تنوع ترکیبات فلاونوئیدی در گونهٔ Astragalus gossypinus (به‌عنوان یک گیاه دارویی) در غرب ایران

مهتاب عسگری نعمتیان*، مرتضی عطری**، حبیب الله ناظم***

چکیده

جنس آستراگالوس به‌عنوان بزرگ‌ترین جنس گیاهان آونددار به شمار می‌رود. این جنس دارای ۳۰۰۰ ـ ۲۵۰۰ گونه و ۲۵۰ بخش است. گونه‌های این جنس، از لحاظ تولید کتیرا، ازنظر اقتصادی بسیار حائز اهمیت هستند. از ریشهٔ برخی از گونه‌های این جنس برای تولید داروهای قدیمی و معروف استفاده می‌شود که این داروها در درمان ورم مزمن کلیه (کلیه‌افروختگی)، دیابت، لوسمی و سرطان رحم کاربرد دارد و به‌عنوان ضدّ عرق و داروی اشتهاآور استفاده می‌شود. اکثر فلاون‌ها و فلاونول‌های گلیکوزیدی و غیرگلیکوزیدی‌ای که از جنس آستراگالوس به‌دست آمده‌اند، نقش‌های زیستی فراوانی دارند. جالبترین خصوصیت فلاونوئیدها نقش آنتی اکسیداتیو، ضد میکروبی و رگ گشایی آنهاست. فلاونوئیدها دسته‌ای از ترکیبات طبیعی با گسترش وسیع هستند که در سلسلهٔ گیاهان وجود دارند. با توجه به اهمیت جنس آستراگالوس از جنبهٔ اقتصادی و دارویی، این بررسی به منظور تعیین و تشخیص تنوع درون گونه‌ای در افراد گونهٔ Astragalus gossypinus در غرب ایران انجام گرفت. به این منظور، ترکیبات فنلی برگ‌ها در افراد مختلف گونهٔ Astragalus gossypinus مربوط به ۲۹ زیستگاه مختلف از غرب کشور استخراج و توسط روش TLC آنالیز شد. سرانجام داده‌های به‌دست‌آمده از مطالعات فلاونوئیدی توسط نرم‌افزارهای MVSP و SPSS به روش‌های WARD و UPGMA آنالیز شد. نتایج به‌دست‌آمده از مطالعات فلاونوئیدی، تنوع

* دستیار علمی دانشگاه پیام‌نور، مرکز اسدآباد

** عضو هیئت علمی دانشگاه بوعلی سینا همدان

*** عضو هیئت علمی دانشگاه پیام‌نور

Archive of SID

www.SID.ir

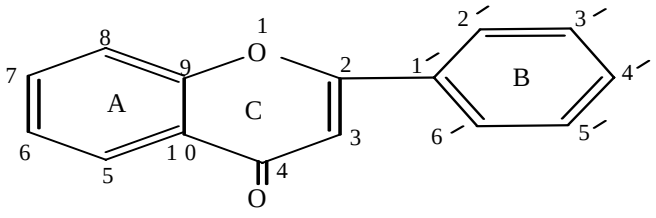
درون‌گونه‌ای را نشان داد. مطابق این نتایج، گروه‌های مختلف فنلی برای گونهٔ Astragalus gossypinus از غرب ایران در زیستگاه‌های مطالعه‌شده به‌دست آمد که این گروه‌ها در زیستگاه‌های مختلف، با شرایط اکولوژیک متفاوت، حضور داشتند. عوامل اکولوژیک مورد مطالعه شامل: بافت خاک، pH، Ec، جهت شیب، ارتفاع و غیره بود. آنالیز داده‌های اکولوژیک با نرم افزارهای Anaphyto و MVSP به روش‌های C.H.A ، F.C.A و C.C.A انجام شد. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد در بین عوامل اکولوژیک مورد مطالعه، عامل ارتفاع مهم‌ترین نقش را در ایجاد تنوع درون‌گونه‌ای در افراد گونهAstragalus gossypinus در غرب کشور دارد.

کلیدواژه

آستراگالوس، ترکیبات فلاونوئیدی، تنوع درون‌گونه‌ای، عوامل اکولوژیک.

۱. مقدمه

فلاونوئیدها دسته‌ای از ترکیبات طبیعی هستند که در سلسلهٔ گیاهان گسترش وسیعی دارند. آنها به‌عنوان یکی از بزرگ‌ترین گروه ترکیبات طبیعی شناخته می‌شوند. تا به امروز متجاوز از ۴۰۰۰ فلاونوئید شناخته شده است که به‌طور وسیعی در برگ‌ها، دانه‌ها، پوسته و گل‌های گیاهان وجود دارند (Medica, et.al. 2004). به‌طور کلی فلاونوئیدها بزرگ‌ترین گروه ترکیبات طبیعی فنلی در گیاهان هستند و به دلیل حضور آنها در تقریباً همهٔ گروه‌های گیاهی، در بیشتر مطالعات مربوط به عصاره‌های گیاهی مورد بررسی قرار می‌گیرند (Markham, 1982). اگرچه از این ترکیبات در تمام سطوح تاکسونومیک و در اغلب گروه‌های گیاهی می‌توان استفاده کرد، کاربرد آنها در درجهٔ اول در بررسی روابط بین‌گونه‌ای نزدیک و همچنین تنوعات درون‌گونه‌ای حائز اهمیت است (Judd et.al., 1999). فلاونوئیدها ترکیبات دی فنیل پروپانوئیدهایی هستند که تقریباً در همهٔ گیاهان یافت می‌شوند و نقش‌های فراوانی برای این ترکیبات شناخته شده است. در گیاهان عالی، فلاونوئیدها دفاع در برابر نور ماوراءبنفش، پاتوژن‌ها و علف‌خواران را سبب می‌شوند. نقش ویژهٔ آنها در گیاهان، در ایجاد رنگ و تثبیت نیتروژن در گیاهانی است که دارای زندگی همزیستی‌اند. اثرات سلامت فلاونوئیدها بیشتر در نتیجهٔ خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و توانایی کلات‌کنندگی آنهاست. مطالعات زیادی انجام شده است تا مؤثر بودن فلاونوئیدها را به‌عنوان عوامل ضدّقارچی، ضدّباکتریایی، ضدّویروسی، ضدّاشتعال، آنتی‌اکسیدانت، تعادل‌کنندهٔ ایمنی، بازدارندهٔ آنزیمی و عوامل موتاژنی سمّی به اثبات رساند (Medica et.al. 2004).



شکل ۱: اسکلت عمومی فلاونوئیدها (Markham, 1982)

Archive of SID

www.SID.ir

مطالعات زیادی درزمینهٔ استفاده از فلاونوئیدها در بررسی‌های تنوع درون‌گونه‌ای انجام شده است . ارِتْمَن در سال ۱۹۵۶ ترکیبات فنلی را در افراد گونهٔ .Pinus L مطالعه و از آنها در تاکسونومی و گروه بندی گونه‌ها استفاده کرد.

براساس الگوهای فلاونوئیدی در گونهٔ Astragalus caprinus چهار کموتیپ از این گونه معرفی شد که این کموتیپ‌ها متعلق به شرایط اکولوژیک و اقلیمی متفاوتی بودند (Semmar et.al. 2005). با مطالعات فیتوشیمیایی، تنوع ترکیبات شیمیایی جمعیت‌های گونه Artemisia pedemontana موجود در شرایط اکولوژیک مختلف به اثبات رسید (Perez- Aloso et. al. 2003). همچنین، تنوع ترکیبات شیمیایی در سطح درون‌گونه‌ای (کموتیپ) در جمعیت‌های مختلف گونهٔ Cryptocarya mandioccana (Lauraceae) مشخص شد و بررسی‌ها نشان داد که هریک از این کموتیپ‌ها در زیستگاه‌های مختلف حضور داشتند (Telascrea et. al. 2006). نتایج مطالعات ذکرشده نشان می دهد عوامل اکولوژیک نقش مهمی در ایجاد تنوع درون‌گونه‌ای دارند.

با توجه به اینکه افراد گونهٔ مورد مطالعه دارای گسترش نسبتاً وسیعی در مناطق مورد بررسی بوده، و در زیستگاه‌های مختلف، تحت شرایط اکولوژیک متفاوت قادر به استقرار و بقا هستند، در این بررسی می‌خواهیم مشخص نماییم که آیا افراد این گونه از گَوَن در زیستگاه‌های مختلف تحت شرایط اکولوژیک متفاوت، یکسان‌اند یا دارای تنوع درون‌گونه‌ای هستند؟

به‌منظور تعیین تیپ‌های احتمالی موجود در جمعیت‌های متفاوت گونهٔ گیاهی مورد نظر در چهار استان مورد مطالعه، از بررسی‌های فیتوشیمیایی استفاده شد. با توجه به اهمیت فلاونوئیدها به‌عنوان نشانگرهای ژنتیکی مناسب در روشن نمودن قرابت‌ها و تنوعات درون‌گونه‌ای و بین‌گونه‌ای، از این ترکیبات در بررسی فیتوشیمی استفاده شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱ مواد گیاهی و مناطق جمع‌آوری آنها

مواد گیاهی مورد بررسی در این تحقیق از ۲۹ زیستگاه مختلف از گونهٔ Astragalus gossypinus تحت شرایط اکولوژیک متفاوت، از چهار استان مورد بررسی (همدان، کرمانشاه، کردستان، اراک) جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده، خشک و پِرس شدند و پس از شناسایی در هرباریومِ دانشگاه بوعلی سینا نگهداری شدند. در هر زیستگاه، علاوه بر جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی مورد نظر، عوامل اکولوژیک و ادافیک مختلف از قبیل طول و عرض جغرافیایی زیستگاه، ارتفاع، بافت خاک، جهت شیب، درصد شیب، pH و EC نیز مورد بررسی قرار گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: محل جمع‌آوری جمعیت‌های مختلف گونهٔ **Atragalus gossypinus**

جمعیت	شمارهٔ هرباریومی	محل جمع‌آوری	ارتفاع (متر)
A. gossypinus 9	۷۳۱۸	همدان، نهاوند (گیان نهاوند)	۱۷۶۴
A. gossypinus 10	۷۳۱۹	همدان، نهاوند (گیان نهاوند)	۱۷۵۴
A. gossypinus 11	۷۳۲۰	همدان، نهاوند، روستای کمالوند	۱۷۲۳
A. gossypinus 12	۷۳۲۱	همدان، نهاوند، بین کمالوند و فارسبان	۱۶۹۲
A.gossypinus 13	۷۳۲۲	همدان، نهاوند، روستای فارسبان	۱۶۱۵
A. gossypinus 14	۷۳۲۳	همدان، رزن، روستای قاطر اولن، کوه قره‌داغ	۲۰۲۷
A. gossypinus 15	۷۳۲۴	همدان، رزن، روستای قاطر اولن، کوه قره‌داغ	۲۰۱۵
A. gossypinus 16	۷۳۲۵	همدان، ۱۵ کیلومتری همدان به رزن	۱۷۳۹
A. gossypinus 18	۷۳۲۶	همدان، تویسرکان، روستای شهرستانه	۲۳۰۷
A. gossypinus 19	۷۳۲۷	همدان، تویسرکان، روستای وردآورد وسطا	۲۱۰۳
A. gossypinus 20	۷۳۲۸	همدان، تویسرکان، روستای اشتران	۱۸۹۸
A. gossypinus 21	۷۳۲۹	همدان، سه راه تویسرکان گل‌آباد، روستای مبارکه	۱۸۶۴
A. gossypinus 22	۷۳۳۰	همدان، تویسرکان، سرکان	۲۰۳۳
A. gossypinus 23	۷۳۳۱	همدان، درهٔ مرادبیگ، روستای دیویجین	۲۲۱۳
A. gossypinus 24	۷۳۳۲	همدان، درهٔ مرادبیگ، روستای دیویجین	۲۲۲۰
A. gossypinus 25	۷۳۳۳	کرمانشاه، ۵ کیلومتری صحنه به دهلق	۱۷۷۰
A. gossypinus 26	۷۳۳۴	کرمانشاه، هرسین، بالای بهشت زهرا	۱۸۰۰
A. gossypinus 27	۷۳۳۵	کرمانشاه، بین کرمانشاه و ماهیدشت	۱۷۰۰
A. gossypinus 28	۷۳۳۶	کرمانشاه، بین کرمانشاه و ماهیدشت	۱۷۰۰
A. gossypinus 29	۷۳۳۷	کرمانشاه، روبروی پلیس راه	۱۷۰۰
A. gossypinus 30	۷۳۳۸	کرمانشاه، کوه‌های کرند	۱۸۴۰
A. gossypinus 32	۷۳۴۰	کرمانشاه، کوه‌های کرند، ابتدای سراب کرند	۱۸۰۰
A.gossypinus 33	۷۳۴۰	کرمانشاه، روستای چنگر	۱۷۰۰
A.gossypinus 34	۷۳۴۱	سنندج، ایستگاه تحقیقاتی زاله	۱۶۰۰
A.gossypinus 35	۷۳۴۲	کردستان، ۱۰ کیلومتری سنندج به مریوان	۱۶۸۰
A.gossypinus 36	۷۳۴۳	کردستان، روستای نشور سفلا	۱۶۲۰
A.gossypinus 39	۷۳۴۴	اراک، سنجان، کوه‌های بالای سنجان	۱۹۴۰
A.gossypinus 40	۷۳۴۵	اراک، روستای هفته	۲۰۳۰
A.gossypinus 41	۷۳۴۶	اراک، سه‌راه بازنه	۲۰۰۸

Archive of SID

www.SID.ir

۲ـ۲ آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی به‌منظور استخراج فلاونوئیدها

ابتدا نمونه‌های گیاهی هر جمعیت خشک شد. به دلیل حساس بودن فلاونوئیدها به افزایش دما عمل خشک شدن نمونه‌های گیاهی در دمای پایین و سایه انجام گرفت. سپس برگ‌های خشک‌شدهٔ هر تاکسون جدا شده، در پاکت‌های کاغذی مخصوص به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌های انتخاب‌شده از هر نظر سالم و دور از هر گونه آلودگی قارچی، میکروبی، نکروز و غیره بودند. سپس برگ‌ها خُرد شده، در ظروف پلاستیکی و در دمای $4^{\circ}C$ و دور از رطوبت نگهداری شد.

۳ـ ۲ استخراج گلیکوزید فلاونوئیدها

۲ گرم پودر برگ خشک‌شده از هر نمونهٔ گیاهی در یک شیشهٔ درپوش‌دار با ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۷۰٪ در دو مرحلهٔ ۱۲ ساعتی استخراج شد. عمل استخراج در دمای اتاق و روی همزن مغناطیسی انجام گرفت. پس از ۲۴ ساعت هر دو عصاره مخلوط و با کمک یک قیف بوخنر فیلتر شد. تقریباً دو سوم حجم محلول حاصل به‌نحوی‌که بیشتر الکل حذف شده باشد، تبخیر شد. به عصارهٔ آبی ۵۰ میلی‌لیتر آب جوش اضافه کرده، سپس هم‌حجم عصارهٔ آبی حاصله، به آن اتیل استات اضافه شد. محلول دوفازی‌شدهٔ حاصل وارد قیف جداکننده شد. در این حالت فاز اتیل‌استاتی در بالا و فاز آبی در پایین قرار خواهد گرفت و فلاونوئیدها وارد فاز اتیل‌استاتی می‌شوند. مجدداً فاز آبی جدا شده، هم‌حجم آن اتیل استات اضافه شد. این عمل ۱تا ۳ بار تکرار شد تا فلاونوئیدها به‌طور کامل استخراج شوند. فاز اتیل‌استاتی استخراج‌شده حاوی حجم عمده‌ای از فلاونوئید گلیکوزیدها بوده که تا حد خشکی تبخیر شد و در نهایت در ۲ـ۳ میلی‌لیتر متانول مطلق حل شده، برای جداسازی به روش TLC مورد استفاده قرار گرفت (هدیه‌لو، ۱۳۸۳).

