ژنتیک نوین
دوره شانزدهم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰
صفحه ۱۵۰- ۱۴۳

بررسی بیان ژن ژرماکران A سنتتاز در گیاه بابونه کبیر تحت تنش شوری

Evaluation of Germacrene A Synthase gene expression under salinity stress in *Tanacetum parthenium*

لطیفه پوراکبر*[۱]، آرین ساطعی[۲]، منصوره احمدی لیوانی[۳]، مهدی عبادی[۴]، ابوالقاسم محمدی[۴]

۱- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه
۲- دکترای فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه گرگان
۳- دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه ارومیه
٤- دکترای شیمی تجزیه گرایش الکتروشیمی، دانشگاه گرگان
٥- دکترای ژنتیک، دانشگاه گرگان

Pourakbar L, Satei A, Ahmadi Livani M, Ebadi M, Mohammadi A

1.Associate Professor of Biology, Faculty of Science, Urmia University
2.Ph.D. Plant Physiology at Gorgan University
3. Ph.D. student in Plant Physiology, Urmia University
4. Ph.D. Analytical Chemistry, Electrochemistry, Gorgan University
5. PhD in Genetics, University of Gorgan

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:l.pourakbar@urmika.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۹/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۶/۰۲)

چکیده

بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium*) گیاهی علفی، متعلق به خانواده کاسنی (Asteraceae) می‌باشد که از جمله گیاهان دارویی ارزشمند است که اثرات مصرف آن در پیشگیری درمان میگرن به اثبات رسیده است که از طریق کاهش تورم درد و اسپاسم رگ‌های خونی صورت می‌گیرد. پارتنولید یکی از مهم‌ترین سزکوئی‌ترپن لاکتون‌های موجود در گیاه بابونه کبیر است که بیش از ۸۵ درصد کل سزکوئی‌ترپن‌های این گیاه را تشکیل داده و به‌عنوان ماده مؤثره این گیاه شناخته شده است. در تحقیق حاضر، برگ‌های جوان گیاه بابونه کبیر در سطوح مختلف شوری (شامل صفر (EC=3.2)، شوری ملایم (EC=6.1)، شوری متوسط (EC=8.4) و شوری شدید (EC=10.2) قرار داشتند به‌منظور مطالعه تغییرات بیان ژن مسیر بیوسنتزی پارتنولید شامل ژرماکرن A سنتتاز (GAS) از روش Real Time PCR استفاده شد. میزان پارتنولید تولید شده در برگ‌ها با روش عصاره‌گیری در دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و درصد اسانس با دستگاه GC/MS سنجیده شد. نتایج نشان دهنده افزایش معنی‌دار بیان ژن مورد مطالعه در برگ‌های گیاهان تحت تنش شوری نسبت به گیاهان شاهد بود. بیشترین میزان بیان ژن GAS در تیمارهای شوری شدید و شوری متوسط مشاهده شد. همچنین روند تغییرات میزان بیان ژن با روند تغییرات میزان پارتنولید تولید شده در برگ‌ها مطابقت داشت. بازده اسانس گیاه نیز در شرایط تنش ملایم (۰/٦٦ درصد) بیشتر از شرایط بدون تنش (۰/٤۹ درصد) بود.

واژه‌های کلیدی

اسانس
گیاهان دارویی
Tanacetum parthenium
HPLC

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-07]

مقدمه

بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium*) گیاهی علفی، چندساله و متعلق به خانواده کاسنی (Asteraceae) بوده و از لحاظ سطح کروموزومی دیپلویید (2x=2n=18) و حاوی ترکیبات ترپنی متعددی می‌باشد (Groenewegen and Heptinstall 1992).گیاه بابونه کبیر یکی از گیاهان بومی اروپا و آسیا است، ولی به سراسر جهان گسترش یافته است. در ایران نیز این گیاه در برخی مناطق از جمله در منطقه آذربایجان، ارسباران، گیلان و مازندران به شکل خودرو می‌روید. در گذشته معمولاً از این گیاه برای درمان آرتریت، آسم، یبوست، درد گوش، سردرد، التهاب پوست، تب، دفع حشرات، اختلالات قاعدگی، پسوریازیس، اسپاسم، درد معده تورم، وزوز گوش، سرگیجه و درد دندان استفاده می‌شد. به‌همین خاطر این گیاه را بابونه کبیر[1] نیز می‌نامند (Sharopov et al. 2015).

