

اثر ارتفاع بر روغن اسانس و ترکیبات گیاه داروئی آویشن وحشی (*Thymus kotschyanus* Boiss.) منطقه طالقان

• حسن حبیبی، عضو هیأت علمی دانشگاه شاهد
• داریوش مظاهری، ناصر مجنون حسینی، محمدرضا چائی‌چی و محمد فخر طباطبایی،
اعضاء هیأت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
• محسن بیگدلی، عضو هیأت علمی معاونت آموزش و تحقیقات وزارت جهاد کشاورزی

تاریخ دریافت: شهریورماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: خرداد ماه ۱۳۸۵

Email: habibi@shahed.ac.ir

چکیده

رشد و تولید گیاهان در اکوسیستم‌ها و رویشگاه‌های طبیعی مختلف، تحت تاثیر عوامل مختلف از جمله ارتفاع از سطح دریا قرار دارد. به منظور بررسی اثر ارتفاع بر گیاه آویشن در رویشگاه طبیعی آن (۱۸۰۰ متر الی ۲۸۰۰ متر) در جبهه جنوبی البرز که یکی از پر تراکم ترین رویشگاه‌های طبیعی این گیاه شناسایی شده است، گونه کوچیانوس^۱ از بین ۱۴ گونه وحشی و معروف ایران، انتخاب و مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه‌ها در زمان گل دهی کامل از شش ارتفاع با فواصل مساوی با ۳ تکرار، به صورت تصادفی، از اندام‌های هوائی رشد یکساله، جمع آوری و در هوای آزاد خشک و اسانس آن به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر^۲ استخراج گردید. سپس جهت شناسایی ترکیبات اسانس^۳ از دستگاه‌های GC-MS و GC استفاده شد. تجزیه واریانس داده‌های به دست آمده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با استفاده از نرم افزارهای آماری MSTAT-C و SPSS انجام شد. ضمناً مقایسه میانگین تیمارها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت پذیرفت. نتایج نشان داد که اسانس به دست آمده در ارتفاعات ۱۸۰۰، ۲۴۰۰، ۲۶۰۰ و ۲۸۰۰ متری به ترتیب ۲/۵۶، ۲/۲۷، ۲/۰۵، ۱/۹۲، ۱/۳۹ و ۱/۳۱ درصد بود که بیشترین آن متعلق به ارتفاع ۱۸۰۰ متری (۲/۵۶) و کمترین آن به ۲۸۰۰ متری (۱/۳۱) و در عین حال بیشترین مقدار ترکیبات اسانس مربوط به ارتفاع ۲۸۰۰ متری (لینالول^۴ ۴۵٪) و کمترین آن به ۱۸۰۰ متر (لینالول ۱/۹٪) تعلق داشت. بررسی‌های آماری نشان داد که بین درصد اسانس و اختلاف ارتفاع از سطح دریا یک رابطه خطی منفی و معنی دار وجود داشت. همچنین ترکیبات اسانس و ارتفاع یک رابطه از درجه پنجم را نشان دادند. این تحقیق نشان داد، لینالول و آلفا ترپین بیشترین درصد ترکیبات اسانس در گونه کوچیانوس را تشکیل می‌دهند (به ترتیب ۴۵ و ۳۵ درصد). مقایسه میانگین، درصد لینالول^۴، تیمول^۵، آلفا ترپین^۶، آلفا پینن^۷ و کارواکرول^۸ را به ترتیب به ۵، ۶، ۵، ۶ گروه معنی دار تقسیم نمود، همچنین همبستگی مثبت و معنی داری بین کلسیم - منیزیم، سدیم و درصد مواد ارگانیک خاک با افزایش ترکیبات اسانس در ارتفاعات مختلف وجود داشت.

کلمات کلیدی: *Thymus Kotschyanus*. اسانس، ارتفاع از سطح دریا، ترکیبات روغن اسانس، تیمول

Pajouhesh & Sazandegi No:73 pp: 2-10

Effect of altitude on essential oil and components in wild thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss) Taleghan region

By: H. Habibi, Shahed University, College of Agriculture Cept. of Agronomy Tehran-Iran.