۴ـ۲ کروماتوگرافی به روش TLC

در این تحقیق از صفحات آمادهٔ 25 Feuilles d aluminium CCM (20×20) Gel de silice 60 F_{254} (Merck) استفاده شد. این صفحات پس از لکه‌گذاری با سرنگ هامیلتون در تانک‌های مخصوص کروماتوگرافی محتوی ۴۰ـ۶۰ میلی‌لیتر فاز متحرک قرار داده شدند. کروماتوگرافی به روش صعودی انجام گرفت و زمانی‌که جبههٔ حلّال حدود ۱۴ cm از محل لکه‌گذاری (مبدأ) بر روی صفحات پیشروی کرد آنها را از تانک خارج نموده، نحوهٔ جداسازی مواد، تعداد نوارها و لکه‌های تشکیل‌شده و همچین رنگ آنها در نور مرئی و UV-366nm قبل و بعد از اسپری نمودن با معرف‌ها مطالعه شد. R_f هریک از لکه‌ها نیز به روش زیر محاسبه گردید:

$$R_f = \frac{\text{فاصلهٔ لکه از مبدأ}}{\text{فاصلهٔ جبههٔ حلّال از مبدأ}}$$

برای مطالعهٔ مقایسه‌ای فلاونوئیدهای برگ، در جمعیت‌های گونهٔ مورد مطالعه به روش کروماتوگرافی یک‌بُعدی، از حلّالهای مختلف استفاده شد که در جدول ۲ آورده شده است. در نهایت حلّالی که به‌طور نسبی برای گونهٔ مورد مطالعه تفکیک مناسبی را ارائه نمود انتخاب گردید. تفکیک

Archive of SID

www.SID.ir

عصاره‌های گلیکوزیدی فلاونوئیدها به کمک فاز متحرک BAW (**بوتانول نرمال ـ استیک استیک ـ آب مقطر ۴:۱۵**) حاصل شد. بعد از خاتمهٔ کروماتوگرافی، هریک از کروماتوگرام‌ها با معرف دی فنیل بوریک اسید اتانول آمین استر اسپری شدند. بعد از خشک شدن، رنگ و Rf لکه‌های ایجادشده در نور سفید و UV- 366 nm مورد بررسی قرار گرفتند (Medica-Saric et.al. 2004).

جدول ۲: نام و ترکیب مجموعه‌ای از حلّالها که به‌عنوان فاز متحرک در تجربیات TLC به‌کار برده شده است (Markham, 1982; Wagner & Bladt, 1996).

نام حلال	ترکیب حلال	کاربرد
BAW	**بوتانول نرمال ـ استیک استیک ـ آب مقطر (۴:۱:۵) پس از مخلوط کردن سریع در یک دکانتور ریخته و فاز بالایی استفاده شد**	**مناسب برای جداسازی گلیکوزیدهای و آگلیکوزیدها**
EFAW	**اتیل استات ـ فرمیک اسید ـ استیک اسید گلاسیال ـ آب مقطر (۲۶:۱۱:۱۱:۱۰۰)**	**تفکیک گلیکوزیدها**
TBA	**tert ـ بوتانول ـ استیک اسید گلاسیال ـ آب مقطر (۱:۱:۳)**	**تفکیک مناسب آگلیکوزیدها و گلیکوزیدها**
Forestal	**کلریدریک اید غلیظ ـ استیک اسید گلاسیال ـ آب مقطر (۱۰:۳۰:۳)**	**جداسازی فلاوون و فلاوونول آگلیکون‌ها**
AcOH 50%	**استیک اسید گلاسیال ـ آب مقطر (۱:۱)**	**تفکیک آگلیکون‌ها**
AcOH 15%	**استیک اسید گلاسیال ـ آب مقطر (۸۵:۱۵)**	**تشخیص منو، دی و تری گلیکوزیدها**
AcOH 2%	**استیک اسید گلاسیال ـ آب مقطر (۴۹:۱)**	**مناسب برای تشخیص پلی گلیکوزیدها و اسیدهای فنلی**
H_2O	**آب مقطر**	**مناسب برای تشخیص O و C - گلیکوزیدها**

۳ـ آنالیز داده‌ها

در این مرحله، ابتدا حضور یا غیاب لکه‌های مشاهده‌شده روی کروماتوگرام مربوط به کروماتوگرافی لایه‌نازک یک‌بُعدی، برای جمعیت‌های مختلف گونهٔ مورد مطالعه به‌دست آمد. سپس با استفاده از نرم‌افزار (SPSS ver 10) و به روش‌های WARD و PCA و همچنین نرم‌افزار MVSP به روش UPGMA، آنالیزداده‌های فیتوشیمیایی انجام شد. آنالیز داده‌های اکولوژیکی هم با استفاده از نرم‌افزار MVSP با روش CCA انجام شد.