حدود ۳۰ سزکویی ترپن لاکتون در بابونه کبیر شناسایی شده است و بیش از ۸۵ درصد کل سزکویی‌ترپن‌های بابونه کبیر را پارتنولید تشکیل می‌دهد که به‌عنوان ماده مؤثره این گیاه شناخته شده است. فعالیت‌های بیولوژیکی زیادی برای پارتنولید گزارش شده است که شامل فعالیت ضدمیگرنی، ضدسرطانی و ضدالتهابی است (Brown et al. 1997; Cretniket al. 2005; Williams et al. 1995). مسیرهای (MEP) متیل ارتیرول فسفات در پلاستیدها و موالونیک اسید (MVA) در سیتوسول دو مسیری است که مسئول بیوسنتز ترپن‌ها می‌باشند (Rohmer et al. 1993; Zeng et al. 2011). این دو مسیر با یکدیگر در ارتباط بوده و در نتیجه در بیوسنتز ترکیبات سزکوئی‌ترپن لاکتونی مانند پارتنولید مهم می‌باشد (Majdi et al. 2014).

طبق نتایج Majdi et al. (2014) در گیاه بابونه کبیر، بیشترین مقدار پارتنولید در گل‌ها و به دنبال آن در برگ‌ها و ساقه مشاهده شده است و پارتنولیدی در ریشه بابونه کبیر تعیین نشده است. همچنین آن‌ها گزارش کرده‌اند که بیان ژن TpGAS (ژرماکرن A سنتتاز) دقیقاً در ارتباط با بیوسنتز پارتنولید است و بالاترین بیان ژن TpGAS در گل‌ها و کرک‌های ترشحی می‌باشد و تمرکز پارتنولید در کرک‌ها نشان داده است که کرک‌ها مکان ویژه‌ای برای سنتز و اسیمیلاسیون پارتنولید می‌باشد. مقایسه غلظت کرک‌ها در چندین سلول گیاهی نشان داده است که دیسک گلچه بیشترین کرک‌های ترشحی را دارد و به دنبال آن‌ها برگ و ساقه‌ها کمترین کرک‌ها را دارا هستند.

رشد و نمو گیاهان توسط عوامل طبیعی به شکل عامل‌های زنده و غیرزنده تحت تأثیر قرار می‌گیرد. گیاهان همیشه در طول دوره زندگی خود تحت تنش‌هایی از قبیل کاهش دما، شوری، خشکی، سیل، گرما، تنش اکسیداتیو و سمیت فلزات سنگین قرار می‌گیرند. فعالیت‌های متنوع انسان، عاملهای تنش موجود در طبیعت را گسترده‌تر کرده است. همه این عامل‌های تنش، تهدیدی برای گیاهان محسوب می‌شود و رشد و تولید محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در پاسخ به این عامل‌های تنش‌زا، ژن‌های گوناگون تنظیم می‌شوند که می‌توانند اثر تنش را کاهش داده و با تنظیم محیط سلولی مقاومت گیاه را افزایش دهند (Cretnik et al. 2005). در حقیقت یکی از مهم‌ترین وظایف متابولیت‌های ثانویه در گیاهان نقش محافظتی آن‌ها در شرایط تنش است. این ترکیبات به گیاهان کمک می‌کنند تا بتوانند در مقابل عوامل و شرایط نامساعد محیطی مقاومت کنند و به حیات خود ادامه دهند (Ramakrishna and Ravishankar 2011). تنش شوری درصد اسانس اکثر گیاهان دارویی را افزایش می‌دهد، چون در موارد تنش متابولیت‌های بیشتری تولید شده و این مواد باعث جلوگیری از عمل اکسیداسیون در سلول می‌شوند (Bettaieb et al. 2008). افزایش درصد اسانس در شرایط سطح اولیه تنش شوری در گیاه اسطوخودوس توسط Khorasani Nejad et al. (2016) گزارش شده است. با وجود آن‌که اثرات تنش‌های غیرزیستی بر عملکرد، ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاهان به فراوانی مورد بررسی قرار گرفته است، اما تأثیر اولیه این تنش‌ها بر رفتارهای بیوشیمیایی و مولکولی به‌خوبی مطالعه نشده است. لذا به‌نظر می‌رسد آگاهی از پاسخ‌های مولکولی گیاهان به تغییر محیط پیرامون و تنش‌های غیرزیستی یکی از حوزه‌های مهم در پژوهش‌ها به‌شمار می‌رود. این آگاهی می‌تواند منجر به به‌کارگیری فن‌آوری‌های زیستی به‌منظور ایجاد ارقام متحمل به تنش‌ها شود. این تحقیق با هدف بررسی تاثیر شوری بر میزان و توزیع ماده

[1] Feverfew

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-07]