D. Mazaheri, N. Majnoon Hosseini, M.R. Chaeachi

M. Fakhr-Tabatabaee, Tehran University, College of Horticulture, Karaj, Iran

M. Bigdeli, Ministry of Jahad Keshavarzi, Tehran, Iran

Growth and development of plants in different ecosystems and natural habitat is effected by different environmental factors like altitude. Therefore, the effect of altitude on essential oil and chemotypes' variability of *Thymus kotschyanus* Boiss growing wild in southern aspect of Alborz Mountains was investigated. The sampling site altitude were ranged from 1800-2800 meter which was subdivided to six strata of every 200 meter, In each stratum the fresh samples of annual growth were randomly harvested stage (flower, leave, stem) during full flowering with 3 replication July to August 2003. The percent essential oil and the six major chemotypes as Thymol, Carvacrol, Linalool, α -Terpinene were measured by GC and GC/MS system. The percent essential oil of the samples collected from 1800-2800 meter were 2.56, 2.27, 2.05, 1.92, 1.39 and 1.31 respectively. The highest and lowest percent recorded were 1800 and 2800 respectively. From essential oil components Linalool ranged 45 and 1.9 percent from 2800 to 1800 respectively. There was a positive correlation between essential oils content and lower altitude while same correlation was obtained between few other chemotypes and higher altitude. Thymol has been usually reported to be the widest spread chemotypes in the genus of thymus sp. however, in this study linalool and α -Terpinene were the highest amount in species thymus kotschyanus (45 and 39.5 percent respectively). A high positive correlation was found between Ca+Mg, Na and OC% in the soil with altitude. In conclusion, the highest percent of essential oils in thymus kotschyanus boiss found at lower altitude while the highest content of chemotypes was associated with higher altitude of 2800 meter.

Keywords: *Thymus kotschyanus*, Essential oil, Chemotypes, Altitude, Essential oil components, Thymol

مقدمه

رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌ها، تحت تاثیر عوامل مختلفی نظیر نوع گونه، اقلیم منطقه، محیط خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی قرار دارد. هر یک از این عوامل می‌تواند تاثیر به‌سزائی بر کمیت و کیفیت محصول گیاهان داشته باشد. در این تحقیق ارتباط بین تنوع ترکیبات شیمیایی موجود در گونه‌ها با مقدار روغن اسانس آنها و همچنین تاثیر این دو عامل به همراه عوامل دیگری چون ژنوتیپ و فاکتورهای محیطی بر روی گیاهان داروئی مورد مطالعه قرار گرفت. بعضی از محققین معتقدند که ژنوتیپ بر تنوع ترکیبات شیمیایی گیاهان داروئی اثر معنی‌داری دارد (۲۷). تغییرات زیادی در جمعیت ترکیبی مونه‌های شیمیایی با توجه به تنوع شیمیایی حتی در فاصله کم از یکدیگر اتفاق افتاده است و یکنواختی در طول زمان با انتقال مقادیر کم ژن در نتیجه گرده افشانی حتی در فاصله‌های بسیار کم توسط زنبور صورت گرفته است (۹).

عملکرد و پتانسیل گیاه آویشن گونه ولگارس از نظر بقاء و تولید مثل و اندازه گیاه بارها با استفاده از مقیاس تنوع درون و بین جمعیت طبیعی نشان داده شده است. مطالعات اخیر نشان داد که اثر متقابل تنوع ژنتیکی و عناصر شیمیایی بر روی توانائی و عملکرد گیاه ولگارس معنی‌دار بوده و به درک نوع سازگاری و تنوع تراکم طبیعی کمک خواهد کرد (۲۴). تنوع فاکتورهای ژنتیکی می‌تواند بر عملکرد گیاه آویشن اثر داشته باشد و تنوع در

اندازه گیاهان بالغ آویشن می‌تواند تحت تاثیر فاکتورهای اکولوژیکی ناشی از رقابت گیاهان (۲۲)، جانداران گیاه خوار (۱۳)، زمان جوانه‌زنی (۱۱)، زمان گل دهی (۲۵) و اثرات ژنتیکی (۱۲) باشد. در گیاه رزماری بعضی از ترکیبات آلی و اسانس‌های اولیه تحت تاثیر فاکتورهای محیطی بوده است (۱۷). افزایش ارتفاع از سطح دریا، تنوع خاک، آب و هوا مقدار مواد ارگانیکی، بافت و مقادیر مختلف Ca در خاک فاکتورهای مهم در تفاوت پراکندگی گیاه آویشن گونه پی پرلا در شرق اسپانیا گزارش شده است (۱۰، ۴). همچنین مقادیر مختلف کربنات با بعضی از ماده موثره داروئی رابطه مثبت و بعضی از ترکیبات روغنی با عوامل محیطی همبستگی معنی‌داری نشان داده است. علاوه بر این یک رابطه خطی بین ارتفاع از سطح دریا با تعدادی از نمونه‌های شیمیایی گیاه آویشن وجود دارد (۱۰).

در اکوسیستم‌های زراعی و طبیعی عواملی مانند رطوبت، آب، عناصر غذایی، نور، ارتفاع از سطح دریا از جمله عوامل اساسی و تعیین کننده در کمیت و کیفیت گیاهان هستند (۴). ایران با تفاوت‌های موجود در اقلیم و رویشگاه‌ها متشکل از ۸۰۰۰۰-۷۵۰۰۰ گونه گیاهی است که اکوتیپ‌های متنوعی از گونه‌های مختلف گیاهان داروئی را بوجود آورده است (۱). بنابراین شناخت عوامل تاثیر گذار بر روی کیفیت و کمیت گیاهان داروئی و اثر بخشی بیشتر کیفیت ماده موثره داروئی مدنظر بوده و براین اساس محققین سعی در ارائه روش‌های مختلف برای تولید ماده موثره بیشتری هستند. در توسعه یک سیستم پایدار کشاورزی نباید تنها



تصویر ۱: آویشن وحشی گونه کوچیانوس - ارتفاع ۱۸۰۰ متر

شناسایی شدند (جدول شماره ۲). نمونه‌های گیاهی در زمان گل دهی کامل به ترتیب از ارتفاعات ۱۸۰۰ متری تا ۲۸۰۰ متری با ۳ تکرار از شاخه‌های یکساله (گل، برگ، ساقه) جمع‌آوری شد. نمونه‌ها پس از پاکسازی در هوای آزاد و در سایه خشک و در پاکت‌های کاغذی نگهداری و جهت تعیین درصد روغن اسانس گیاه به آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی استان تهران (ایستگاه خجیر) انتقال داده شدند.

روغن اسانس

با توجه به تنوع روش‌های اسانس‌گیری گزارش شده، سعی شد جهت استخراج روغن اسانس از گیاه آویشن از متداول‌ترین روش منطبق با استاندارد های جهانی یعنی روش تقطیر با بخار آب استفاده گردید (۷). بدین منظور با استفاده از سیستم هیدرودستلاسیون^۹ و تجهیزات کلونجر^{۱۰} که از یک بالن ۲ لیتری، ستون تقطیر و دستگاه گرم‌کننده، طبق تحقیقات گزارش شده توسط Corticchiato و همکاران (۱۰) صورت گرفت. نمونه‌ها پس از ۳ ساعت اسانس‌گیری و جداسازی از ستون دستگاه با سرنگ