۴ـ نتایج

۱ـ۴ نتایج حاصل از مطالعات فلاونوئیدی

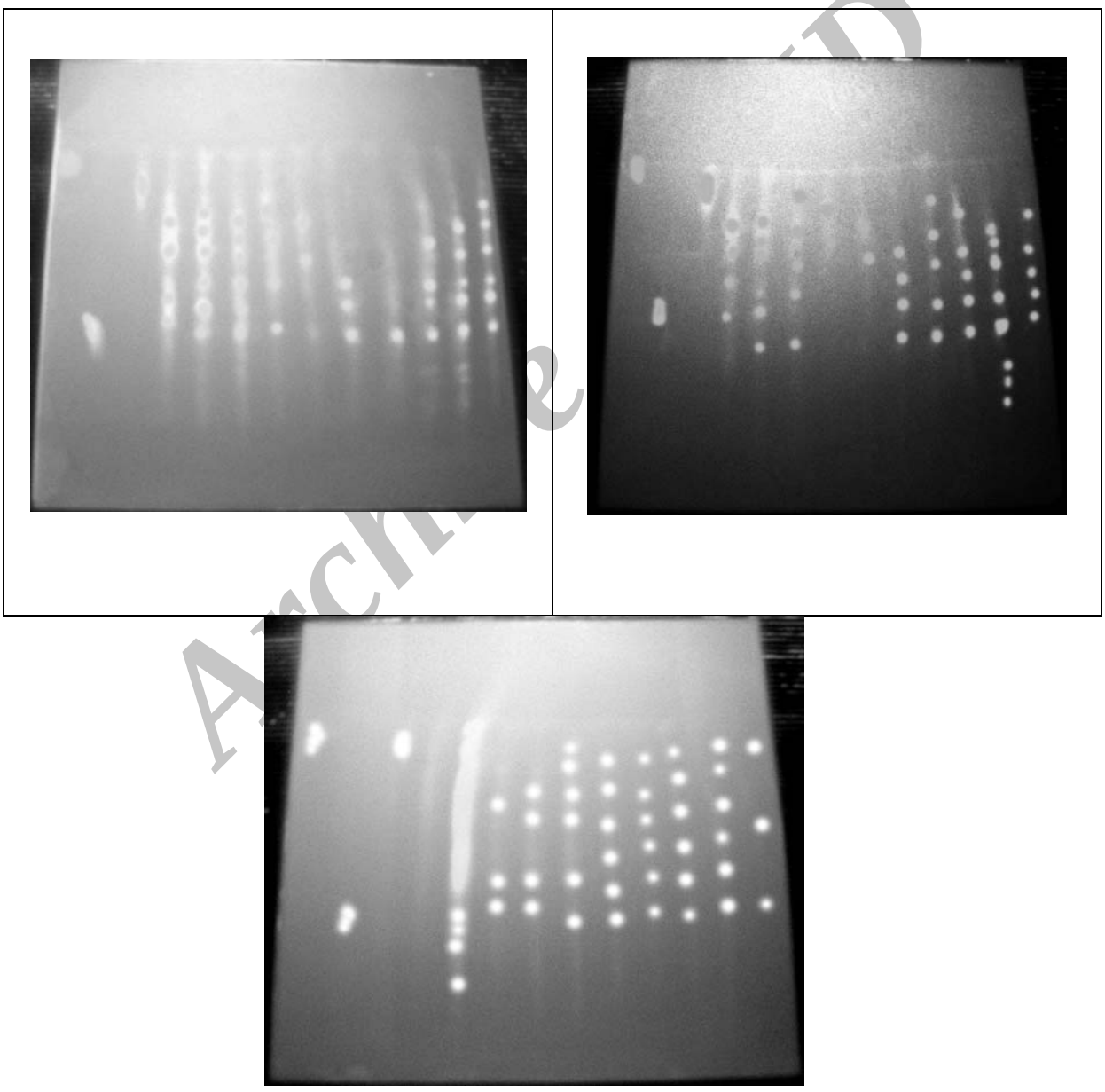
مطالعات فلاونوئیدی به‌منظور تعیین سطح و نوع تنوع درون‌گونه‌ای انجام شد. TLC یک‌بُعدی ۲۹ جمعیت از گونهٔ Astragalus gossypinus در حلّال‌های مختلف (جدول

Archive of SID

www.SID.ir

شماره ۲) انجام گرفت که در بین کلیهٔ حلّال‌ها، حلّال BAW بهترین کروماتوگرام (بهترین حالت تفکیک لکه‌های فلاونوئیدی) را حاصل نمود. کروماتوگرام‌های به‌دست‌آمده، نوارها و لکه‌های فلاونوئیدی مختلف را با کیفیت متفاوت در افراد گونهٔ Astragalus gossypinus نشان داد. باندهای مختلف فلاونوئیدی و R_f آنها اندازه گیری شد که نتایج آن در جدول ۳ شرح داده شده است.

آنالیز داده‌های فلاونوئیدی چند گروه را نشان داد (شکل ۴). گروه‌های به‌دست‌آمده از نتایج فلاونوئیدی، تنوع درون‌گونه‌ای را در حد تنوع ترکیبات شیمیایی (کموتیپ) نشان می‌دهد. مطابق این نتایج می‌توان گروه‌های مختلف فلاونوئیدی را برای گونهٔ Astragalus gossypinus در غرب ایران معرفی کرد. این گروه‌ها از لحاظ کمیّت، کیفیت و R_f باندهای فلاونوئیدی متفاوت‌اند.