مؤثره پارتنولید در شرایط نموی مختلف در برگ‌های بابونه کبیر همچنین تغییر بیان ژن کلیدی مسیر بیوسنتز پارتنولید بسته به‌شدت تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌منظور بررسی اثر سطوح مختلف تنش شوری بر بیان یک ژن درگیر در مسیر بیوسنتزی پارتنولید در گیاه بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium*) در سال ۱۳۹۵ در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی گرگان انجام شد. این تحقیق در آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمار شامل تنش شوری در چهار سطح شامل بدون تنش (EC=3.2)، ملایم (EC=6.1)، متوسط (EC=8.4) و شدید (EC=10.2) بود. بذر بابونه کبیر از شرکت بذر پاکان اصفهان تهیه شد و به گلدان‌های پلاستیکی با بستر کشت شامل ماسه، خاک برگ، کود حیوانی، خاک مزرعه انتقال یافت. در اوایل مرحله رویشی اعمال تنش شوری در چهار سطح بدون تنش و تنش ملایم (۲۵ میلی‌مول نمک در ۸۰۰ سی‌سی آب) تنش متوسط (۵۰ میلی‌مول نمک در ۸۰۰ سی‌سی آب) و تنش شدید (۷۵ میلی‌مول نمک در ۸۰۰ سی‌سی آب) صورت گرفت که اعمال تنش به صورت یک روز در میان بود. بعد از گذشت ۳۰ روز اعمال تنش، نمونه‌برداری از برگ‌های جوان و بالغ در اواخر شهریور انجام شد و نمونه‌های برگی در فریزر ۸۰°C- نگهداری شدند و نمونه‌های برگی در فریزر ۸۰°C- نگهداری شدند. با توجه به اطلاعات ژنومی موجود در NCBI. به‌عنوان ژن‌های خانه دار برای گیاه بابونه کبیر با استفاده از نرم‌افزار (http://probes.pw.usda.gov/batchprimer3 BatchPrimeer3 طراحی (Singh et al. 2017) و توسط شرکت سیناژن ساخته شد (جدول۱). این پرایمرها از نظر تکثیراختصاصی ژن‌های مزبور در بانک اطلاعاتی NCBI و به‌کمک Primer BLAST مورد بررسی و تایید قرار گرفتند و عملکرد آن‌ها با PCR نیز بررسی شد. برای انجام واکنش Real Time PCR با استفاده از دستگاه Step-one شرکت ABI استفاده شد. برنامه دمایی PCR به این شرح بود: واسرشت‌سازی اولیه به مدت ده دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و ۳۵ چرخه بدین صورت در نظر گرفته شد: واسرشت‌سازی ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگر ۶۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و بسط ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد. بسط نهایی هفت دقیقه با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد. یک ماکرولیتر از cDNAی سنتز شده (با علظت ۲۰۰ تا ۳۰۰ نانوگرم) به‌عنوان الگو برای استفاده شد. پس از اتمام چرخه‌های PCR منحنی ذوب با برنامه سرعت ۰/۳ درجه سانتی‌گراد بر ثانیه در هر چرخه و بین دمای ۹۵°C-۶۵ به‌منظور بررسی اختصاصی واکنش PCR انجام شد. نرخ بیان ژن مورد مطالعه با استفاده از روش دلتا دلتا محاسبه شد. بر این اساس، ابتدا برای نمونه میانگین سیکل آستانه ΔCT (حاصل از دو تکرار محاسبه) سپس همین عمل برای ژن خانه‌دار[1] مربوط به نمونه اجرا شد و در نهایت میزان بیان ژن مورد نظر با استفاده از فرمول زیر حاصل می‌شود:

$$\text{Gene expression: } 2^{-\Delta CD\ (\text{House-Keeping Gene}) - \Delta CT\ (\text{Target Gene})}$$

برای تعیین مقدار پارتنولید در عصاره گیاه بابونه کبیراز دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا Agilent (HPLC) با مشخصات ستون zorbox xDB C_{18} به طول ۱۵۰ میلی‌متر و قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر استفاده شد. همچنین فاز متحرک با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه به نسبت 40:60-آب و اتانول استفاده شد.

[1] House-Keeping

جدول ۱- توالی آغازگرهای استفاده شده برای ژن *TpGas* در *T. parthenium*

ژن	توالی آغازگر	
Tp(PTS)	Forward primer:	AGACATTACGTTTACACCCTCCCG
	Reverse primer:	ATCACGACACAAGTCCCAGGG
TpGAS	Forward primer:	TGCTATCTCGGGTACTTTCAAGG
	Reverse primer:	TTCTCCTCTTATTCTCAACTGTGCG

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-07]

اندازه‌گیری در طول موج حداکثر ۲۱۰ نانومترمربوط به پارتنولید انجام گرفت. جهت تهیه نمونه ٤ گرم از پودر خشک شده برگ‌های بابونه کبیر به مدت ٢٤ ساعت درون دستگاه سوکسله قرار گرفت در قسمت بالن دستگاه از ٤٥٠ میلی‌لیتر پترلیوم اتر استفاده شد و دما در محدوده ٥٠-٤٠ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. بعد از ٢٤ ساعت، جهت تبخیر حلال نمونه‌ها با استفاده از روتاری در شرایط خلا و دمای ٤٠ درجه به مدت ٢ ساعت خشک شد. عصاره رقیق شده با ٢٠ سی‌سی استونیتریل قبل از تزریق به دستگاه HPLC با استفاده از فیلتر ٠/٤٥ میکرون صاف شد.

