



## به‌زرعی کشاورزی

دوره ۱۶ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۳

صفحه‌های ۱۸۵-۱۹۶

# تأثیر اسید سالیسیلیک بر خصوصیات کمی و کیفی اکوتیپ‌های بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*)

ماجده ملکیان<sup>\*</sup>، خدایار همتی<sup>۲</sup>، عظیم قاسم‌نژاد<sup>۳</sup>، محمد برزعلی<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۲. دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۳. استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۴. استادیار بخش زراعت، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۲/۲۷

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۲/۰۱/۱۹

### چکیده

بابونه آلمانی با نام علمی *Matricaria chamomilla* از مهم‌ترین و پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی اسانس‌دار در صنایع مختلف محسوب می‌شود. در این تحقیق اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک، در غلظت‌های ۰، ۱۰<sup>-۲</sup>، ۱۰<sup>-۴</sup> و ۱۰<sup>-۶</sup> مولار بر برخی صفات گل، اسانس و اجزای اسانس سه اکوتیپ بابونه آلمانی (ایتالیا، تهران و زابل) بررسی شد. بنابر نتایج به‌دست‌آمده، حداکثر درصد اسانس (۱/۵۰ درصد) در اکوتیپ زابل تحت تأثیر غلظت ۱۰<sup>-۴</sup> مولار اسید سالیسیلیک و حداکثر عملکرد اسانس (۰/۰۸۵ گرم در گلدان)، در اکوتیپ ایتالیا در غلظت ۱۰<sup>-۲</sup> مولار اسید سالیسیلیک حاصل شد. در بین ترکیبات شناسایی‌شده اسانس بابونه آلمانی، کامازولن، E.β. فارنسن و آلفا بیسابولول اکسید A تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت. حداکثر درصد کامازولن (۳/۷۸۹ درصد) در تأثیر متقابل اکوتیپ ایتالیا و غلظت ۱۰<sup>-۲</sup> مولار اسید سالیسیلیک و بیشترین درصد فارنسن (۲/۲۶۴ درصد) نیز در اکوتیپ ایتالیا و در تیمار ۱۰<sup>-۲</sup> مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد. کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت‌های ۱۰<sup>-۴</sup> و ۱۰<sup>-۶</sup> مولار سبب افزایش آلفا بیسابولول اکسید A به‌مقدار به‌ترتیب ۷۰/۹۰۷ و ۷۳/۴۸۲ درصد بدون تفاوت معنادار در مقایسه با تیمار شاهد شد، اما این ترکیب اسانس تحت تأثیر اکوتیپ قرار نگرفت. به‌طور کلی برخلاف اجزای عملکرد اسانس تنها مقدار اسانس و ترکیبات تشکیل‌دهنده آن تحت تأثیر تیمار اسید سالیسیلیک قرار گرفت و واکنش اکوتیپ‌ها در صفات بررسی‌شده متفاوت بود.

**کلیدواژه‌ها:** آلفا بیسابولول اکسید A، اسانس، اسید سالیسیلیک، اکوتیپ، کامازولن.

## ۱. مقدمه

بابونه آلمانی با نام علمی *Matricaria chamomilla* گیاهی علفی، یکساله و از خانواده کاسنی<sup>۱</sup> است. کشت این گیاه اغلب به منظور استفاده از اسانس آبی رنگ آن انجام می‌گیرد و مقدار اسانس با توجه به شرایط اقلیمی محل رویش بین ۰/۴ تا ۱/۵ درصد است [۲]. در اسانس بابونه حدود ۴۰ نوع ترکیب شناسایی شده که مهم‌ترین آنها کامازولن، آلفا بیسبولول، آلفا بیسبولول اکسید، پاراسیمین، بتا اوسیمین، بتا فارنزن، فارنزول و ترکیبات سیس و ترانس اسپیرو اتر هستند [۲، ۲۳]. اسانس گل‌های این گیاه اثر ضد میکروبی دارد [۱]. کامازولن موجود در اسانس دارای خاصیت ضد التهابی است. آلفا بیسبولول اکسید دارای خاصیت ضد میکروبی، ضد التهاب و بهبود دهنده زخم است و هر دو ماده خاصیت ضد تشنجی نشان داده‌اند [۲۵]. در بررسی مقایسه‌ای ۲۳ اکوتیپ بابونه آلمانی از نقاط مختلف ایران، آنها در برخی صفات مانند عملکرد گل، تعداد گل در بوته، قطر گل و نهج، ارتفاع و وزن ۱۰۰ گل و درصد اسانس تفاوت معناداری نشان دادند [۵]. همچنین در بررسی ترکیب‌های اسانس نمونه‌های بابونه آلمانی جمع‌آوری شده از مناطق تهران، همدان و کازرون مشخص شد ترکیب آلفا بیسبولول (۵۱ درصد) در نمونه کازرون بیشتر از بقیه است که احتمالاً نتیجه تأثیر شرایط اقلیمی بر مواد مؤثره است [۷]. در بسیاری از حالت‌ها تولید متابولیت‌های ثانویه می‌تواند توسط الیستورهای از قبیل متیل جاسمونات<sup>۲</sup>، اسید سالیسیلیک<sup>۳</sup>، چیتوسان<sup>۴</sup> و عناصر سنگین افزایش یابد [۱۲]. اسید سالیسیلیک، به مقدار بسیار کمی در گیاهان تولید می‌شود و در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف مانند تنظیم زمان گلدهی [۱۵، ۲۴]، رشد گیاه، جذب یون،

فتوستت، جوانه‌زنی و مهار بیوسنتز اتیلن و نیز هدایت روزنه‌ای [۱۷، ۲۸] گیاهان نقش دارد. کاربرد اسید سالیسیلیک خارجی ممکن است سبب افزایش مقدار اسید سالیسیلیک درونی شود و با توجه به مسیر بیوسنتزی آن ممکن است در افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاهان مؤثر واقع شود. چگونگی تأثیر اسید سالیسیلیک کاربردی به عامل‌های مختلفی مانند نوع گونه، مرحله رشدی، روش کاربرد و نیز غلظت بستگی دارد [۳۱]. در بررسی تأثیر غلظت‌های به کاررفته اسید سالیسیلیک (۵۰ و ۲۵۰ میکرومولار) بر گیاه بابونه آلمانی، رشد برگ‌ها و ریشه‌ها در غلظت ۵۰ میکرومولار به طور معناداری افزایش یافت. در مقابل، غلظت ۲۵۰ میکرومولار موجب توقف رشد گیاه شد و مقدار کومارین و ترکیبات مرتبط با آن (آمبلی فرون و هرنیارین) در برگ، تحت تأثیر تیمار قرار نگرفت [۲۲]. در مقابل در تحقیقی دیگر، تیمار اسید سالیسیلیک از طریق ریشه سبب تغییر در مقدار کومارین و افزایش چشمگیر مقدار هرنیارین و آمبلی فرون برگ بابونه آلمانی شد [۲۶]. در بررسی اثر اسید سالیسیلیک بر دو گیاه ریحان<sup>۵</sup> و مرزنجوش<sup>۶</sup> بهبود صفات مورفولوژیکی هر دو گیاه و نیز افزایش کمیت و کیفیت اسانس ریحان در غلظت ۱۰<sup>-۴</sup> مولار گزارش شده است. همچنین کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت‌های ۱۰<sup>-۳</sup> و ۱۰<sup>-۵</sup> مولار کیفیت اسانس گیاه مرزنجوش را با افزایش سطح ساینین بهبود بخشید [۱۸]. از سویی در بررسی کاربرد اسید سالیسیلیک (۱۰۰ پی‌پی‌ام)، بر عملکرد رویشی و عملکرد اسانس گیاهان دارویی نعناع<sup>۷</sup>، شمعدانی<sup>۸</sup> و علف لیمو<sup>۹</sup> تأثیر معناداری مشاهده نشد [۲۷].

با توجه به اینکه تاکنون در کشور تحقیقی در خصوص

5. *Ocimum basilicum L*
6. *Majorana hortensi*
7. *Mentha arvensis*
8. *Pelargonium graveolens*
9. *Cymbopogon martini*

1. Asteraceae
2. Methyl jasmonate
3. Salicylic acid=SA
4. Chitosan

تأثیرات اسید سالیسیلیک بر متابولیت‌های ثانویه اکوتیپ‌های مختلف بابونه آلمانی صورت پذیرفته است، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر برخی صفات گل و صفات کمی و کیفی اسانس اکوتیپ‌های مختلف بابونه بوده است.

## ۲. مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۸۸-۸۹ به صورت گلدانی در بنیاد علمی حریری بابل (عرض جغرافیایی  $33^{\circ}36'$ ، طول جغرافیایی  $42^{\circ}52'$  با ارتفاع چهار متر پایین‌تر از سطح دریا) و آزمایشگاهی در آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهران اجرا شد. تحقیق در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی، در سه تکرار صورت گرفت. تیمارهای مطالعه شده در این تحقیق شامل اسید سالیسیلیک در چهار غلظت (۰،  $10^{-2}$ ،  $10^{-4}$  و  $10^{-6}$  مولار) و سه اکوتیپ بابونه آلمانی (ایتالیا، تهران و زابل) بود. بذور اکوتیپ‌های تحت بررسی از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان تهیه شد و پس از کشت اولیه بذر و سپس تنک کردن به تعداد مشخص، در مرحله شش‌برگی به گلدان اصلی با قطر دهانه ۲۷ و ارتفاع ۱۹ سانتی‌متر انتقال یافت. در هر گلدان، سه توده (در مجموع ۳۰ گیاه) بابونه آلمانی براساس طرح آماری تعیین شده کشت شد. وجین علف‌های هرز به صورت دستی انجام گرفت و در طول آزمایش از مصرف علف‌کش، آفت‌کش و قارچ‌کش خودداری شد. کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت‌های مشخص به صورت محلول‌پاشی در یک نوبت و در مرحله ساقه‌دهی گیاهان در ۲۰ خرداد ۱۳۸۸ انجام گرفت و نمونه شاهد توسط آب مقطر اسپری شد. برداشت گل‌ها به منظور اندازه‌گیری

صفات و بررسی مقدار اسانس و اجزای اسانس در سه نوبت صورت گرفت. بلافاصله بعد از برداشت، وزن تر آنها اندازه‌گیری شد و سپس به منظور تعیین وزن خشک، گل‌ها به مدت ۴۸ ساعت در داخل آون تهویه‌دار در دمای  $30^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد خشک شد [۳]. اسانس‌گیری با دستگاه کلونجر<sup>۱</sup> و به روش تقطیر با آب، در شرایط کاملاً یکسان به مدت سه ساعت انجام گرفت [۱۴]. به این منظور دو گرم از گل‌های خشک بابونه مربوط به هر تیمار به همراه ۵۰ میلی‌لیتر آب و یک گرم کلرید سدیم (افزایش نقطه جوش و خروج کامل اسانس) به بالن ۵۰۰ میلی‌لیتر اضافه شد [۲۰، ۳۰]. برای جدا کردن اسانس، ابتدا آب و نمک تا حد فاصل خط اسانس تخلیه شد. از آنجا که اسانس آبی‌رنگ گیاه بابونه چسبنده است و به سطوح داخلی دستگاه کلونجر می‌چسبد، به کمک حلال هگزان، اسانس از این سطوح جدا شد و سپس محلول حاصل (هگزان و اسانس) در ظرف‌های شیشه‌ای کوچک ریخته شد و با استفاده از دستگاه تبخیرکننده دوار<sup>۲</sup> جداسازی هگزان از اسانس انجام گرفت و درصد اسانس پس از رطوبت‌زدایی آن به روش وزنی تعیین شد [۳]. پس از محاسبه درصد اسانس در گل، عملکرد آن نیز در واحد گلدان (گرم در گلدان)، براساس حاصل ضرب درصد اسانس و عملکرد گل خشک تعیین شد. به منظور شناسایی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس و تعیین درصد آنها به ترتیب از GC/MS و GC استفاده شد. شرایط آزمایش بدین شرح بود: دستگاه GC مدل TRACE GC: نوع ستون: DB5، طول ستون: ۳۰ متر، قطر داخلی ستون:  $0.32$  میلی‌متر، قطر ذرات داخلی ستون:  $0.25$  میکرومتر؛ برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و پس از پنج