شکل شماره ۲: کروماتوگرام‌های حاصل از TLC یک‌بُعدی عصارهٔ فلاونوئید گلیکوزیدی برگ جمعیت‌های مختلف گونهٔ Astragalus gossypinus در حلّال BAW

Archive of SID

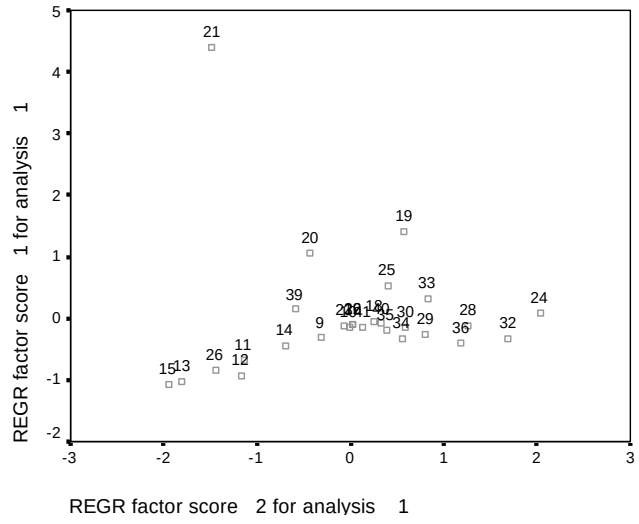
www.SID.ir

جدول شماره ۳: حضور و عدم حضور لکه‌های فلاونوئیدی روی کروماتوگرام حاصل از TLC یک‌بُعدی مربوط به برگ جمعیت‌های مختلف گونهٔ Astragalus gossypinis

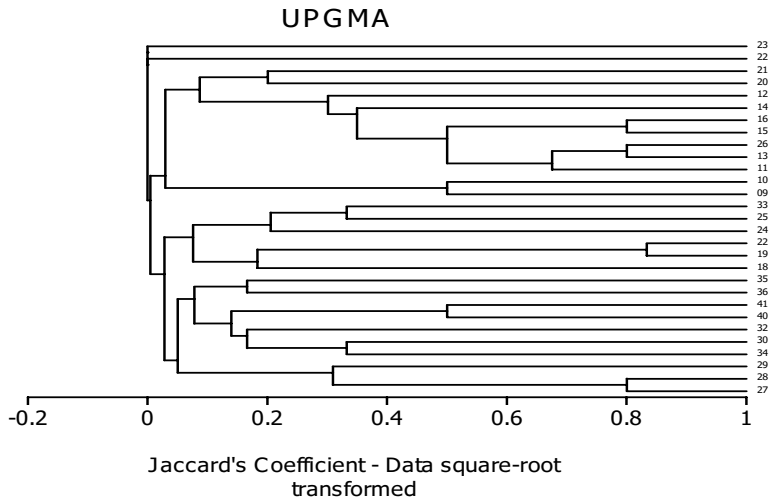
R_f	0009	0010	0011	0012	0013	0014	0015	0016	0018	0019	0020	0021	0022	0023	0024	0025	0026	0027	0028	0029	0030	0032	0033	0034	0035	0036	0039	0040	0041
۰۷,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
10.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
12.8	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
14.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
16.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0		
17.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
21.4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
22.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0		
25.0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0		
26.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
30.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
31.0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
32.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0		
35.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0		
37.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0		
38.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
42.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
42.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0		
44.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
46.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0		
47.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1		
49.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
50	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
50.7	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
53.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0		
54.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
57.1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
59.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
60.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
64.2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
70.0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
72.8	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0		
75.0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0		
76.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
77.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
77.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
82.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
92.8	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
96.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳: رسته‌بندی داده‌های فلاونوئیدی گونهٔ Astragalus gossypinus به روش PCA