در این آزمایش مقدار ١٠٠ گرم نمونه خشک شده از برگ هر منطقه از گیاه بابونه کبیر را وزن کرده و با استفاده از دستگاه اسانس‌گیری فارماکوپه (BIO-RAD, 164-0300) به روش تقطیر با آب به مدت یک ساعت مورد اسانس‌گیری قرار گرفت. دبی (حجم آبدهی در واحد زمان) آب خنک‌کننده ٥ میلی‌لیتر در دقیقه محاسبه شد و اسانس حاصل به صورت مخلوط با آب بود که به‌وسیله حلال (دی اتیل اتر) از آب جدا شد. بازده اسانس ٠/٦٥ درصد بود.

جهت آنالیز مواد مؤثره اسانس گیاه بابونه کبیر از دستگاه کروماتوگرافی گازی جرمی مدل Varian 3400 متصل شده به طیف سنج جرمی مدل Saturn II، با ستون موئینه با نام تجاری DB-5 ساخت شرکت J&W به طول ٣٠ متر و قطر داخلی ٠/٢٥ میلی‌لیتر که سطح داخلی آن با فاز ساکن پوشیده شده از جنس Dimethylsiloxane.5% phenyl به ضخامت ٠/٢٥ میکرون با فشار گاز سرستون ٣٥ Psi، با انرژی یونیزاسیون معادل ٧٠ الکترون ولت، در درجه حرارت ستون ٤٠ تا ٢٥٠ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش ٤ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و درجه حرارت محفظه تزریق ٢٦٠ درجه سانتی‌گراد و دمای ترانسفر لاین معادل ٢٧٠ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص‌های بازداری کواتس (٧، ١٢، ١٣) و مقایسه آن‌ها با شاخص‌های بازداری استاندارد که در منابع مختلف منتشر شده انجام و مطالعه طیف‌های جرمی با مقایسه طیف جرمی ترکیب‌های استاندارد، استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنوئیدها در کامپیوتر دستگاه GC/MS تأیید شدند. محاسبات کمی (تعیین درصد هر یک از ترکیبات) به‌کمک داده پرداز Chromatopac C–R3A به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ مربوط به طیف‌ها انجام شد. در این مطالعه چون بیشترین میزان اسانس در شوری ملایم مشاهده شد در نتیجه جهت آنالیز مواد مؤثره اسانس در گیاه بابونه کبیر در شوری ملایم انجام شد.

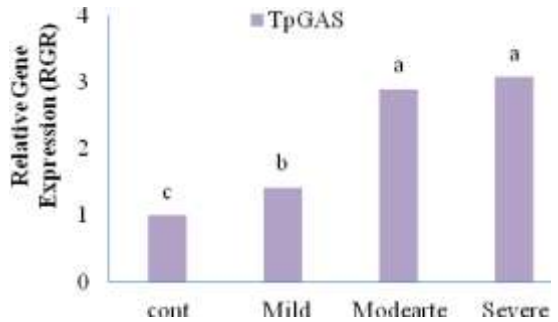
تحلیل و توصیف داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 در سطح معنی‌داری یک درصد انجام شد. نخست با استفاده از آزمون کولموگراف- اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) مورد آزمون نرمال قرار گرفت. جهت تعیین سطوح اختلاف از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار از آزمون دانکن جهت دسته‌بندی داده‌ها استفاده شد.

نتایج و بحث

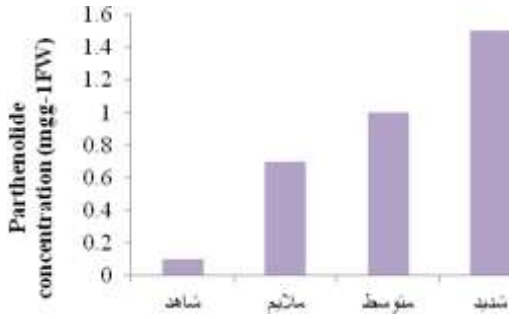
نتایج بررسی میزان بیان ژن مسیر بیوسنتزی پارتنولید (TpGAS) در برگ‌های جوان بابونه کبیر نشان داد که بین تیمارهای مختلف سطوح شوری در سطح یک درصد تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بیان ژن TpGAS در برگ‌های جوان تحت سطوح مختلف شوری (ملایم، متوسط و شدید) نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را نشان دادند. همچنین تغییرات ژن TpGAS در تیمارهای شوری شدید و متوسط بیشترین میزان را به خود اختصاص داد و اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار مشاهده نشد (شکل ١ و ٢).