1. Clevenger  
2. Rotary evaporator

نتایج با یافته‌های مطالعه اثر اسید سالیسیلیک بر صفات رویشی پونه، علف لیمو و شمعدانی همسو است (۲۷). در این زمینه می‌توان عدم تأثیرپذیری صفات مورفولوژیکی گیاه تحت مطالعه را به عوامل مختلفی مانند غلظت اسید، زمان کاربرد، گونه گیاهی، شرایط محیطی، PH و... نسبت داد. در بررسی کاربرد اسید سالیسیلیک بر صفات رویشی گیاه نعنای گربه‌ای نیز چگونگی تأثیر به غلظت کاربردی مرتبط دانسته شد [۹].

### مطالعه اثر اکوتیپ بر صفات گل

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، تفاوت معناداری را بین اکوتیپ‌ها از نظر صفات تحت بررسی به‌جز صفت وزن خشک گل نشان نداد، به‌طوری‌که صفت وزن خشک گل در سطح احتمال ۵ درصد تحت تأثیر اکوتیپ قرار گرفت. در بررسی ضرایب تنوع فنوتیپی بابونه آلمانی نشان داده شد که صفات عملکرد گل خشک و تر و تعداد گل در هر بوته دارای بیشترین تنوع بود [۸].

همان‌طور که در جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) مشاهده می‌شود، اکوتیپ ایتالیا (۰/۱۵ گرم در بوته) و اکوتیپ تهران (۰/۱۳ گرم در بوته) سبب ایجاد حداکثر وزن خشک گل شد، اگرچه اکوتیپ تهران در مقایسه با اکوتیپ زابل اختلاف معناداری نداشت. از آنجا که از موارد مهم تأثیرگذار بر صفات مورفولوژیکی گیاهان دارویی عوامل محیطی و خصوصیات ژنتیکی گیاه است، درباره تنوع اندک صفات مورفولوژیکی اکوتیپ‌های بابونه آلمانی تحت مطالعه (تهران، ایتالیا و زابل) می‌توان گفت به‌دلیل اینکه کشت این گیاهان در وضعیت‌های آب‌وهوایی یکسان صورت گرفت، خصوصیات رشدی تحت تأثیر عامل‌های محیطی به‌طور مشابه بروز یافت.

دقیقه توقف در همان دما، به‌تدریج افزایش یافت تا به ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد رسید. درجه حرارت محل تزریق: ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، نوع دتکتور: FID، دمای دتکتور: ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل:  $N_2$ ، مقدار جریان گاز حامل: ۱/۱ میلی لیتر بر دقیقه، حجم تزریق نمونه: ۰/۳ میکرولیتر. دستگاه GC/MS مدل TRACE MS نوع Quadrupole: نوع ستون: DB5، طول ستون: ۶۰ متر، قطر داخلی ستون: ۰/۲۵ میلی متر، قطر ذرات داخلی ستون: ۰/۲۵ میکرومتر، درجه حرارت محل تزریق: ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، حجم تزریق نمونه: ۰/۳ میکرولیتر، دمای محفظه یونش: ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل: هلیوم، مقدار جریان گاز حامل: ۱/۱ میلی لیتر بر دقیقه.

شناسایی طیف‌ها به‌کمک بانک اطلاعات جرمی، زمان بازداری، محاسبه اندیس کواتس، مطالعه طیف‌های جرمی هر یک از اجزای اسانس و بررسی الگوهای شکست آنها، مقایسه آنها با طیف‌های استاندارد و استفاده از منابع معتبر صورت گرفت [۱۰]. تجزیه واریانس و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار MSTAT-C انجام گرفت و برای مقایسه میانگین صفات از آزمون چنددامنه‌ای دانکن و برای ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

### ۳. نتایج و بحث

#### مطالعه اثر اسید سالیسیلیک بر صفات گل

براساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، تیمار اسید سالیسیلیک بر فاکتورهای قطر نهج، ارتفاع نهج و تعداد گل در سطح احتمال ۵ درصد معنادار شد. براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، حداکثر تعداد گل در بوته (۹/۰۰ عدد)، در تیمار شاهد و بدون تفاوت معنادار با غلظت‌های  $10^{-2}$  و  $10^{-4}$  مولار به‌دست آمد (جدول ۲). کاربرد اسید سالیسیلیک به‌عنوان الیستور اثر معناداری بر اجزای عملکرد اکوتیپ‌های تحت مطالعه نداشت که این

تأثیر اسید سالیسیلیک بر خصوصیات کمی و کیفی اکوتیپ‌های بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*)

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر اسید سالیسیلیک بر صفات اندازه‌گیری شده اکوتیپ‌های بابونه آلمانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد گل در بوته	وزن تر گل	ارتفاع نهج	قطر نهج	وزن خشک گل
اسید سالیسیلیک	۳	۱۶۹/۲۱*	۱/۴۶ <sup>ns</sup>	۱/۲۸*	۰/۸۸۹*	۰/۰۶۳ <sup>ns</sup>
اکوتیپ	۲	۷/۵۹ <sup>ns</sup>	۱/۷۳ <sup>ns</sup>	۰/۱۴۶ <sup>ns</sup>	۰/۱۷۴ <sup>ns</sup>	۰/۱۱۲*
اسید سالیسیلیک × اکوتیپ	۶	۱۱۸/۹۹ <sup>ns</sup>	۲/۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۸۹۷*	۰/۶۹۲*	۰/۰۵۹ <sup>ns</sup>
خطا	۲۴	۵۶/۹۵	۱/۰۲	۰/۳۵۵	۰/۳۱۸	۰/۰۳۲
ضریب تغییرات (%)	–	۱۹/۴۳	۱۷/۱۰	۱۴/۴۸	۱۳/۰۹	۱۵/۳۹