تصویر ۲: آویشن وحشی گونه کوچیانوس - ارتفاع ۲۸۰۰ متر

به افزایش عملکرد بسنده شود بلکه حفظ، بقاء و تداوم این سیستم در گرو به‌کارگیری مدیریت صحیح در چرخه عناصر غذایی و استفاده صحیح از منابع آلی و بیولوژیک می‌باشد و در کنار آن می‌توان از منابع شیمیایی و عوامل دیگر به نحو مطلوبی استفاده نمود (۵، ۶). رویشگاه‌های طبیعی ایران به‌عنوان ذخائر ارزشمند توارثی می‌تواند منشاء تهیه و تولید گیاهان، بخصوص گیاهان دارویی در طبیعت و مزارع که به طبع از سازگاری مناسبی برخوردار خواهند بود، مورد توجه قرار گیرد (۱). با توجه به اینکه عوامل محیطی سبب تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و کیفیت مواد موثره آنها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، روغن‌های فرار (اسانس‌ها) و امثال آن می‌گردد، باید از نظر دور نداشت که محصول زراعی یک گیاه دارویی از نظر اقتصادی در زمانی مقرون به صرفه می‌باشد که مقدار متابولیت‌های اولیه و ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد (۲). بنابراین با انتخاب عوامل محیطی و ارقام گیاهی مناسب می‌توان به حداکثر مقدار محصول دست یافت. آویشن یکی از معروف‌ترین و پرمصرف‌ترین گیاه دارویی در جهان به‌شمار می‌آید. آویشن گیاهی است بومی آسیا و اروپا که شامل ۴۰۰ گونه در جهان و گونه کوچیانوس در ایران می‌باشد. از جمله مناطقی که به‌عنوان موطن این گیاه در ایران مورد شناسایی قرار گرفته می‌توان از استان‌های کردستان، باختران، لرستان و کوه‌های البرز و اطراف تهران نام برد. در ارتفاعات جنوبی البرز در منطقه طالقان با افزایش ارتفاع، جمعیت و تراکم گیاه آویشن گونه کوچیانوس بویس. افزایش پیدا می‌کند به حدی که گیاه قالب در ارتفاعات ۲۸۰۰ متری گیاه آویشن می‌باشد. به‌دلیل ارزش روزافزون این گیاه، از سال‌ها پیش تحقیقات گسترده‌ای در کشورهای مختلف بر روی آویشن آغاز گردیده که همچنان ادامه دارد. این تحقیقات بیشتر بر پایه تاثیر عوامل زراعی از جمله تغذیه و زمان برداشت بر عملکرد آویشن بوده است. بر اساس تحقیقات انجام شد (۱۰) اثر فاکتورهای محیطی بر بعضی از ترکیبات روغنی گیاه آویشن معنی دار بوده و ارتفاع از سطح دریا به‌عنوان یک فاکتورهای محیطی با بعضی از مونه‌های شیمیایی گیاه آویشن همبستگی نشان داده است. لذا با توجه به تحقیقات انجام شده در خصوص تعیین عوامل محیطی و اکولوژیکی موثر بر ماده موثره دارویی گیاه آویشن، عواملی نظیر آب و هوا و شرایط محیطی سبب شد که به مطالعه و تحقیق پیرامون تعیین اثر ارتفاع از سطح دریا بر مقدار ماده موثره دارویی گونه وحشی گیاه آویشن در رویشگاه‌های طبیعی و همچنین شناسایی بهترین ارتفاع پرداخته شود. بنابراین پس از شناسایی مناطق پرتراکم و وسیع در جبهه جنوبی البرز از ارتفاع ۱۸۰۰ تا ۲۸۰۰ متری مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور تعیین بهترین ارتفاع در تولید بالاترین ماده موثره دارویی و روغن اسانس در گیاه آویشن گونه کوچیانوس بویس در جبهه جنوبی البرز، ارتفاعات ۱۸۰۰، ۲۰۰۰، ۲۲۰۰، ۲۴۰۰، ۲۶۰۰ و ۲۸۰۰ متری (تصاویر ۱ و ۲) با استفاده از دستگاه ارتفاع سنج انتخاب شدند. نمونه‌هایی از خاک ارتفاعات مختلف توسط آگور ۳۰ سانتی متری تا عمق ۳۰ سانتی متر جهت شناسایی بعضی از خواص فیزیکی و شیمیایی نمونه‌برداری شد (جدول شماره ۱). ضمناً پوشش گیاهی وضعیت اکولوژیکی و نیز بیولوژیکی گیاهان همراه منطقه مورد بررسی قرار گرفت و گیاهان موجود در ارتفاعات