با توجه به نتایج حاصل از HPLC در این تحقیق بهترین میزان پارتنولید تولید شده در برگ‌ها با مقدار ١/٥mg/g در تیمار شوری شدید و کمترین میزان پارتنولید مربوط به تیمار شاهد (٠/١ میلی‌گرم در گرم) بود (شکل ٣ الف و ب).

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-07]

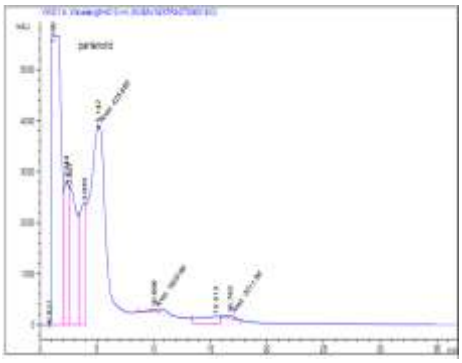


شکل ۱- نمودار الگوی بیان ژن *TpGAS* در مسیر بیوسنتزی پارتنولید در برگ‌های جوان بابونه کبیر (مرحله اول رویشی) تحت تنش شوری (شاهد با EC=3.2، شوری ملایم با EC=6.1، شوری متوسط با EC=8.4 و شوری شدید با EC=10.2). ستون‌های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ هستند.

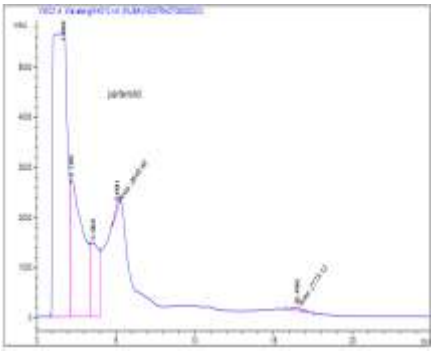


شکل ۲- مقایسه میزان پارتنولید در گیاه بابونه کبیر در شرایط متفاوت تنش تحت تنش شوری (شاهد با EC=3.2، شوری ملایم با EC=6.1، شوری متوسط با EC=8.4 و شوری شدید با EC=10.2). ستون‌های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ هستند.

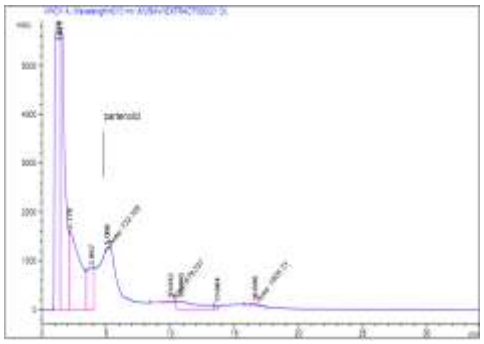
میزان پارتنولید تولید شده در برگ‌های تیمار شده با شوری ملایم و شوری متوسط به‌ترتیب ۰/۸ میلی‌گرم در گرم و ۱/۱۹ میلی‌گرم در گرم بوده است (شکل ۳ ج و د). نتایج حاصل نشان داد که همبستگی مثبت و نسبتاً قوی بین میزان پارتنولید و بیان ژن $TpGASR^2=0.9$ وجود داشت.



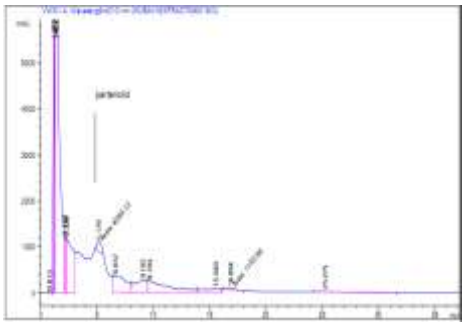
شکل ۳ الف- کروماتوگرام حاصل از تزریق عصاره برگ بابونه کبیر (بدون اعمال تنش شوری) (EC=3.2)



شکل ۳ ب- کروماتوگرام حاصل از تزریق عصاره برگ بابونه کبیر تحت تنش شوری متوسط(EC=8.4)



شکل ۳ ج- کروماتوگرام حاصل از تزریق عصاره برگ بابونه کبیر تحت تنش شوری ملایم(EC=6.1)



