. In: J.J. Mortvedt (ed.) Micronutrients in agriculture (2nd ed.). Soil Sci. Soc. Am. Madison, WI: 7-31.

Yassen, A., E. A. A. Abou El-Nour and S. Shedeed. 2010. Response of Wheat to Foliar Spray with Urea and Micronutrients. J. Americ. Sci. 6 (9): 14 - 22.

Zehtab-Salmasi, S., F. F. Heidari and H. Alyari. 2008. Effect of microelements and plant density on biomass and essential oil production of peppermint (*Mentha piperita* L.). Plant Sci. Res. 1: 24-28.

Effect of spraying iron and zinc sulfate fertilizer on essential oil component of medicinal plant, lemon balm (*Melisa officinalis* L.)

E. Hassani Moghadam[1], M. Dolatsha[2], M. Shaaban[3], R. Yarahmadi[2]

Received: 2018-12-14 Accepted: 2019-9-23

Abstract

In this research the effect of spraying iron and zinc sulfate fertilizer on lemon balm (*Melisa officinalis* L.) essential oil component was studied at Khoramabad. A factorial experiment was conducted based on a complete randomized design with three replications. Two factors were iron sulfate fertilizer at 0, 2 and 5 ppm and zinc sulfate fertilizer at 0, 2 and 5 ppm. Essential oils isolated by hydro-distillation with Clevenger device. The essential oil fraction identified and measurement by GC/MS. The result obtained from this study led to identification of 28 fractions on lemon balm volatile oil. In the essential oil of lemon balm Jeraniol (66.65%), Trans caryophilen (8.41%), Caryophylen oxide (4.99%), Verbenol (2.17%), Citronellol (1.615), Alpha morelol (1.525), Germacrin D (1.38%) and Alpha cadinol (1.68%) were the major components. Results shows that under fertilizer treatment no significant observed ($P \leq 0.01$) in terms of herbal dry yield. But the amount of essential oil differences between fertilizer treatments was significant ($P \leq 0.01$). To increasing the essential oil amount, 5 ppm zinc sulfate treatment was best treatment. In this study according the results, the Jeranol component was observed 66.65 percent of whole volatile oil fraction of lemon balm, which is considerable high. But the Citronellol component allocated 1.6 percent of all lemon balm essential oil components. In this research to be seems that the fertilizer and climate condition caused the differences on amount of essential oil component in plant.

Key Words: Essential oil, citronelol, jeraniol and chromatography

1- Seed and Plant Certification Research Institute (SPCRI), Agricultural Research Education & extension organization (AREEO), Karaj, Iran
2- Agriculture And Natural Researches Resources And Education Center Khoramabad, Iran
3- Young Researchers and Elite Club, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran