

تغییرات عملکرد کمی و میزان هیپریسین توده‌های مختلف گیاه دارویی هوفاریقون

حسنعلی نقدی بادی^{۱*}، سیدعلی ضیایی^۲، محمدحسین میر جلیلی^۳، مریم اهوازی^۴،
فرحناز خلیقی سیگارودی^۵، بهنام حبیبی خانیانی^۱، ابوالفضل فراهانی^۶

- ۱- مربی پژوهش کشاورزی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، تهران
 - ۲- استادیار پژوهش فارماکوژی، گروه پژوهشی فارماکولوژی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، تهران
 - ۳- مربی گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی
 - ۴- دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهشناسی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
 - ۵- دستیار فارماکوگنوزی و عضو هیات علمی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
 - ۶- کارشناس ارشد شیمی، مرکز تحقیقات محیط زیست، تهران
- * آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب اسلامی، خیابان قدس، خیابان بزرگمهر غربی، شماره ۹۷
صندوق پستی: ۱۴۴۶-۱۳۱۴۵، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
تلفن: ۶۴۶۲۱۷۹، ۶۹۵۰۴۴۷، (۰۲۱) ۶۴۶۵۵۵۴ (۰۲۱)
پست الکترونیک: naghdibadi@yahoo.com و naghdi@imp.ac.ir

چکیده

هوفاریقون با نام علمی *Hypericum perforatum* L. یک گیاه دارویی ارزشمند و دارای ترکیبات موثر بیولوژیکی مختلفی از جمله هیپریسین می‌باشد. هیپریسین دارای اثرات اصلی نظیر ضدافسردگی، ضدویروسی و ضدباکتریایی است که سبب استفاده و تولید گسترده این گیاه شده است. با توجه به اینکه ژنتیک (توده) و محیط دو فاکتور مهمی هستند که روی عملکرد و میزان ترکیبات موثر گیاه هوفاریقون تاثیر دارند و همچنین در بانک ژن پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، بذور ۵ توده مختلف موجود بود ضروری به نظر می‌رسید که در زمینه شناخت توده برتر و نقش ژنتیک و شرایط محیطی روی عملکرد کمی و میزان هیپریسین مطالعه‌ای انجام شود.

این تحقیق طی سال‌های ۱۳۷۸ لغایت ۱۳۸۱ در مزرعه تحقیقاتی گروه پژوهشی کشت و توسعه پژوهشکده گیاهان دارویی واقع در کیلومتر ۱۶ اتوبان کرج- قزوین به اجرا در آمد. این آزمایش به صورت تجزیه مرکب طرح اسپلٹ پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد و طی آن، عملکرد ماده تر و خشک، ارتفاع و قطر بوته و همچنین میزان هیپریسین اندام هوایی گیاه در مرحله گل‌دهی کامل اندازه‌گیری و ثبت گردید.

نتایج نشان داد که ژنتیک (توده) بر عملکرد وزن تر ($p < 0/05$) و همچنین بر ماده خشک، ارتفاع بوته و قطر بوته ($p < 0/01$) از نظر آماری تاثیر معنی‌داری داشت ولی این تاثیر روی میزان هیپریسین معنی‌دار نبود. البته، میزان هیپریسین تحت تاثیر سال یا شرایط محیطی ($p < 0/01$) قرار گرفت. بنابراین ژنتیک و شرایط محیطی به ترتیب نقش اصلی را در تولید اندام دارویی و کیفیت این گیاه (میزان هیپریسین) دارند و دو فاکتور کلیدی در تولید اقتصادی آن هستند.

کلواژگان: هوفاریقون، هیپریسین، توده، شرایط محیطی

مقدمه

میزان هیپریسین (۰/۰۳ تا ۰/۱۲۴ درصد)، پسودوهیپریسین (۰/۰۴۹ تا ۰/۲۴۷ درصد)، روتین (۰/۱۹۵ تا ۰/۹۴۱ درصد)، هیپروزید (۱/۰۵۱ تا ۱/۷۱۱ درصد)، کوئوسیتین (۱/۲۵۸ تا ۲/۰۳۸ درصد) و کامفرول (۰/۱۹۲ تا ۰/۳۴۳ درصد) وجود دارد. در این تحقیق بین میزان نفتودیانترون‌ها و تیپ مرفولوژی گیاه *H. perforatum* رابطه قابل توجهی مشاهده شد. در گل‌های گیاهان با تیپ مرفولوژی برگ باریک، متوسط میزان هیپریسین، برابر ۰/۰۵۴ درصد بوده درحالی‌که در گیاهان حدواسط و برگ پهن به ترتیب برابر ۰/۰۷۷ و ۰/۰۹۷ درصد بوده است [۱۰].

هوفاریقون گیاهی است که کشت آن در سال‌های اخیر رو به افزایش است و در زمینه شناخت توده‌های برتر این گیاه (به‌خصوص از نوع زراعی آن) مطالعات اندکی در جهان انجام شده است. در ایران در این زمینه مطالعه‌ای تاکنون انجام نشده است. از آنجا که در بانک ژن پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی ۵ نوع توده از مراکز تحقیقاتی مختلف جمع‌آوری شده بود، ضروری به نظر می‌رسید که در زمینه شناخت توده برتر از نظر عملکرد ماده خشک و ترکیب موثر اصلی آن - هیپریسین - در شرایط منطقه مطالعه‌ای انجام شود. همچنان‌که این گیاه یک گونه دارویی دایمی است و معمولاً برای ۲ تا ۳ سال (و گاهی بیشتر) در مزرعه کشت می‌شود، در این تحقیق، آزمایش به‌صورت ۳ ساله انجام شد و تاثیر ژنتیک (توده) روی عملکرد کمی (ماده خشک) و کیفی (میزان هیپریسین) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

۱- مشخصات منطقه

این تحقیق در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی واقع در مجتمع تحقیقاتی جهاددانشگاهی (هلجرد- کرج) در ۱۶ کیلومتر اتوبان کرج- قزوین با طول جغرافیایی ۵۸' و ۵۰° و عرض جغرافیایی ۳۵' و ۵۶° به اجرا در آمد. این منطقه دارای آب و هوای مدیترانه‌ای با تابستان‌های گرم و خشک و زمستان‌های نسبتاً سرد می‌باشد. حداقل درجه حرارت سالانه در ماه‌های دی و بهمن و بیشترین تعداد روزهای یخبندان در این دو ماه بوده در حالی‌که حداکثر درجه حرارت هوا در تیر و مرداد مشاهده می‌شود. متوسط دمای سالیانه منطقه حدود ۱۳/۲۱ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. ارتفاع مزرعه از سطح دریا ۱۵۰۰ متر است.

۲- مشخصات خاک محل اجرای طرح

خاک مزرعه طرح دارای بافت شنی-رسی-لومی بوده و مشخصات خاک مزرعه تا عمق ۳۰ سانتی‌متر در جدول شماره ۱ آمده است.

هوفاریقون، علف‌چای، هزارچشم یا گل راعی با نام علمی *Hypericum perforatum L.* اسامی انگلیسی St. John's wort و Goatweed یک گیاه دارویی ارزشمند از خانواده هوفاریقون (Hypericaceae یا Clusiaceae) است که بومی اروپای غربی، شمال آفریقا، و آسیا می‌باشد [۱، ۲، ۳، ۴، ۵]. هوفاریقون یکی از گیاهان دارویی است که جامع‌ترین تحقیقات روی آن، در اروپای غربی انجام شده است [۶]. عصاره این گیاه محتوی ترکیبات متنوعی است که مسؤول اثر فارماکولوژی آن هستند که از آنها می‌توان به نفتودیانترون‌ها (هیپریسین و پسودوهیپریسین)، هیپرفورین، هیپروزید، روتین، کوئوسیتین و بی‌آپی‌جین اشاره نمود. همچنین هیپریسین به عنوان یک ترکیب کلیدی برای تعیین و ارزیابی کیفیت هوفاریقون مطرح است [۷]. خاصیت درمان افسردگی خفیف توسط این گیاه، اهمیت آن را به‌طور قابل توجهی افزایش داده است و سبب شده تا کشت مزرعه‌ای آن در اروپای غربی طی سال‌های اخیر افزایش یابد [۸، ۶]. توده (ژنتیک) روی عملکرد دارویی و میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه هوفاریقون تاثیر دارد و ژنوتیپ یک فاکتور کلیدی برای کشت موفق و اقتصادی این گیاه می‌باشد [۶]. هوفاریقون از نظر نوع متابولیت ثانویه ثبات داشته و اختلافی از نظر وجود یا عدم وجود متابولیت‌های ثانویه در آن مشاهده نشده است. ولی نوسان میزان ترکیبات آن زیاد بوده و این ترکیبات در تیپ‌های مختلف با مقادیر متفاوت مشاهده می‌شود. تغییر در کمیت هر ترکیب احتمالاً بستگی به پراکنش طبیعی آن دارد و میزان ترکیبات شیمیایی (هیپریسین، پسودوهیپریسین، روتین، هیپروزید، کوئوسیتین و کامفرول) بین جمعیت‌ها متفاوت بوده و بین میزان نفتودیانترون‌ها و تیپ مرفولوژی گیاه رابطه قابل توجهی وجود دارد [۹، ۱۰]. در تحقیقی بر روی توده‌های مختلف گیاه هوفاریقون در شرایط مزرعه‌ای مشخص شد که توده و منطقه روی میزان ترکیبات آن تاثیر دارد. توده روی همه ترکیبات به استثنای بی‌آپی‌جین و هیپرفورین تاثیر دارند. به‌خصوص میزان هیپریسین و پسودوهیپریسین و همین‌طور فلاونوئید روتین شدیداً تحت تاثیر ژنتیک هستند. به‌طور کلی، ژنتیک (توده) روی عملکرد گیاه و همچنین روی متابولیت‌های ثانویه هوفاریقون اثر دارد و اثر متقابل منطقه و توده بر عملکرد ماده خشک گل و گیاه بسیار معنی‌دار و بسته به منطقه و نوع توده متفاوت می‌باشد [۶].

نتایج یک تحقیق دیگر در لیتوانی نشان می‌دهد که اختلافات قابل توجهی در میانگین ارتفاع گیاهان، تعداد میانگره، طول و عرض گلبرگ، وزن گل‌ها، برگ‌ها، ساقه‌ها و وزن مواد خام دارویی در میان جمعیت‌ها وجود دارد. همچنین مشاهده گردید که در جمعیت‌های طبیعی *H. perforatum*، مقدار تنوع زیادی در

جدول شماره ۱ - مشخصات شیمیایی و فیزیکی مزرعه طرح

۳۱	درصد اشباع (S.P.)
۱/۲	هدایت الکتریکی ($EC \times 10^3 ds/m$)
۷/۹	اسیدیته کل اشباع (pH of paste)
۸	درصد مواد خنثی شونده (%T.N.V.)
۰/۲۱۰	کربن آلی (%O.C)
۶/۹	فسفر قابل جذب P(ava.) p.p.m.
۲۲۴	پتاسیم قابل جذب K(ava.) p.p.m.
S-C-L	بافت خاک (Texture)

۳- عملیات زراعی

عملیات زراعی طرح با شخم مزرعه در پاییز ۱۳۷۸ شروع شد و تا پاییز ۱۳۸۱ با برداشت آخر از مزرعه به پایان رسید. به عبارت دیگر، این تحقیق در سه سال زراعی به اجرا درآمد. البته در سال اول کاشت، بوته‌های مزرعه از رشد چندانی برخوردار نبودند و حالت خزنده داشتند و برداشت انجام نگردید و نمونه‌برداری از مزرعه در سال دوم و سوم انجام شد.

مزرعه طرح در پاییز ۱۳۷۸ دوبار به طور عمود برهم شخم زده شد و براساس آنالیز خاک، در اوایل فروردین ۱۳۷۹ به میزان ۳۰ تن کود دامی پوسیده، ۱۰۰ کیلوگرم P_2O_5 به فرم فسفات آمونیوم، ۵۰ کیلوگرم K_2O به فرم سولفات پتاسیم و ۵۰ کیلوگرم ازت به فرم اوره در هکتار به طور یکنواخت روی زمین پخش و توسط دیسک با خاک مخلوط گردید. البته کود ازت به صورت سرک در سال‌های بعد در شروع هر فصل رشد (اوایل فروردین ماه) به میزان ۵۰ کیلوگرم ازت خالص در هکتار به فرم اوره به مزرعه داده شد.

توده‌های مختلف موجود در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی به روش تقسیم بوته، تکثیر و در تاریخ ۱۳۷۹/۲/۱۴ به مزرعه اصلی منتقل شدند. کشت به روش شیاری روی ردیف‌های به فواصل ۵۰ سانتی‌متر و با فواصل ۳۰

سانتی‌متر روی هر ردیف انجام و مزرعه بلافاصله پس از کاشت آبیاری گردید. آبیاری‌های بعدی برحسب نیاز انجام و علف‌های هرز مزرعه توسط وجین با دست کنترل شد.

این آزمایش به صورت طرح اسپیلت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و دو فاکتور توده (فاکتور اصلی) و برداشت (فاکتور فرعی) اجرا گردید. همچنین در پایان تجزیه مرکب آزمایشات در دو سال انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از برنامه آماری Mstac و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد.