شکل ۳ د- کروماتوگرام حاصل از تزریق عصاره برگ بابونه کبیر تحت تنش شوری شدید (EC=10.2)

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-07]

در گزارش دیگری از Majdi et al. (2014) عنوان شده است که همبستگی مثبتی بین میزان پارتنولید و رونوشت ژن TpGAS وجود دارد به‌طوری‌که میزان بالای بیان ژن TpGAS به‌همراه بیشترین میزان پارتنولیددر کرک‌های غده‌های بابونه کبیر مشاهده شده است که این نتایج با نتایج حاصل از این تحقیق همسویی نشان می‌دهد. کرک‌های ترشحی به‌عنوان محل اصلی بیوسنتز و تجمع پارتنولید عمل می‌کنند. علاوه براین القای تراپلوییدی دربابونه کبیرنشان داده است که ژنوتیپ تراپلویید نسبت به ژنوتیپ دیپلویید مشتق شده دارای میزان بیشتری ازپارتنولید در برگ و گل می‌باشد که این افزایش باتوجه به داده‌های به‌دست آمده می‌تواند در اثر افزایش بیان ژن TpGAS باشد.

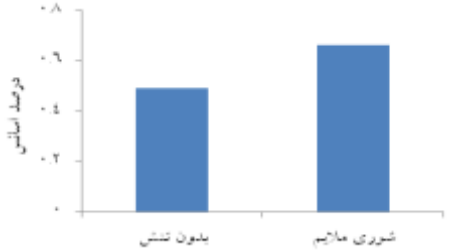
با توجه به نتایج تحقیق حاضر، شرایط تنشی بر بیان ژن مسیر بیوسنتزی پارتنولید و همچنین بر میزان پارتنولید تولید شده در برگ‌های گیاه بسیار مؤثر بوده، به‌طوری که بیشترین بیان ژن مورد مطالعه و بیشترین میزان پارتنولید در تیمار شدید تنش شوری و متوسط مشاهده شد. بنابراین تنش شوری را می‌توان به‌عنوان یک القا کننده مثبت بر تولید ماده مؤثره پارتنولید درنظر گرفت.

بررسی میزان درصد اسانس درشرایط تنش شوری ملایم و بدون تنش

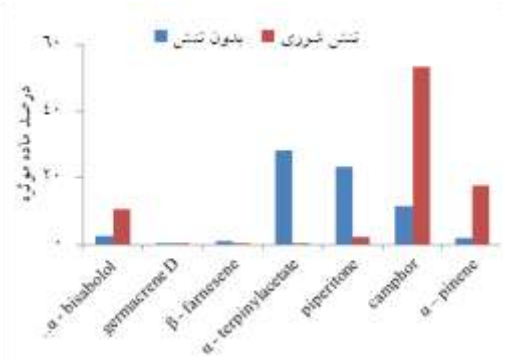
طبق نتایج پژوهش حاضر، بازده اسانس گیاه مورد مطالعه (در برگ) در شرایط بدون تنش و شرایط تنش ملایم (Ec=6.1) به‌ترتیب ۰/٤۹ و ۰/٦٦ درصد به‌دست آمد.

نتایج حاصل از آنالیز GS/MC اسانس برگ در شرایط تنش شوری و شرایط بدون تنش

نتایج حاصل از آنالیز مواد مؤثره اسانس برگ در جدول ۲ آورده شده است. مطابق این جدول camphor و α – pinene از مهم‌ترین ترکیبات شناخته شده در برگ‌های گیاه تحت تیمار شوری ملایم بود، در حالی‌که در شرایط بدون تنش piperitone و α – terpinylacetate میزان بیشتری را به خود اختصاص دادند. طبق شکل ٤ درصد اسانس در شرایط تنش ملایم بیشتر از شرایط بدون تنش بود (نه لزوما در همه موارد). نتایج HPLC نشان داد که این مواد (کامفور، کریزانتنیل استات، کامفن، پی سیمن و بورنیلاستات و مطابق جدول۲) در عصاره بابونه کبیر موجود بود (شکل ۵ و ٦). کامفور یک مونوترپن اکسیژن‌دار دو حلقه‌ای است که قویاً ضدعفونی کننده و به‌عنوان یک ترکیب آنتی پاتوژن و مخصوصاً به‌عنوان دافع قارچ، باکتری و حشرات شهرت یافته است. همچنین به‌عنوان مسکن اعصاب، کاهش‌دهنده دمای بدن و تب و محرک مراکز عصبی و تنفس شناخته شده است (Parvin et al. 2012). کامفور و کریزانتنیل استات به‌عنوان مهم‌ترین مواد مؤثره اسانس گونه موردنظر معرفی شده است (Pareek et al 2011). کامفور، کامفن، پی سیمن و بورنیلاستات به‌عنوان ترکیبات اصلی اسانس گیاه گزارش شده است. ماده مؤثره کامفور به‌عنوان مهم‌ترین ترکیب دافع حشرات و آفات گزارش شده است. همچنین کامفور به‌عنوان یک آنتی پاتوژن قوی در درمان عفونت‌های باکتریایی و قارچی می‌باشد (Groenewegen and Heptinstall 1992).