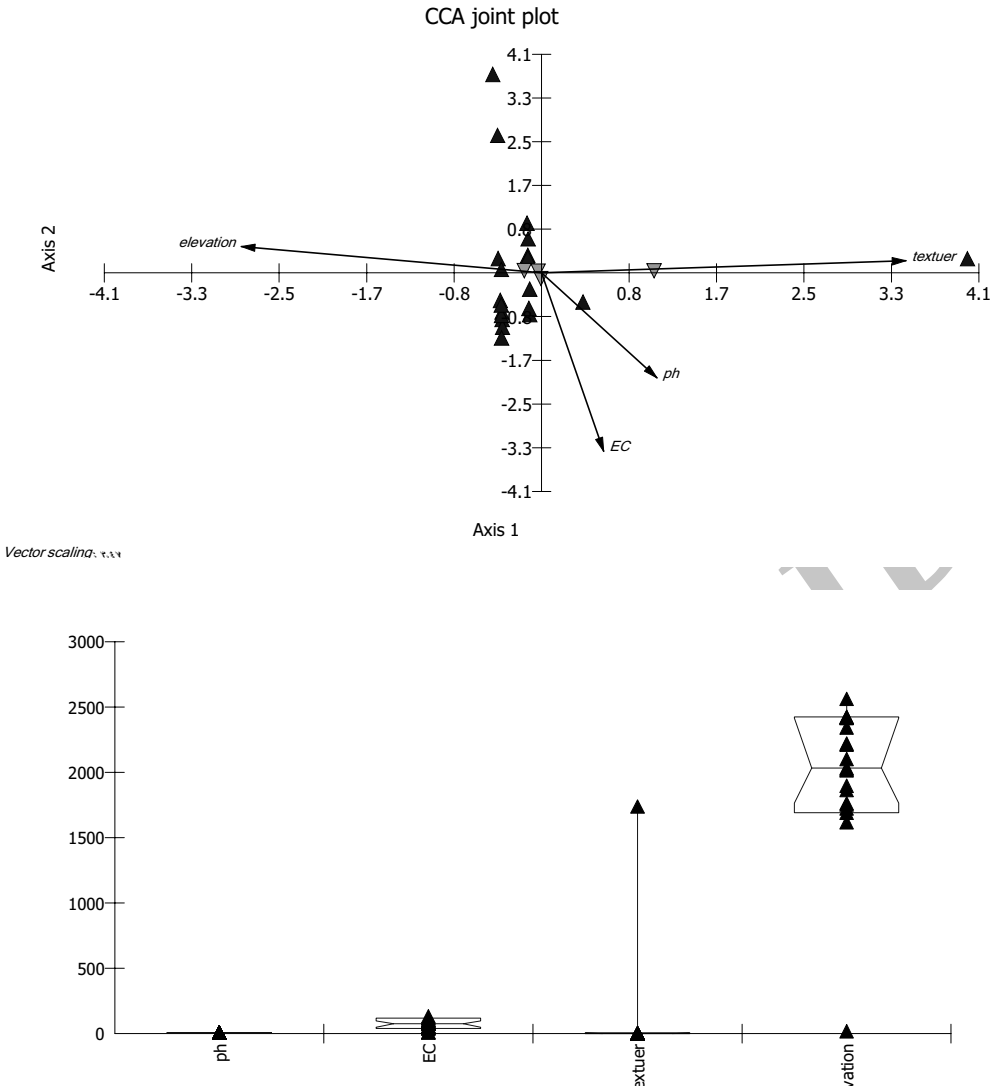


شکل ۴: دندروگرام حاصل از تجزیهٔ خوشه‌ای مطالعات گلیکوزیدی فلاونوئیدها به روش UPGMA با ضریب Jaccard در جمعیت‌های مختلف گونهٔ Astragalus gossypinus

۲ـ۴ نتایج حاصل از آنالیز داده‌های اکولوژیک

از بین عوامل اکولوژیک مورد مطالعه شامل طول و عرض جغرافیایی زیستگاه، ارتفاع، بافت خاک، جهت شیب، درصد شیب، pH و EC، برخی عوامل از قبیل ارتفاع، بافت خاک، EC و pH آنالیز شدند. نتایج حاصل از آنالیز این عوامل نشان داد از بین آنها عامل ارتفاع نقش بسیار مهمی در جدایی گروه‌های مختلفِ به‌دست‌آمده دارد. همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده است، عامل ارتفاع به‌عنوان مهم‌ترین عامل اکولوژیک در بین عوامل مورد مطالعه در دسته‌بندی زیستگاه‌ها مؤثر است.

www.SID.ir



شکل ۵: نتایج حاصل از آنالیز داده‌های اکولوژیک زیستگاه‌های دارای گونهٔ Astrgalus gossypinus به روش CCA

۵ـ بحث و نتیجه‌گیری

اثر فاکتورهای اقلیمی در سازمان‌دهی سطوح مختلف در سامانه‌های زیستی مشاهده شده است. افراد یک گونه به‌عنوان واحدهای اصلی یک اکوسیستم هستند که به تغییرات اقلیمی پاسخ می‌دهند. فاکتورهای اکولوژیک اثر مهمی روی ترکیب رُستنی‌ها و ریختارهای گیاهی در یک منطقه دارند. هر گونه تغییر در فاکتورهای اکولوژیک می تواند به تغییراتی در ترکیب رُستنی‌ها یا حتی ریختار گیاهی منجر گردد. بنابراین، تنوع زیستی، نتیجهٔ پاسخ افراد یک اکوسیستم به شرایط مختلف محیطی است و آن می‌تواند به شکل‌های ژنوتیپ، فنوتیپ یا کموتیپ و حتی زیرگونه تجلی یابد و یا به گونه‌زایی منجر شود. مطالعات زیادی به‌منظور تعیین تنوع درون و بین‌گونه‌ای انجام گرفته که از جملهٔ آنهاست: Turesson, 1922; Mooney & Billings,) 1959; Bernhrdi, 2004; .Perez-Alonso, 2003; Koch (Semmar et.al. 2005; Telascrea et.al. 2006).

بیشتر این مطالعات تنوع درون و بین‌گونه‌ای را در سطح فنوتیپ، اکوتیپ، کموتیپ و نشان می‌دهند. همهٔ این مطالعات نشان می‌دهند که

www.SID.ir

عوامل اکولوژیک مختلف در زیستگاه‌های متفاوت می‌تواند تغییراتی از قبیل تغییرات مورفولوژیکی، سیتولوژیکی، فیزیولوژیکی و غیره در گیاهانی با گسترش وسیع به وجود آورد. بررسی‌های انجام‌شده توسط محققان نشان می‌دهد که گونه‌هایی که می‌توانند در زیستگاه‌های مختلف با شرایط اکولوژیک و فلوریستیک متفاوت حضور داشته باشند، دارای دامنهٔ انتشار وسیعی هستند. بنابراین، حضور این گونه‌ها در چنین شرایطی نشان‌دهنده خوپذیری یا تطابق بالای این گیاهان نسبت به شرایط متفاوت اکولوژیک است.