۴- یادداشت‌برداری و نمونه‌برداری

از آنجا که بهترین زمان برداشت، مرحله گل‌دهی کامل هوفاریقون است به محض اینکه تیمارها به مرحله گل‌دهی کامل رسیدند برداشت انجام شد. تاریخ گل‌دهی و نمونه‌برداری از تیمارها (توده‌ها) در جدول شماره ۲ آمده است.

در این تحقیق، عملکرد ماده تر و خشک در واحد سطح، قطر و ارتفاع بوته توده‌ها در مرحله گل‌دهی اندازه‌گیری و ثبت گردید. در ضمن، فاکتورهای فوق‌الذکر روی ۵ بوته اندازه‌گیری و سپس میانگین آن به عنوان شاخص هر کرت منظور شد.

جدول شماره ۲- مشخصات توده‌های هوفاریقون مورد مطالعه

برداشت (سال ۸۱)		برداشت (سال ۸۰)		منشای بذر	توده
دوم	اول	دوم	اول		
۸۱/۵/۱۹	۸۱/۳/۷	۸۰/۸/۸	۸۰/۲/۱۸		H1 ایران
۸۱/۸/۷	۸۱/۳/۷	۸۰/۸/۸	۸۰/۳/۳		H2 (انگلیس) The University of Oxford Botanic Garden
۸۱/۸/۷	۸۱/۴/۱۵	۸۰/۸/۸	۸۰/۵/۱		H3 Hortus Botanicus Instituti Plantarum Medicinalum, Budakalasz, Hungaria (مجارستان)
۸۱/۸/۷	۸۱/۴/۱۵	۸۰/۸/۸	۸۰/۵/۱		H4 Hortus Botanicus Instituti Plantarum Medicinalum, Budakalasz, Hungaria (مجارستان)
۸۱/۸/۷	۸۱/۴/۱۵	۸۰/۸/۸	۸۰/۵/۱		H5 Botanischer Garten Universitat Zurich Switzerland (سوئیس)

نتایج و بحث

نتایج نشان می‌دهد که توده‌ها از نظر عملکرد ماده تر و خشک به ترتیب در سطح آماری ۵ و ۱ درصد تفاوت معنی‌داری داشتند ولی در مورد میزان هیپریسین از نظر آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول شماره ۳). بنابراین ژنتیک (توده) نقش اصلی را در عملکرد ماده تر و خشک دارا بوده که با یافته‌های بوت‌ر و همکاران در خصوص نقش اساسی توده در عملکرد ماده خشک تطابق دارد، هر چند آنها گزارش کرده‌اند که میزان هیپریسین تحت تأثیر توده (ژنتیک) قرار دارد [۶] ولی در این تحقیق چنین روندی مشاهده نشد.

سال (شرایط محیطی) روی میزان عملکرد ماده تر و خشک تأثیر معنی‌داری نداشته ولی روی میزان هیپریسین در سطح آماری ۱ درصد تأثیر داشته است (جدول شماره ۳) که بیانگر نقش شرایط محیطی در تولید اقتصادی هوفاریقون می‌باشد که با یافته‌های بوت‌ر و همکارانش مطابقت دارد [۶]. به هرحال تحقیقات دیگری که در زمینه تغییرات فصلی میزان هیپریسین در استرالیا انجام شده نشان داده که میزان هیپریسین بستگی به شرایط محیطی داشته و در شرایط مرطوب و خنک‌تر میزان هیپریسین بیشتر است و میزان هیپریسین تحت استرس رطوبتی افزایش نمی‌یابد. همچنین مشخص شده که در سالی که بارندگی بیشتر و میانگین ساعات آفتابی کمتر و میانگین دمای روزانه هوا پایین‌تر است، میزان هیپریسین بالاتر است [۴].

طی دو سال انجام آزمایش، بیشترین عملکرد ماده تر و خشک مربوط به توده H_3 (به ترتیب برابر ۷۵۳۱ و ۲۱۱۶ کیلوگرم در هکتار در سال) و کمترین عملکرد ماده تر و خشک مربوط به توده H_2 (به ترتیب برابر ۳۶۳۵ و ۱۱۴۱ کیلوگرم در هکتار در سال) بوده است (جدول شماره ۵). چنین روندی طی هر سال انجام آزمایش نیز مشاهده شد یا به عبارت دیگر بیشترین میزان عملکرد در هر سال مربوط به توده H_3 می‌باشد (شکل شماره ۳). در انگلند در تحقیقی عملکرد ماده خشک سرشاخه را در سال اول ۱۸۰ گرم بر مترمربع (۱۸۰۰ کیلوگرم در هکتار) و در سال دوم ۴۱۵ گرم بر مترمربع (۴۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) گزارش کرده است [۱۳] که نتایج این تحقیق نشان داده که برخی توده‌ها عملکرد بالاتری را دارا هستند.