شکل ٤- نمودار مقایسه درصد اسانس در بابونه کبیر در شرایط بدون تنش (EC=3.2) و تنش شوری ملایم (EC=6.1)



شکل ۵- نمودار مقایسه درصد ماده مؤثره در بابونه کبیر تحت شرایط بدون شوری (EC=3.2) و تنش شوری ملایم (EC=6.1)

تحقیقات نشان داده است که یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در میزان متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان، تنش‌های محیطی اعمال شده بر آن‌ها است. در حقیقت یکی از مهم‌ترین وظایف

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-07]

متابولیت‌های ثانویه در گیاهان نقش محافظتی آن‌ها در شرایط تنش است. این ترکیبات به گیاهان کمک می‌کنند تا بتوانند در مقابل عوامل مزاحم خارجی (مانند آفات و پاتوژن‌ها) و شرایط نامساعد محیطی مقاومت کنند و به حیات خود ادامه دهند. شواهد زیادی مبنی بر افزایش چند برابری متابولیت‌های ثانویه تحت تنش‌های محیطی وجود دارد، اما برخی تحقیقات نیز نشان می‌دهد که این تأثیر همیشگی نیست و در مواردی حتی کاهش میزان متابولیت‌های ثانویه تحت شرایط تنش‌های محیطی دیده می‌شود (Ramakrishna and Ravishankar 2011). شرایط تنش می‌تواند کمیت و کیفیت اسانس را تغییر دهد (Hay 1993). در گیاهان دارویی و معطر، شوری ممکن است در برخی از ترکیبات و عملکردهای متابولیت‌های ثانویه اثر معنی داری داشته باشد (Petropoulos et al. 2008).

Bernstein et al. (2009) در آزمایشی مشابه روی ریحان نشان داده‌اند که با افزایش شوری، انباشت اسانس در بافت‌های گیاه افزایش پیدا می‌کند. آن‌ها بیان کرده‌اند که یک همبستگی مثبت بین سطح تنش اعمال شده روی سلول‌ها و درصد اسانس در بافت‌های گیاهی وجود دارد. افزایش درصد اسانس ممکن است به‌دلیل تغییر در بیوسنتز اسانس تحت تنش و محدود شدن سطح برگ‌ها باشد که می‌تواند دلیل متراکم‌تر شدن غدد ترشحی اسانس در مقایسه با برگ‌های تحت شرایط غیر تنش باشد. همچنین در دو گیاه ریحان و نعنا گزارش شده که زیاد بودن تراکم غده‌های مترشحه اسانس در اثر کاهش سطح برگ ناشی از تنش، باعث تجمع بیشتر اسانس می‌شود (Farzaneh et al. 2010). Khalid Hendawy and Khalid (2005) نیز به نتایج مشابهی در گیاه مریم گلی اشاره کرده‌اند. در توضیح افزایش درصد اسانس در شرایط تنش می‌توان گفت که چون میزان متابولیت‌های اولیه گیاه در شرایط تنش کاهش می‌یابند گیاه با تنش مواجه می‌شود، و چون تولید متابولیت‌های ثانویه نوعی سازوکار دفاعی در شرایط نامساعد محیطی هستند تولید آن‌ها در گیاه افزایش می‌یابد (Archangi 2011).

جدول ۲- نتایج آنالیز مواد مؤثره اسانس برگ بابونه کبیر در شرایط بدون تنش (EC=3.2)و شوری ملایم (EC=6.1)

ماده مؤثره	tricyclene	α - thujene	α – pinene	β – pinene	α - phellandrene	p-cymene	1,8-cineole	γ - terpinene	camphor	pinocarvone	piperitone	α - terpinylacetate	β - farnesene	germacrene D	α - bisabolol oxide B	α - bisabolol	cisα - erpineol	pinocarvone	α - copaene	β - baurbonene	spathulenol
درصد ماده مؤثر بدون تنش	۱/٤	۲/۹	۲/۱۱	۱/۰	۱/۰	۰/۷۷	۰/۸۲	۰/۲٤	۱۱/۵	۰/۰	۳۳/۳۵	۲۸/۳٦	۱/۰۳	۰/۵	۲/۵۱	۱/۰۱	۰/٦٦	۲/۰٦	۲/٦	۵/٦٦	۰/۲
درصد ماده مؤثر تنش شوری (ملایم)	۰/۷	۰/۹	۱۷/٦۷	۰/۲	۱/۵۵	۱/٦۲	۱/٦	۰/۲۳	۵۳/۳۲	۰/۸	۲/۲	۰/٤	۰/۱٦	۰/۵	۱۰/۵۲	۰/۳۷	۰/	۰/	۰/	۸/۱٦	۰/

منابع

Archangi A (2011) Investigating the effects of salinity ongermination and vegitative growth of two medicinal herbs of basil and Fenugreek. M.Sc. thesis, Shahrekord University. (In Farsi).