\* - معنادار در سطح احتمال ۵ درصد ns - غیرمعنادار

جدول ۲. نتایج مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر صفات اندازه‌گیری شده اکوتیپ‌های بابونه آلمانی

تیمار	تعداد گل در بوته	وزن خشک گل (گرم در بوته)
اسید سالیسیلیک (مولار)		
۰	۹/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۱۵ <sup>a</sup>
۱۰ <sup>-۲</sup>	۸/۳۳ <sup>ab</sup>	۰/۱۳ <sup>ab</sup>
۱۰ <sup>-۴</sup>	۸/۳۰ <sup>ab</sup>	۰/۱۴ <sup>ab</sup>
۱۰ <sup>-۶</sup>	۷/۴۳ <sup>b</sup>	۰/۱۲ <sup>b</sup>
اکوتیپ		
ایتالیا	۸/۳۹ <sup>a</sup>	۰/۱۵ <sup>a</sup>
تهران	۸/۲۵ <sup>a</sup>	۰/۱۳ <sup>ab</sup>
زابل	۸/۱۶ <sup>a</sup>	۰/۱۲ <sup>b</sup>

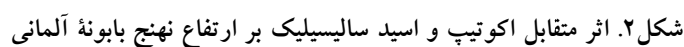
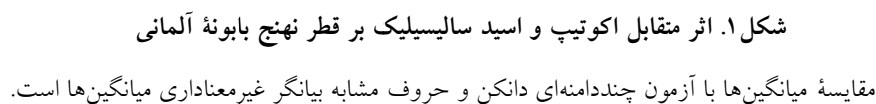
### مطالعه اثر متقابل اکوتیپ و اسید سالیسیلیک بر صفات گل

با توجه به نتایج (جدول ۱)، صفات قطر نهج و ارتفاع نهج در سطح احتمال ۵ درصد تحت تأثیر متقابل اسید سالیسیلیک و اکوتیپ قرار گرفت.

کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت‌های تحت بررسی تنها در غلظت ۱۰<sup>-۶</sup> مولار موجب کاهش معنادار قطر نهج اکوتیپ زابل در مقایسه با تیمار شاهد شد (شکل ۱).

کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت ۱۰<sup>-۲</sup> مولار سبب

کاهش معنادار ارتفاع نهج در اکوتیپ تهران در مقایسه با تیمار شاهد شد، اما کاهش رقت اسید سالیسیلیک سبب افزایش صفت مذکور شد. از سویی غلظت ۱۰<sup>-۶</sup> مولار اسید سالیسیلیک سبب کاهش معنادار ارتفاع نهج در اکوتیپ زابل در مقایسه با تیمار شاهد شد. در مجموع ارتفاع نهج اکوتیپ ایتالیا نسبت به دو اکوتیپ دیگر به مقدار کمتری تحت تأثیر تیمار اسید سالیسیلیک قرار گرفت (شکل ۲).



مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن و حروف مشابه بیانگر غیرمعناداری میانگین‌ها است.

می‌تواند در پاسخ گیاه به اسید سالیسیلیک مؤثر باشد.  
در مطالعه‌ای دربارهٔ دو کولتیوار بنفشه آفریقایی<sup>۱</sup> نشان داده شد که واکنش کولتیوارها در برابر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک متفاوت بود [۲۱].

به نظر می‌رسد غلظت زیاد اسید سالیسیلیک برای اکوتیپ تهران به عنوان عامل تنش‌زا عمل کرد و در مقابل کاربرد آن در غلظت کم ( $10^{-6}$  مولار) همانند هورمون‌های گیاهی به افزایش طول نهج به علت افزایش ابعاد یا تعداد سلول‌ها انجامید. همچنین عوامل ژنتیکی و خصوصیات هر اکوتیپ

1. *Standard purple, Fantasy purple*

## مطالعه اثر اکوتیپ و اسید سالیسیلیک بر اسانس و

### اجزای اسانس

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اغلب صفات اندازه‌گیری شده اسانس تحت تأثیر اثر ساده و همچنین اثر متقابل تیمارها قرار داشت، به طوری که تیمار اسید سالیسیلیک، اکوتیپ و تأثیرات متقابل آنها سبب تأثیر معنادار بر اسانس، عملکرد اسانس و کامازولن در سطح احتمال ۰/۰۰۱ درصد شد. تیمار اسید سالیسیلیک در سطح ۰/۰۰۱ درصد بر  $E.\beta$  فارنسن و در سطح ۱ درصد بر  $\alpha$  بیسابولول اکسید A تأثیر داشت. همچنین  $\beta$ -E- فارنسن در سطح احتمال ۱ درصد تحت تأثیر اکوتیپ قرار گرفت (جدول ۳).

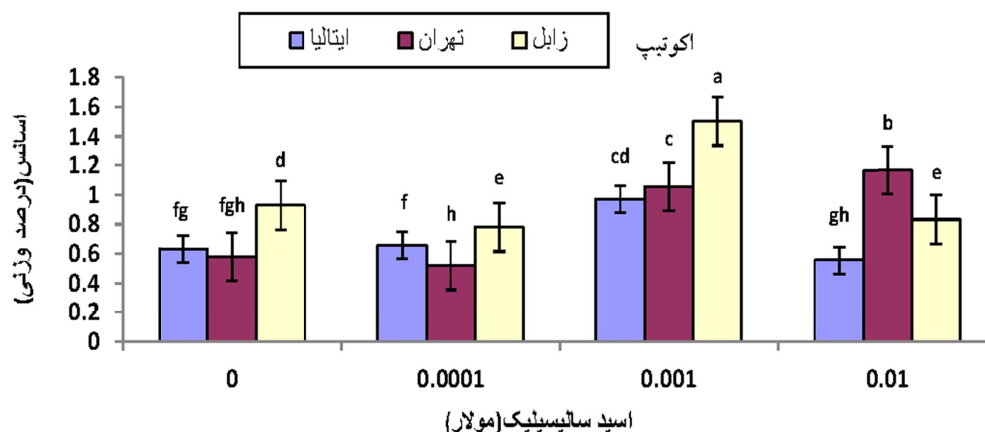
در تیمار شاهد حداکثر درصد اسانس از اکوتیپ زابل به دست آمد (۰/۹۳ درصد وزنی) و کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت  $10^{-4}$  مولار موجب بیشترین مقدار اسانس (۱/۵۰ درصد وزنی) در این اکوتیپ شد که نسبت به سایر اکوتیپ‌ها افزایش معناداری داشت. به طور مشابه در اکوتیپ ایتالیا نیز کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت  $10^{-4}$  مولار سبب افزایش معنادار درصد اسانس نسبت به دیگر غلظت‌ها شد. در اکوتیپ تهران اگرچه غلظت  $10^{-4}$  مولار از اسید سالیسیلیک سبب افزایش معنادار اسانس در مقایسه با تیمار شاهد شد، بیشترین درصد تحت تأثیر غلظت  $10^{-2}$  مولار اسید سالیسیلیک به دست آمد (شکل ۳).