بیشترین میزان هیپریسین در توده H_1 (۰/۱۲۹ درصد) و کمترین میزان مربوط به توده H_4 (۰/۱۲۶ درصد) مشاهده شد (جدول شماره ۵). چنین روندی در هر سال انجام آزمایش مشاهده نگردید (شکل شماره ۴) که می‌تواند بیانگر تأثیر شرایط محیطی بر میزان هیپریسین باشد [۴]. به هرحال، سیرون‌ت و همکارانش میزان هیپریسین را در جمعیت‌های وحشی هوفاریقون در شمال کالیفرنیا و مونتانا آمریکا از ۰/۰۰۳ تا ۰/۱۲۵۰ درصد ماده خشک گزارش کرده‌اند که به مراتب

سرشاخه‌های هوفاریقون بلافاصله پس از برداشت توزین (تعیین وزن تر) و سپس در سایه اتاق، خشک و برای تعیین دقیق وزن خشک به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌برداری با حذف اثر حاشیه‌ای (یک ردیف از طرفین کورت‌ها و ۰/۵ متر از ابتدا و انتهای هر کورت) در ساعات ۱۰ تا ۱۴ انجام شد.

۵- آنالیز شیمیایی

عصاره‌گیری

به منظور عصاره‌گیری، یک گرم از پودر کاملاً خردشده گیاه (با مش ۲۵) در بالن ته‌گرد ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و با استفاده از ۸۰ میلی‌لیتر متانول به مدت ۲۰ دقیقه عمل رفلاکس متانول و عصاره‌گیری انجام شد. عصاره حاصل با استفاده از پارچه کتانی صاف و سپس عمل عصاره‌گیری از پودر گیاه با ۶۰ میلی‌لیتر متانول و به مدت ۲۰ دقیقه مجدداً تکرار گردید. عصاره‌های حاصل با هم مخلوط و در نهایت با کاغذ صافی صاف شد و به بالن ته‌گرد ۲۵۰ میلی‌لیتر منتقل شد و تا حجم حدود ۳ میلی‌لیتر با دستگاه Rotary Evaporator تحت خلا تغلیظ شد. عصاره تغلیظ شده به بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری منتقل گردید و با استفاده از متانول به حجم رسانده شد. محلول حاصل برای انجام آزمایش‌ها و تعیین مقدار هیپریسین با استفاده از HPLC آماده گردید [۱۱].

اندازه‌گیری میزان هیپریسین [۱۲]

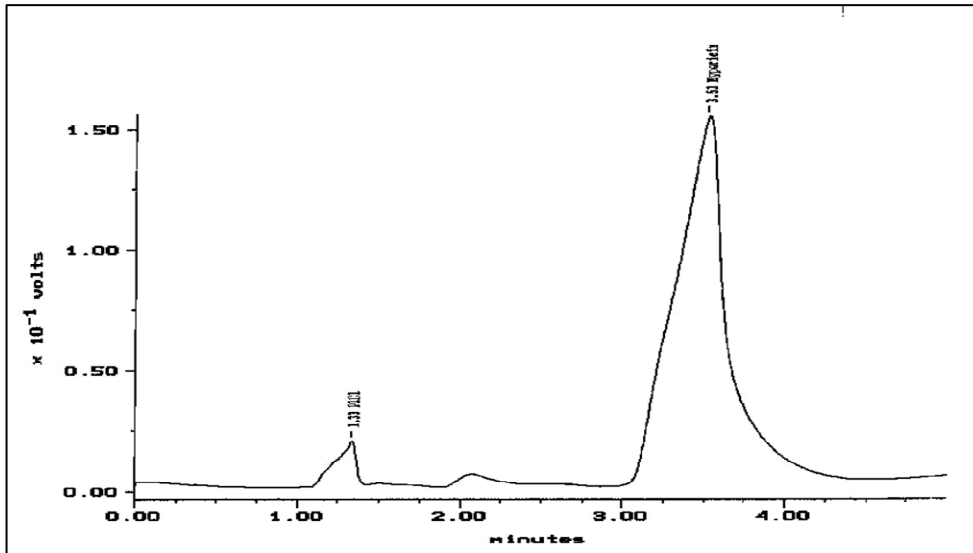
برای اندازه‌گیری و تعیین میزان هیپریسین از HPLC استفاده شد. دستگاه HPLC مورد استفاده دارای مشخصات ذیل بود:

- دستگاه HPLC شرکت واترز آمریکا (Waters)
- دتکتور (detector) مرئی و ماورای بنفش (UV- visible)
- مدل ۴۸۶ کمپانی واترز آمریکا.
- نرم‌افزار جمع‌کننده اطلاعات مدل ماکسیم ۸۲۰
- طول موج مورد استفاده ۵۹۰ نانومتر بود.