Bernstein N, Kravchik M, Dudai N (2009) Salinity-induced changes in essential oil, pigments and salts accumulation in sweet basil (*Osimumbasilicum)* in relation to alteration of morphological development. Annals Applied Biology 156:167-177.

Bettaieb I, Zakhama N, Wannes WA, Kchouk ME, Marzouk B (2008) Water deficit effects on *Salvia officinalis*fatty acids and essential oils composition. ScientiaHorticulturae 120:271-275.

Brown AMG, Edwards CM, Davey MR, Power JB, Lowe KC (1997) Effects of extracts of *Tanacetum* species on human polymorphonuclear leucocyte activity *in vitro*. Phytotherapy Research 11:479-484.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-07]

Cretnik L, Skerget M, Knez Z (2005) Separation of parthenolide from feverfew: performance of conventional and high-pressure extraction techniques. Separation and Purification Technology 41:13-20.

Farzaneh A, Ghani A, Azizi Arani M (2010) Effect of water stress on appearance characteristics, function and essence percentage in the basil plant (*Keshkeni luvelou cultivar*). Journal of plant Production Researches 2:10-18. (In Farsi).

GroenewegenWA, Heptinstall S (1992) Progress in the medicinal chemistry of the herb, feverfew. Progress in Medicinal Chemistry 29:217-238.

Hay RKM (1993) Physiology. In: Volatile Oil Crops: Their Biology, Biochemistry and Production, eds., Hay R.K.M. and P.G. Waterman. Longman, England 23-46.

Khalid Hendawy S F, Khalid A (2005) Response of sage (*Salvia officinalis*L.) plants to zinc application under different salinity levels. Journal of Applied Science Research 1:147-155.

Khorasani Nejad S, Soltanlou H, Hadian J, Atashi S (2016) Effect of Salinity on Some Appearance, Quantitative and qualitative characteristic of essence on Lavandula angustifolia Miller. Journal of Horticultural Science 30:209-216. (In Farsi).

Majdi M, Karimzadeh G, Malboobi MA (2014) Spatial and developmental expression of key genes of terpene biosynthesis in feverfew (*Tanacetum parthenium*).Biologiaplantarum 58:379-384. (In Farsi).

Pareek A, Suthar M, Rathore GS, Bansal V (2011) Feverfew (*Tanacetumparthenium* L.): A systematic review. Pharmacogn Review 5:103-110.

Parvin N, Samani RA, Shahinfard N, Reissi S, Alibabaie Z, Asgari A (2012) Effect of alcoholic extract of *Tanacetumparthenium* on acute pain in rat. Journal of Qazvin University, Medical of Science. 16:15-21. 2012

Petropoulos SA, Daferera D, Polissiou MG, Passam HC (2008) The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. Phytochemistry 115:393-397.

Ramakrishna A, Ravishankar GA (2011) Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signaling and Behavior 6:1720-1731.

Rohmer M, Knani M, Simonin P, Sutter B, Sahm H (1993) Isoprenoid biosynthesis in bacteria: a novel pathway for the early steps leading to isopentenyldiphosphate. Biochemistry of Journal 295:517-524.

Sharopov FS, Setzer WN, Isupov SJ, Wink M (2015) Composition and bioactivity of the essential oil of *Tanacetum parthenium* from a wild population growing in Tajikistan. AJEONP 2:32-4.

Singh G, Singh G, Singh P, Parmar R, Paul N, Vashist R, Kumar Swarnkar M, Kumar A, Singh S, Kumar Singh S. Kumar S (2017) Molecular dissection of transcriptional reprogramming of steviol glycosides synthesis in leaf tissue during developmental phase transitions in *Stevia rebaudiana* Bert. Scientific Reports 711-835.

Williams CA, Hoult JRS, Harborne JB, Greenham J, Eagles J (1995) Biologically-active lipophilic flavonol from *Tanacetumparthenium.*Phytochemistry 38:267-270.

Zeng QP, Zeng X.M, Yang RY, Yang XQ (2011) Singlet oxygen as a signaling transducer for modulating artemisinin biosynthetic genes in *Artemisia annua*. Biology of Plant 55:669-674.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-07]