جدول ۳. تجزیه واریانس تأثیر اسید سالیسیلیک بر صفات اندازه‌گیری شده اکوتیپ‌های بابونه آلمانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	اسانس	عملکرد اسانس	Chamazolene	$\alpha$ -bisabolol oxide A	E- $\beta$ -farnesene
اسید سالیسیلیک	۳	۲/۴۵***	۲/۸۰***	۵/۳۷***	۱۰۹/۳۰۷**	۰/۳۲۱۷***
اکوتیپ	۲	۱/۴۱***	۳/۶۱***	۱۱/۵۳***	۱۱/۱۳۳ <sup>ns</sup>	۰/۱۲۴۱**
اسید سالیسیلیک × اکوتیپ	۶	۱/۴۱***	۴/۲۹***	۱۰/۸۱***	۱۷/۱۲۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۵۳ <sup>ns</sup>
خطا	۲۴	۰/۰۲	۰/۰۱۳	۰/۰۳۱	۱۰/۲۱	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (%)	-	۲۳/۹۲	۱۵/۰۸	۱۰/۰۳	۸/۷۷	۷/۳۴
*** - معنادار در سطح احتمال ۱ درصد    ** - معنادار در سطح احتمال ۰/۰۰۱ درصد    ns - غیر معنادار						

جدول ۴. نتایج مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر صفات اندازه‌گیری شده اکوتیپ‌های بابونه آلمانی

تیمار	بازده اسانس (درصد وزنی)	عملکرد اسانس (گرم در گلدان)	کامازولن (درصد)	$\alpha$ -bisabolole oxide A (درصد)	E- $\beta$ -farnesene (درصد)
اسید سالیسیلیک (مولار)					
۰	۰/۸۵۲ <sup>b</sup>	۰/۰۴۸ <sup>c</sup>	۱/۶۰ <sup>b</sup>	۶۱/۱۱۶ <sup>b</sup>	۱/۶۳۴ <sup>b</sup>
$10^{-2}$	۰/۷۱۵ <sup>c</sup>	۰/۰۵۹ <sup>a</sup>	۲/۴۷ <sup>a</sup>	۵۹/۹۱۸ <sup>b</sup>	۲/۲۶۴ <sup>a</sup>
$10^{-4}$	۱/۱۸ <sup>a</sup>	۰/۰۵۰ <sup>b</sup>	۱/۴۸ <sup>c</sup>	۷۰/۹۰۷ <sup>a</sup>	۱/۱۷۴ <sup>c</sup>
$10^{-6}$	۰/۶۵۳ <sup>d</sup>	۰/۰۴۰ <sup>d</sup>	۱/۵۰ <sup>c</sup>	۷۳/۴۸۲ <sup>a</sup>	۰/۷۸۵ <sup>d</sup>
اکوتیپ					
ایتالیا	۰/۷۰۵ <sup>c</sup>	۰/۰۵۸ <sup>a</sup>	۲/۱۱ <sup>a</sup>	۶۵/۱۹۵ <sup>a</sup>	۱/۸۰۸ <sup>a</sup>
تهران	۰/۸۳۱ <sup>b</sup>	۰/۰۴۶ <sup>b</sup>	۱/۸۱ <sup>b</sup>	۶۴/۳۰۱ <sup>a</sup>	۱/۵۶۱ <sup>b</sup>
زابل	۱/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۴۴ <sup>c</sup>	۱/۴۱ <sup>c</sup>	۶۹/۵۷۴ <sup>a</sup>	۱/۰۲۴ <sup>c</sup>



شکل ۳. اثر متقابل اسید سالیسیلیک و اکوتیپ بر درصد اسانس بابونه آلمانی

مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن و حروف مشابه بیانگر غیرمعناداری میانگین‌ها است.