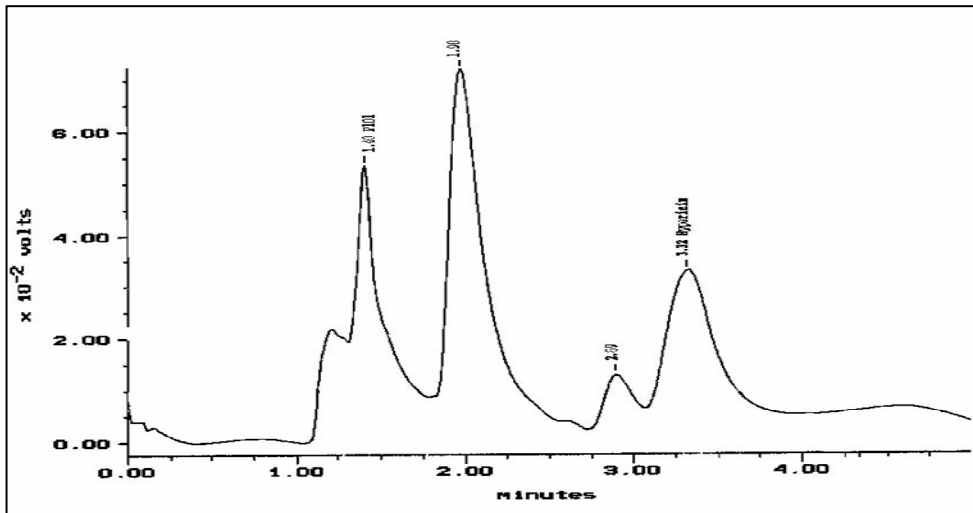
برای جداسازی و اندازه‌گیری هیپریسین از ستون فنیل $4/6 \times 150$ و اندازه ذرات ۵ میکرون) استفاده شد. روش به کار برده شده یک روش ایزوکراتیک و فاز معکوس بود. فاز متحرک مورد استفاده عبارت بود از:

اسید فسفریک: آب: متانول: استونیتریل با نسبت‌های ۲: ۱۰: ۴۰: ۴۸ و سرعت جریان فاز متحرک ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود.

مقدار ۲۰ میکرولیتر از استاندارد هیپریسین و نمونه آبی هیپریسین به دستگاه تزریق شد که کروماتوگرام آنها در شکل شماره ۱ نشان داده شده است. غلظت‌های ۵۰، ۷۰ و ۸۰ میکروگرم در میلی‌لیتر هیپریسین استاندارد به دستگاه تزریق شد که با کمک آن منحنی استاندارد هیپریسین به‌دست آمد (شکل شماره ۲).

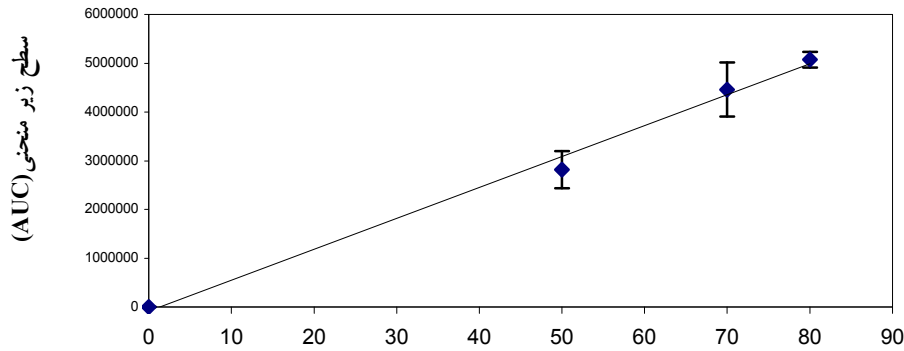


(الف)



(ب)

شکل شماره ۱- کروماتوگرام استاندارد هیپیرسین (الف) و عصاره *Hypericum perforatum* (ب)



غلظت هیبریسین (میکروگرم در لیتر)
شکل شماره ۲- منحنی استاندارد هیبریسین

بیشترین ارتفاع و قطر بود. کمترین ارتفاع مربوط به توده H_2 (۲۹/۰۸) سانتی متر) و کمترین قطر مربوط به توده H_1 (۳۶/۶۷ سانتی متر) بود (جدول شماره ۵). چنین روندی در هر سال انجام آزمایش نیز مشاهده شد.