جدول ۱: خواص فیزیکی و- شیمیایی خاک در ارتفاعات مختلف- منطقه طالقان

ارتفاع (متر)	عمق (سانتی متر)	بافت	نیتروژن (درصد)	فسفر (قسمت در میلیون)	پتاسیم (قسمت در میلیون)	اسیدیته	EC	مواد ارگانیک (درصد)	کلسیم- منیزیم (میلی اکی والان در لیتر)	سدیم (میلی اکی والان در لیتر)
۱۸۰۰	۰-۳۰	سیلتی لوم	۰/۰۴	۲۵	۳۲۰	۷/۷	۰/۴۲	۰/۴۵	۲/۳	۲/۳
۲۰۰۰	-	لومی	۰/۰۷	۱۷	۳۵۰	۷/۶	۰/۳۲	۰/۷۵	۱/۳	۳/۱
۲۲۰۰	-	رسی	۰/۰۷	۱۲/۵	۳۰۸	۷/۱	۰/۳	۰/۸۱	۱/۲	۲/۱
۲۴۰۰	-	شن لومی	۰/۰۴	۱۵	۱۲۵	۷/۲	۰/۵۶	۰/۵	۳/۳	۲/۵
۲۶۰۰	-	شن لومی	۰/۰۴	۱۵/۳	۲۰۰	۷/۷	۰/۵۷	۰/۴۵	۳/۴	۲/۵
۲۸۰۰	-	رس لومی	۰/۰۱۳	۲۷/۵	۲۶۷	۷/۹	۰/۸۳	۱/۶	۴/۹	۳/۹

شیمیایی دارویی با استفاده از برنامه آماری Mstat و SPSS تجزیه واریانس گردید و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای جدید دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت.

بحث و نتیجه گیری اسانس

میانگین درصد روغن اسانس گیاه آویشن در نمودار ۱ و تجزیه واریانس و مقایسه میانگین آن به ترتیب در جداول ۳ و ۴ نشان داده شده است. مقادیر بدست آمده روغن اسانس بر اساس ماده خشک گیاه تعیین و محاسبه گردید. همان طوری که در جدول ۴ مشخص است درصد روغن اسانس در ارتفاعات ۱۸۰۰، ۲۰۰۰، ۲۲۰۰، ۲۴۰۰، ۲۶۰۰ و ۲۸۰۰ متری به ترتیب ۲/۲۷، ۲/۵۶، ۱/۹۲، ۱/۳۹، ۲/۰۵، ۱/۳۱ می‌باشد که در این قسمت درصد روغن اسانس تولید شده در گیاه در ارتفاع ۱۸۰۰ متری از سطح دریا (۲/۵۶ درصد) بیشترین و اختلاف آن نسبت به بقیه ارتفاعات معنی‌دار بوده است. همچنین در ارتفاع ۲۰۰۰ متری این میزان به ۲/۲۷ درصد رسید که پس از ارتفاع ۱۸۰۰ متری در ردیف دوم قرار گرفته و اختلاف آن نسبت به سایر ارتفاعات معنی‌دار بود (جدول ۴). این مقادیر بیشترین مقادیری بوده است که تاکنون از گیاه آویشن وحشی در طبیعت گزارش شده است (۱۰/۳). ضمناً نتایج بررسی‌های آماری نشان داد که بین درصد روغن و ارتفاع از سطح دریا همبستگی بسیار معنی‌داری وجود