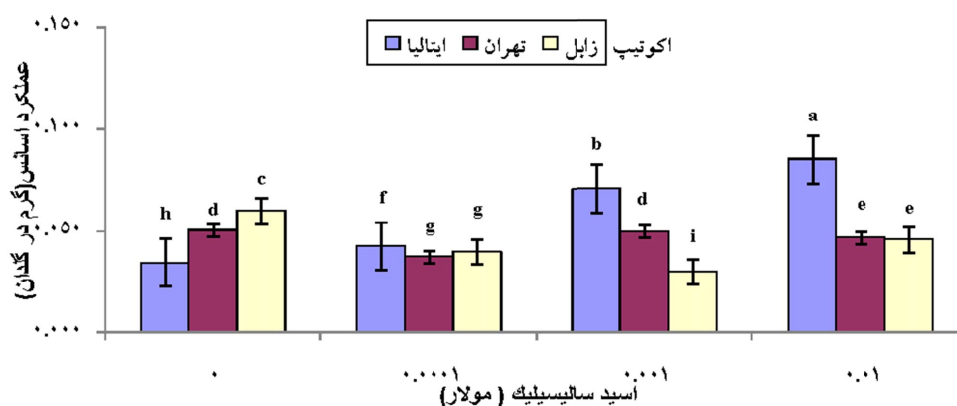
اسید سالیسیلیک موجب کاهش معنادار عملکرد اسانس در این اکوتیپ شد، به‌طوری‌که در بررسی نتایج، حداقل عملکرد اسانس با مقدار  $0.030$  گرم در گلدان از تأثیر متقابل اکوتیپ زابل و کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت  $10^{-4}$  مولار به‌دست آمد (شکل ۴). به‌نظر می‌رسد در صفت مذکور ژنتیک عامل مهمی در چگونگی پاسخگویی گیاهان نسبت به تیمار اسید سالیسیلیک است. چنانکه مشاهده می‌شود (شکل ۵)، مقدار کامازولن در اکوتیپ‌های تحت بررسی تفاوت معناداری در تیمار شاهد (آب مقطر) نشان نداد، اما کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت  $10^{-2}$  مولار سبب افزایش معنادار کامازولن در اکوتیپ ایتالیا ( $3/789$  درصد) و تهران ( $2/466$  درصد) شد، به‌طوری‌که حداکثر مقدار کامازولن در تأثیر متقابل اکوتیپ ایتالیا و کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت  $10^{-2}$  مولار به‌دست آمد. در مقابل مقدار کامازولن در اکوتیپ زابل با کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت مشابه ( $10^{-2}$  مولار) و نیز غلظت‌های  $10^{-4}$  و  $10^{-6}$  مولار به‌طور معناداری کاهش یافت، که واکنش منفی این اکوتیپ را نسبت به غلظت‌های تحت بررسی اسید سالیسیلیک نشان می‌دهد.

اسید سالیسیلیک به‌عنوان عامل انتقال‌دهنده سیگنال‌های دریافت تنش، سبب فعال شدن سیستم دفاعی گیاه می‌شود. از آنجا که نشان داده شد عوامل تنش‌زا سبب تحریک تولید اسانس می‌شود، می‌توان گفت کاربرد اسید سالیسیلیک با ایجاد تنش کاذب تولید اسانس را افزایش می‌دهد. در بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر گیاه ریحان نیز کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت  $10^{-4}$  مولار موجب افزایش کمیت و کیفیت اسانس شد [۱۸]. از آنجا که مقدار حداقل اسانس در بابونه پودر شده در فارماکوپه انگلیس [۱۳]،  $0.2$  درصد گزارش شده است، می‌توان مقدار اسانس اکوتیپ‌های تحت مطالعه در تحقیق حاضر را مطلوب بیان کرد.

در تیمار شاهد حداقل عملکرد اسانس ( $0.035$  گرم در گلدان) از اکوتیپ ایتالیا به‌دست آمد. اما با کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت‌های متفاوت، عملکرد اسانس آن به‌طور معناداری بهبود یافت، به‌طوری‌که در تأثیر متقابل اکوتیپ و اسید سالیسیلیک، حداکثر عملکرد اسانس ( $0.085$  گرم در گلدان) در غلظت  $10^{-2}$  مولار اسید سالیسیلیک و اکوتیپ ایتالیا مشاهده شد. در مقابل اکوتیپ زابل با مقدار  $0.060$  گرم در گلدان حداکثر عملکرد اسانس را در تیمار شاهد تولید کرد، که کاربرد غلظت‌های متفاوت

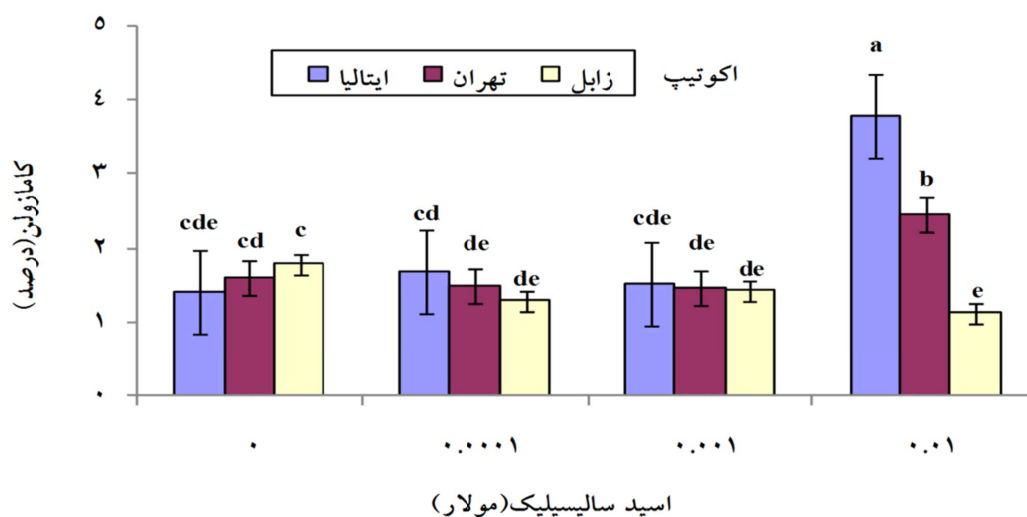


تأثیر اسید سالیسیلیک بر خصوصیات کمی و کیفی اکوتیپ‌های بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*)



شکل ۴. اثر متقابل اسید سالیسیلیک و اکوتیپ بر عملکرد اسانس بابونه آلمانی

مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن و حروف مشابه بیانگر غیرمعناداری میانگین‌ها است.



شکل ۵. اثر متقابل اسید سالیسیلیک و اکوتیپ بر درصد کامازولن بابونه آلمانی

مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن و حروف مشابه بیانگر غیرمعناداری میانگین‌ها است.

افزایش سطح سابینن شد [۱۸]. در بررسی اجزای اسانس اکوتیپ‌های بابونه کازرون، تهران و همدان، اسانس بابونه تهران به‌رنگ سبز و عاری از کامازولن گزارش شد [۶]. اما نتایج تحقیق حاضر وجود کامازولن را در اسانس اکوتیپ تهران نشان داده است.