نتیجه گیری

۱- در شرایط آب و هوایی کرج (محل اجرای این تحقیق)، بیشترین عملکرد کمی و کیفی مربوط به توده H_3 (از کشور مجارستان) بود. به عبارت دیگر این توده، بالاترین عملکرد ماده تر و خشک و هیبریسین را داشته است.
۲- در این تحقیق مشخص شد که عملکرد کمی (وزن تر و ماده خشک) تحت تاثیر ژنتیک (توده) و عملکرد کیفی (میزان هیبریسین) نیز تحت تاثیر شرایط محیطی (سال) بوده است.

کمتر از یافته‌های این تحقیق بوده است [۸]. همچنین در تحقیقی در استرالیا میزان هیبریسین در برگ‌های وارسته‌های جمعیت پهن برگ از ۳۷۰ تا ۵۸۰ قسمت در میلیون و در جمعیت‌های باریک برگ از ۱۰۴۰ تا ۱۶۳۰ قسمت در میلیون گزارش شده است [۱۴].

در این تحقیق مشخص شد که توده (ژنتیک) روی قطر و ارتفاع بوته در سطح آماری ۱ درصد تاثیر معنی‌داری داشته ولی تاثیر شرایط محیطی (سال) روی این دو پارامتر از نظر آماری معنی‌دار نبوده است که روند مشابهی برای عملکرد ماده تر و خشک نیز مشاهده شد (جدول شماره ۴). همچنین بوته و همکاران گزارش کرده‌اند ژنتیک و محیط روی این پارامترها تاثیر قابل توجهی دارند [۶].
به هرحال توده H_3 با ارتفاع ۵۶/۹ و قطر ۳۶/۷ سانتی متر دارای

جدول شماره ۳- تجزیه واریانس عملکرد ماده تر و خشک و میزان هیبریسین

میانگین مربعات			درجات آزادی	منابع تغییرات
میزان هیبریسین	ماده خشک	وزن تر		
۰/۰۰۰۰۱۴۳۹*	۷۴۹۸۴۲/۶	۲۷۵۸۲۳۹۶	۱	سال
۰/۰۰۰۰۱۱۲۳	۲۶۹۹۸۱/۴۵	۴۹۵۷۷۶۶/۳	۴	تکرار در سال
۰/۰۰۰۰۲۰۳۱	۲۱۹۴۸۵۶/۱**	۳۲۰۵۶۱۴۹/۲*	۴	توده
۰/۰۰۰۰۳۴۳۳*	۱۰۳۸۷۳۲/۵	۱۰۳۴۶۲۶۹/۹	۴	سال توده
۰/۰۰۰۰۰۶۹۵۵	۴۱۶۲۸۱/۴	۸۰۹۱۵۳۱/۹	۱۶	خطای a
۰/۰۰۰۰۰۵۲۴۳	۵۳۶۲۸۷/۶	۹۵۰۵۰۳۶/۱*	۱	برداشت
۰/۰۰۰۰۱۰۵۸	۱۴۵۱۸۹/۲	۸۵۸۰۶/۱	۱	سال برداشت
۰/۰۰۰۰۳۰۰۳*	۶۶۵۹۸/۷	۵۶۵۴۳۴۹/۶*	۴	برداشت توده
۰/۰۰۰۰۰۶۳۵۱	۳۶۲۳۷۱/۸۷	۷۱۶۹۷۹۴/۶*	۴	برداشت توده سال
۰/۰۰۰۰۰۵۹۲۸	۱۸۱۴۶۵/۳۲	۲۰۲۰۲۹۵/۵	۲۰	خطای کل

* و ** به ترتیب سطح معنی‌داری ۰/۰۵ و ۰/۰۱ را نشان می‌دهد.