ازسوی دیگر، در بررسی گونه‌های گیاهی باید در نظر داشت که هیچ گونه گیاهی در هیچ زیستگاهی به‌طور تصادفی بقا نمی‌یابد. با توجه به اینکه هر زیستگاهی دارای ترکیبی از عوامل بوم‌شناختی ویژهٔ خود است، براثر عوامل اکولوژیک خاص حاکم بر آن، ترکیب گونه‌ای ویژه‌ای را می‌پذیرد. بنابراین نقش و اهمیت عوامل اکولوژیک روی ترکیب رُستنی‌ها و روابط دوجانبهٔ آنها در یک زیستگاه مشخص می‌شود. پس تنوع و تغییر عوامل اکولوژیک و تأثیر پدیده‌هایی چون برهم‌کنش و جایگزینی عوامل اکولوژیکی، باعث به وجود آمدن شرایط اکولوژیک مختلف و در نتیجه ایجاد زیستگاه‌های متفاوت در یک منطقه می‌شود. پس برای بررسی و پی بردن به وجود تنوع در زیستگاه‌های متفاوت یک منطقه لازم است معیارهای اکولوژیک نیز به کار برده شود. بر همین اساس سعی شد تا در بررسی و تعیین تنوع زیستی، به‌صورت تنوع درون‌گونه‌ای، در گونهٔ Astragalus gossypinus از معیار اکولوژیک نیز در مرحلهٔ جمع‌آوری داده‌های گیاهی استفاده شود. مطالعهٔ انجام‌شده نشان داد افراد گونهٔ Astragalus gossypinus در زیستگاه‌های مورد مطالعه دارای تنوع شیمیایی درون‌گونه‌ای هستند. به‌عبارت‌دیگر، عوامل اکولوژیک مختلف اثرات مهمی در ایجاد تنوع درون‌گونه‌ای دارند، اما همهٔ عوامل تأثیرات مشابه ندارند. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد در این مطالعه، از بین عوامل اکولوژیک مختلف، عامل ارتفاع به‌عنوان مهم‌ترین عامل اکولوژیک در ایجاد تنوع شیمیایی است. نتایج حاصل از بررسی فلاونوئیدهای برگ جمعیت‌های مختلف گونهٔ Astragalus gossypinus و چگونگی الگوی پراکندگی لکه‌های فلاونوئیدی بر روی صفحات TLC مربوط به جمعیت‌های مختلف این گونه نشان داد که تفاوتهای فراوانی در الگوی پراکندگی لکه‌های فلاونوئیدی افراد مختلف این گونه مشاهده می‌شود، که تفاوت در کمیّت و کیفیت لکه‌های فلاونوئیدی افراد مختلف این گونه بیانگر وجود تفاوت ترکیبات فیتوشیمیایی (فلاونوئیدها)، در جمعیت‌های مختلف این گونه است. آنالیز حاصل از داده‌های فیتوشیمیایی و بررسی گروه‌های به‌دست‌آمده از دندروگرام حاصل از روش WARD و UPGMA نیز گروه‌بندی‌ای را ارائه داد که وجود تنوع درون‌گونه‌ای آن را به‌خوبی تأیید کردند.

بنابراین، به نظر می‌رسد الگوهای فنلی و متابولیت‌های فلاونوئیدی، به‌عنوان مارکرهایی مناسب در جهت درک روند تنوع زیستی به شکل تنوع درون‌گونه‌ای ـ که در نتیجهٔ شرایط مختلف ژئوگرافیک و اکولوژیک به وجود آمده‌است ـ هستند.

منابع

هدیه‌لو، مریم (۱۳۸۳)، *بررسی کموتاکسونومیک جنس خلر (Lathyrus) در ایران*، پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد علوم گیاهی دانشگاه بوعلی سینا، همدان؛

Archive of SID

www.SID.ir

Judd, W.et.al. (1999), "Plant Systematics", phylogenetic approach. Sinauer association, Inc. Sunderland, Mssachusetts, USA, 45-92;

Koch, M. and K.G. Bernhardt (2004). "Comparative Biogeography of the Cytotypes of Annual Microthlaspi perfoliatum (Brassicaceae) in Europe using isozymes and cpDNA data: refugia, diversitr centers, and postglacial colonization. *American J of Bot*. 91(1): 115-124;

Markham, K. R. (1982), *Techniques of Flavonoid Jdentification*, London, Academic press;

Medica-Saric, M. et. al. (2004), "Optimizationof chromatography of flavonoids and phenolic acids", *Croatica chemical acta*, CCACAA: 77(1-2): 361-366;

Mooney, H.A. and W.D. Billings, (1959), "Comparative physiological ecology of arctic and alpine populations of Oxyria digyna", *Ecological monographs*. 31: 1-29;

Perez-Alonso M.J. et.al. (2003), Variations in the essential oil composition of Artemisia pedemontana gathered in Spain: chemotype camphor-1,8- cineole and chemotype davanone", *Biochem. Syst. Ecol*. 31: 77-84;

Semmar, N. et.al. (2005), "Chemotaxonomic analysis of Astragalus caprinus (Fabaceae) based on the flavonic patterns", *Biochemical Systematics and ecology*b: 33 (2005):187-200;

Telascrea, M.et.al. (2006), "Essential oil from leaves of Cryptocarya mandioccana Meisner (Lauraceae): Composition and intraspecific chemical variability, *biochem. Syst. Ecol*. 20: 1-11;

Turesson, G. **(1922),** "The species and variety as ecological units", *Hereditas*, 3: 100-113;

Wagner, H. and SBladt, **(1996)**. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*, Springer Germany.■

Archive of SID

www.SID.ir