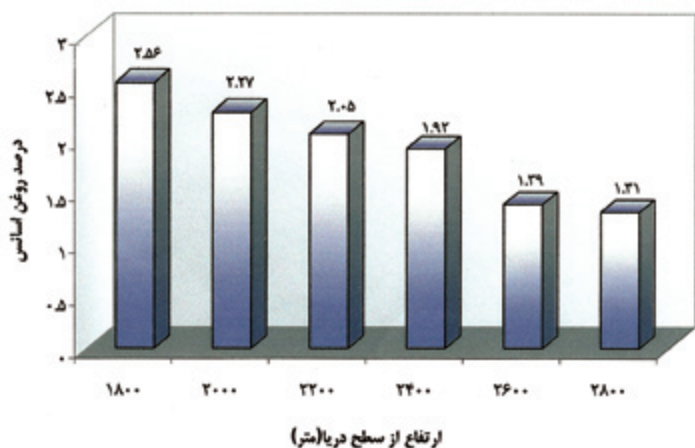
مخصوص جمع‌آوری و از سولفات سدیم برای آب‌گیری استفاده شد. نمونه‌ها پس از تعیین درصد نسبت به وزن خشک در بطری‌های کوچک تیره داخل یخچال و در دمای ۴ درجه سانتیگراد جهت آزمایشات بعدی نگهداری و سپس جهت تجزیه کیفی نمونه‌ها و تعیین ماده مؤثره‌های اصلی به دانشکده داروسازی دانشگاه تهران انتقال و از دستگاه GC-MS استفاده گردید.

ترکیبات ثانویه دارویی

نمونه‌ها با دستگاه گاز کروماتوگرافی بنام لاین گانمانت^{۱۱} از نوع تموکوئست^{۱۲} صورت پذیرفت. آنالیز نمونه‌های شیمیایی به ترتیب الف- دمای ۱=۵۰ درجه و ۰/۵ درجه افزایش دما در دقیقه ب- دمای ۲=۸۰ الی ۱۰۰ درجه و ۱ درجه افزایش دما در دقیقه ج- دمای ۳=۱۰ درجه و ۱۰ درجه افزایش دما در دقیقه زمان کار ۲۰ دقیقه در نظر گرفته شد. دمای برنامه‌ریزی شده دستگاه ۲۶۵ درجه سانتیگراد ۲۰ دقیقه و در زمان تزریق نمونه ۲۵۰ درجه سانتیگراد و دمای منبع ۲۴۰ درجه سانتیگراد بوده است. پس از تزریق اسانس به دستگاه با استفاده از زمان بازداری ترکیب‌ها، اندیس بازداری کوئانس طیف جرمی به شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس و درصد آن اقدام شد. آمارهای بدست آمده از درصد روغن اسانس و مونه‌های

جدول ۲: خصوصیات اکوبیولوژیکی گیاهان همراه منطقه در ارتفاعات مختلف- منطقه طالقان

ارتفاع (متر)	تاریخ نمونه برداری	شیب	طول ساقه (سانتی متر)	کاربری زمین	گیاهان غالب
۱۸۰۰	۱۳۸۲/۶/۴	شمالی	۱۰	مرتع	علفی چندساله
۲۰۰۰	۱۳۸۲/۶/۴	-	۱۷	"	آویشن
۲۲۰۰	۱۳۸۲/۶/۱۱	"	۹	"	پورابوتورا
۲۴۰۰	۱۳۸۲/۶/۱۱	"	۱۱	چراگاه	علفی چندساله
۲۶۰۰	۱۳۸۲/۶/۱۶	"	۱۰	"	آویشن
۲۸۰۰	۱۳۸۲/۶/۲۳	"	۱۰	"	آویشن



نمودار ۱: میانگین درصد روغن اسانس آویشن - منطقه طالقان ۱۳۸۲

دارد (جدول ۵ و نمودار ۲).

از سطح دریا پیوستگی بسیار معنی داری وجود دارد (جدول ۵ و نمودار ۳). همچنین مقایسه میانگین به روش دانکن، درصد تیمول را به ۵ گروه تقسیم نمود که بیشترین آن در ارتفاع ۲۶۰۰ متری و بسیار معنی دار می باشد (جدول ۴).