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴)، حداکثر

در بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر گیاهان دارویی ریحان و مرزنجوش مشاهده شد غلظت  $10^{-4}$  مولار اسید سالیسیلیک تأثیری در مقدار لینالول در گیاه ریحان نداشت و در غلظت‌های  $10^{-3}$  و  $10^{-5}$  مولار مقدار آن کاهش یافت؛ در مقابل کاربرد غلظت‌های  $10^{-3}$  و  $10^{-5}$  مولار اسید سالیسیلیک سبب بهبود اسانس گیاه مرزنجوش، در اثر

مقدار  $E\beta$  فارنسن ( $1/808$  درصد) از اکوتیپ ایتالیا به دست آمد و در مقابل کمترین مقدار ( $1/024$  درصد) با تفاوت معنادار در اکوتیپ زابل مشاهده شد.

در تأثیر اسید سالیسیلیک بر این ترکیب اسانس، حداکثر مقدار  $E\beta$  فارنسن ( $2/264$  درصد)، در غلظت  $10^{-2}$  مولار اسید سالیسیلیک به دست آمد و حداقل مقدار ( $0/785$  درصد) در غلظت  $10^{-6}$  مولار حاصل شد (جدول ۴).

همچنین براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴)، حداکثر مقدار آلفا بیسابولول اکسید A، بدون تفاوت معنادار در غلظت‌های  $10^{-6}$  مولار ( $73/482$  درصد) و  $10^{-4}$  مولار ( $70/907$  درصد) اسید سالیسیلیک به دست آمد. در مقابل حداقل مقدار در غلظت  $10^{-2}$  مولار ( $59/918$  درصد) و نیز در تیمار شاهد ( $61/116$  درصد) حاصل شد. به نظر می‌رسد که کاهش غلظت اسید سالیسیلیک تأثیر مثبت بر مقدار این ماده مؤثره داشته است، به طوری که با کاهش غلظت تیمار کاربردی مقدار ماده مؤثره آلفا بیسابولول اکسید A افزایش یافت.

در بررسی مقایسه‌ای اکوتیپ‌های بابونه ایران با کولتیوارهای کشت‌شده در مصر، عنوان شد که رشته‌کوه زاگرس عامل ایجاد تنوع اکوتیپ‌های بومی بابونه در ایران است، به طوری که اکوتیپ‌های منطقه خلیج فارس با مقدار زیادی آلفا بیسابولول و اکوتیپ‌های منطقه البرز با مقدار زیادی آلفا بیسابولول اکسید A مشاهده شد [۳۰]. همچنین در بررسی مورفولوژیکی و شیمیایی ۱۲ اکوتیپ وحشی مجارستان و چهار رقم اصلاح‌شده بابونه، تفاوت بین اکوتیپ‌های بابونه مشاهده شد، به طوری که مطابق نتایج، اکوتیپ‌ها براساس ترکیبات اسانس در سه گروه قرار گرفتند [۱۱].

در تأثیر اسید سالیسیلیک بر متابولیت‌های ثانویه اکوتیپ‌های بررسی‌شده، از آنجا که این ترکیب آنزیم‌هایی را از مسیر متابولیت‌های ثانویه برای تشکیل ترکیبات

دفاعی تحریک می‌کند [۱۶]، می‌توان گفت ارتباطی بین تولید و تحریک متابولیت‌های ثانویه با مقدار اسید سالیسیلیک در گیاه تحت تنش وجود دارد و ممکن است پیام تولید متابولیت‌های ثانویه در اثر اسید سالیسیلیک کنترل شود. همسو با نتایج تحقیق حاضر، کاربرد اسید سالیسیلیک در بابونه آلمانی از طریق ریشه سبب تغییر در مقدار کومارین شد و افزایش مقدار متابولیت‌های ثانویه هرنیارین و آمبلی فرون نیز پس از تیمار مشاهده شد [۲۶]. همچنین افزودن غلظت‌های مختلف استیل اسید سالیسیلیک به عنوان الیستور در تولید متابولیت‌های ثانویه سوسپانسیون‌های سلولی گیاه پروانش مؤثر واقع شد [۱۹]. متابولیت‌های قطعات جداگشت دو وارینه شیرین بیان نیز تحت تیمار اسید سالیسیلیک افزایش یافت و این ماده یکی از ترکیبات مؤثر و مناسب برای سنتز متابولیت‌های ثانویه از جمله اسید گلیسیریزیک در شیرین بیان گزارش شد [۴]. در این تحقیق اسید سالیسیلیک با توجه به ماهیت و برهمکنشی که با دیگر هورمون‌ها دارد، سبب شد که در غلظت‌های مختلف تأثیرات متفاوتی بر ترکیبات اسانس داشته باشد، بنابراین با توجه به اهداف و جزء مورد نظر، می‌توان غلظت اپتیمم برای کاربرد آن در نظر گرفت.

به طور کلی برخلاف اجزای عملکرد اسانس تنها مقدار اسانس و ترکیبات تشکیل‌دهنده آن تحت تأثیر تیمار اسید سالیسیلیک قرار گرفت و واکنش اکوتیپ‌ها در صفات بررسی‌شده متفاوت بود. براساس نتایج، با هدف بهبود عملکرد اسانس، افزایش کامازولن و  $E\beta$  فارنسن اسانس بابونه آلمانی، محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در غلظت  $10^{-2}$  مولار، و به منظور افزایش درصد اسانس و آلفا بیسابولول اکسید A محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در غلظت  $10^{-4}$  مولار توصیه می‌شود. از میان اکوتیپ‌های بررسی‌شده، عملکرد اکوتیپ ایتالیا در شرایط آب‌وهوایی مازندران مناسب‌تر بود.

## تشکر و قدر دانی

بدین وسیله از جناب آقای دکتر حجت‌اله شکری و همچنین کارکنان محترم بنیاد علمی حریری بابل قدردانی می‌شود.

## منابع

۱. امید بیگی ر (۱۳۷۴) کاربرد بابونه اصلاح‌شده در صنایع آرایشی و بهداشتی. مجموعه مقالات اولین سمینار بین‌المللی صنایع بهداشتی آرایشی. ۴۸-۴۰.
۲. امید بیگی ر (۱۳۸۳) رهیافتهای تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد سوم، انتشارات آستان قدس رضوی، ۳۶۰ ص.