جدول شماره ۴- تجزیه واریانس ارتفاع و قطر بوته

میانگین مربعات		درجات آزادی	منابع تغییرات
قطر بوته	ارتفاع بوته		
۳۴	۵۴۰/۶	۱	سال
۳۳/۶	۱۲۱/۳	۴	خطای a
۳۴۶/۱**	۸۷۷/۶**	۴	توده
۷۸/۲*	۷۱/۹	۴	سال × توده
۲۱/۱	۵۲/۶	۱۶	خطای کل

* و ** به ترتیب سطح معنی داری ۰/۰۵ و ۰/۰۱ را نشان می دهد.

جدول شماره ۵- مقایسه میانگین صفات اندازه گیری شده توده ها*

توده					صفات اندازه گیری شده
H5	H4	H3	H2	H1	
۵۶۳۸ abc	۶۷۸۱ ab	۷۵۳۱ a	۳۶۳۵ c	۴۲۹۵ bc	وزن ماده تر (کیلوگرم در هکتار)
۱۵۷۱ ab	۱۸۹۰ ab	۲۱۱۶ a	۱۱۴۱ b	۱۱۸۵ b	وزن ماده خشک (کیلوگرم در هکتار)
۰/۱۲۷۰ a	۰/۱۲۶۰ a	۰/۱۲۷۰ a	۰/۱۲۷۰ a	۰/۱۲۹۰ a	میزان هیپریرسین (درصد)
۴۵/۶۹ b	۵۳/۵۸ a	۵۴/۸۶ a	۴۲/۸۰ bc	۳۶/۶۷ c	قطر بوته (سانتی متر)
۳۳/۵۸ b	۴۸/۹۷ a	۵۶/۸۹ a	۲۹/۰۸ b	۳۲/۳۳ b	ارتفاع بوته (سانتی متر)

* میانگین ها با روش دانکن مقایسه شده اند.

منابع

- آزادی رحمان. بررسی تاکسونومی تیره گل راعی در ایران. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران. دانشکده علوم. ۱۳۷۶، صفحه ۱۳۵.
- آزادی رحمان. فلور ایران، تیره گل راعی. موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع. ۱۳۷۸، شماره بیست و هفت، صفحه ۶۲.
- Crompton CW, Hall IV, Jensen KIN and Hildebrand P. The biology of Canadian weeds, *Hypericum Perforatum* L. *Canadian Journal of Plant Science* 1988; 68: 149-162.
- Southwell IA and Bourke CA. Seasonal variation in hypericin content of *Hypericum Perforatum* L. (st.johns wort). *Phytochemistry* 2001; 56: 437-441.
- Walker L, Sirvent T, Gibson D. and Vance N. Regional differences in hypericin and pseudohypericin concentrations and five morphological traits among *Hypericum Perforatum* plants in the north western United States. *Can. J. Bot.* 2001; 79: 1248-55.
- Buter B, Orlacchio C, Soldati A and Berger K. Significance of genetic and environmental aspects in the field cultivation of *Hypericum perforatum. planta medica.* 1998; 64: 431- 7.
- Hevia F, Berti M, Wilckens R and Cifuentes P. Quality and yield in st. john's wort (*Hypericum perforatum* L.) Harvested in different phenological stages. *Acta Agronomica Hungarica.* 2002; 50(3): pp: 349-358.
- Sirvent TM, Walker L, Vance N and Gibson DM. Variation in hypericins from wild populations of *Hypericum perforatum* L. in the Pacific Northwest of the U.S.A. *Economic Botony* 2002; 56: 41- 48.
- Martonfi P, Repcak M and Mihokova L. *Hypericum maculatum* crantz subsp. *Maculatum* x *H. Perforatum* L. (Hypericaceae): Corroboration of Notural Hybridization by Secondary Metabolite Analysis. *Folia Geobot. Phytotax.* 1996; 31: 245-250.

10. Bagdonaite E, Zygmunt B and Radusiane J. Morphological and chemical evaluation of st. john's wort *Hypericum perforatum* from Lithuania. *Herbu Pobnica*. 2001; Tom xlvii Nr 4.
11. Hypericin and Pseudohypericin by HPLC. Available from: URL: <http://www.nsfina.org/methods/sjwhyper.htm> .
12. Sirvent T and Gibson DM. Rapid isocratic HPLC analysis of hypericins, *J. LIQ. Chrom. & REL. Technol.* 2000; 23: 251-259.
13. Dragland S. Trial cultivation of St. John's wort (*Hypericum Perforatum* L.). *Norsk Landbruksforskning* 1996; 10: 175- 179.
14. SouthwellJ A and Campbel MH. Hypericin content variation in *Hypericum perforatum* L. *Australia Phytochemistry* 1991; 30: 475-478.