آلفا ترپین

دومین نمونه شیمیائی داروئی شناسایی شده در این تحقیق آلفا ترپین با ۳۹/۴ درصد بود که این مقدار بیشتر از نمونه های دیگر گزارش شده است (۱۰). آلفا ترپین یکی از مونه های اصلی این گونه در ارتفاع ۲۸۰۰ متری بوده است. جدول شماره ۵ و نمودار شماره ۳ نشان دهنده وجود پیوستگی بسیار معنی دار بین افزایش ارتفاع از سطح دریا و درصد آلفا ترپین می باشد. ضمناً همانطوری که در جدول شماره ۴ مشاهده می گردد مقایسه میانگین به روش دانکن، مقدار درصد آلفا ترپین را به ۵ گروه معنی دار تقسیم نمود که بیشترین آن مربوط به ارتفاع ۲۸۰۰ متری بوده است.

آلفا پینن

در این تحقیق آلفا پینن بین ۷ تا ۳۶ درصد در نوسان بوده است. آلفا پینن نیز یکی از نمونه های اصلی این گونه در ارتفاع ۲۸۰۰ متری بوده است. جدول ۵ و نمودار ۳ نشان دهنده وجود پیوستگی بسیار

ترکیبات ثانویه داروئی لینالول

از بین ۳ نمونه برداشت شده در ارتفاع ۲۸۰۰ متری مقدار درصد لینالول از ۴۵ تا ۴۷/۵ درصد متغیر بود. این مقدار خیلی بیشتر از درصد گزارش شده (۸، ۲۰) و کمتر از گزارش (۱۶، ۱۸، ۱۹) بوده است. بررسی های آماری نشان داد که بین درصد لینالول و افزایش ارتفاع از سطح دریا پیوستگی بسیار معنی داری وجود دارد (جدول شماره ۵ و نمودار شماره ۳). همچنین مقایسه میانگین انجام گرفته به روش دانکن درصد لینالول را به ۶ گروه تقسیم نمود که بیشترین آن در ارتفاع ۲۸۰۰ متری و بسیار معنی دار می باشد (جدول ۴).