۳. باقری م، گلپرور ا، شیرانی راد ا. ج. زینلی ح. و جعفرپور (۱۳۸۷) بررسی اثرات تاریخ کاشت و مقادیر مختلف نیتروژن بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی بابونه آلمانی در شرایط اصفهان. پژوهش در علوم کشاورزی. ۴ (۱): ۴۰-۲۹.

۴. برنارد ف، نوری م. مهربانی کوشکی ز. و شاکر بازارنو ح (۱۳۸۷) مقایسه پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی قطعات جداگشت دو واریته شیرین بیان به مولیدن و اسید سالیسیلیک. رستنیها. ۹ (۱): ۸۱-۸۸.

۵. پیر خضری م، حسینی م. ا. و فخر طباطبائی م (۱۳۸۷) بررسی تنوع ژنتیکی برخی از توده‌های بابونه آلمانی با استفاده از تعدادی صفات مورفولوژیکی و زراعی. علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۲ (۲): ۹۹-۸۷.

۶. جایمند ک. و رضایی، م. ب (۱۳۸۱) بررسی ترکیب‌های اسانس بابونه دارویی از مناطق تهران، همدان و کازرون. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۳: ۲۳-۱۱.

۷. جایمند ک، رضایی م. ب. عسگری ف. و مشکیزاده ص (۱۳۸۰) بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس بابونه

(*Matricaria chamomilla* L). تحقیقات گیاهان

دارویی و معطر ایران. ۱۰: ۱۰۵-۱۲۵.

۸. زینلی ح، اصفا م. مظفریان و. سفید کن ف. رضائی م. ب. و صفائی ل (۱۳۸۶) ارزیابی ژنوتیپ‌های بابونه آلمانی از لحاظ عملکرد و اجزاء عملکرد گل. سومین همایش گیاهان دارویی، تهران، ۲۷۵ ص.

۹. محمدی ش، سحرخیز م. ج. و جوان مردی ج (۱۳۸۸) تأثیر اسید سالیسیلیک بر رشد، فعالیت‌های متابولیکی و مقدار اسانس گیاه نعنای گربه‌ای. همایش علمی توسعه صنعت گیاهان دارویی ایران. ۹ و ۱۰ اسفندماه، تهران.

10. Adams RP (2001) Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ quadropole Mass Spectroscopy. Carol Stream IL: Allured Publication.

11. Alexandra S (2005) German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) population morphological and chemical diversity. Budapest. Budapest University Department of Horticulture, Ph.D. Dissertation.

12. Ali MB, Khatun S, Hahn EJ and Paek kY (2006) Enhancment of phenyl propanoied enzymes and lignin in phalaenopsis orchid and their influence on plant acclimatization at different level of photosynthetic photon flux. Plant Grow Regul. 49: 137-146.

13. British Pharmacopoeia (1993) British pharmacopoeia composition. London v. 1, 2; pp: 735-360 Apendix XIFA 56. XIFA 54-A154.

14. British pharmacopoeia commission, British Approved Names (2002) A dictionary of drug names for Regulatory use in the uk. (seconded) the stationary office publisher. London.

15. Cleland CF and Ajami A (1974) Identification of the flower- inducing factor isolated from aphid honeydew as being salicylic acid. *Plant Physiol.* 54: 904-906.
16. Ding C and Want CY (2003) the dual effects of methyl salicylate on ripening and expression for ethylene biosynthetic genes in tomato fruits. *Plant Science.* 164:589.
17. El-Tayeb MA (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation.* 45: 215-225.
18. Gharib FAL (2006) Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and majoram. *Internation Journal of Agriculture & Biology.* 4: 485-492.
19. Godoy-Hernandez G and M.Loyola-Vargas V (1997) Effect of acetylsalicylic acid on secondary metabolism of *catharanthus roseus* tumor suspension culture. *Plant Cell Reports.* 16: 287-290.
20. Humphrey AM (1992) Observation on Essential oil Distillation in the laboratory. In the 23rd Intern. Symposium Essential oils. Books of abstract, Ayr, scaotland, OPIV-2.
21. Jabbarzadeh Z, Khish- Khui M and Salehi H (2009) The effect of foliar-applied salicylic acid on flowering of African violet. *Australian Journal of Basic and Applied Science.* 3(4): 4693-4696.
22. Kovacik J, Gruz J, Backor M, Strand M and Repcak M (2009) Salicylic acid induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plant. *Plant cell Reports.* 28: 135- 143.
23. Mann C and Staba EJ (1986) The chemistry, pharmacology and commercial formulation on chamomile. *Herbs, Spices and Medicinal Plant.* 1:236-280.
24. Martinez C, Pons E, Prats G and Leon J (2004) salicylic acid regulates flowering time and links defence responses and reproductive development. *The Plant Journal .* 37: 209-217.
25. Morgan M (1996) Chamomile from a clinical perspective. *Modern phytotherapist.*3: 17-19.
26. Pastirova A, Repack M and Eliasora A (2004) Salicylic acid induces changes of coumarin metabolites in *Matricaria chamomilla* L. *Plant Science.* 167(4): 819-824.
27. Ram M, Singh R, Naqvi AA, Lohia RS, Bansal RP and Kumar S (1997) Effect of salicylic acid on the yield and quality of essential oil in aromatic crop. *Medicinal and Aromatic Plant Sciences.* 19 (1): 24-27.
28. Raskin I (1992) Salicylate, A new plant hormon. *Plant Physiol.* 99:799-803.
29. Salamon I (1994) Growing condition and essential oil of chamomile, *chamomilla reutita* L.(Rauschert) . *Herb, Spices and Medicinal Plant.* 22: 31- 43.
30. Salamon I, Ganavati M and Khazaei H (2010) Chamomile biodiversity and essential oil qualitative-quantitative characteristics in Egyptian production and Iranian landraces. *J. Food Agric.* 22 (1): 59-64.
31. Seo S, Ishizuka K and Ohash Y (1995) induction of salicylic acid beta-glucosidase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) leaves by exogenous salicylic acid. *Plant and Cell Physiol.* 36 (3): 447-453.