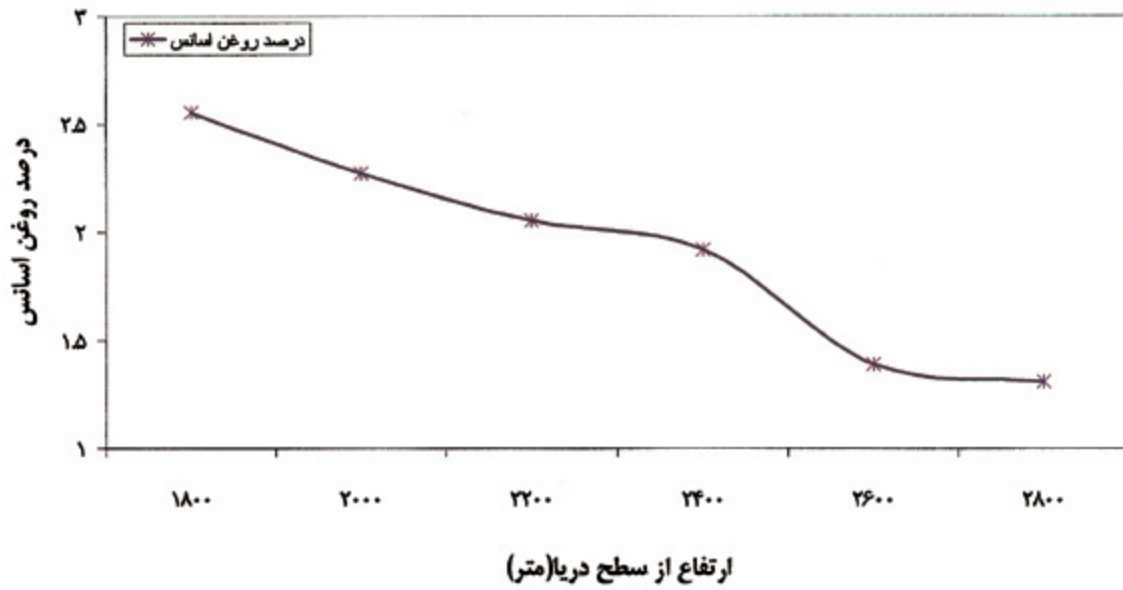
تیمول

اگرچه ماده موثره داروئی تیمول در گیاه آویشن از جمله اصلی ترین و متداول ترین مونه های شیمیائی و معمولاً بیشترین درصد را به خود اختصاص می دهد (۲۷) اما در این تحقیق درصد تیمول از ۳ تا ۲۹ درصد متغیر بوده و این مقدار خیلی کمتر گزارش شد (۱۵، ۱۶، ۱۸، ۲۰، ۲۶). در اینجا نیز بررسی های آماری نشان داد که بین درصد تیمول و افزایش ارتفاع

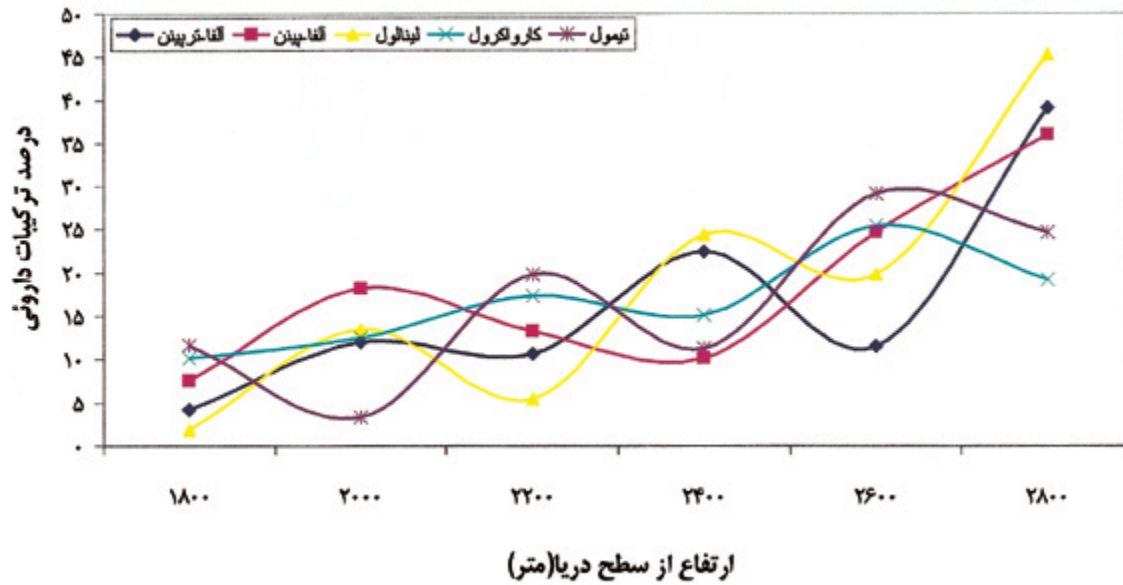
جدول ۳: تجزیه واریانس اثر ارتفاع از سطح دریا بر درصد روغن اسانس و ماده موثره داروئی اصلی آویشن - منطقه طالقان ۱۳۸۲

آلفا- ترپین	آلفا- پینن	لینالول	کارواکرول	تیمول	درصد روغن	درجه آزادی	
۰/۰۲	۰/۰۲	۱/۶۲	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۰۳	۲	تکرار
۴۶۶/۴**	۳۳۶**	۷۳۷/۲**	۸۷/۸**	۲۷۵/۷**	۰/۷۲**	۵	تیمار
۰/۱	۰/۰۴	۰/۲	۰/۱	۰/۶	۰/۰۱	۱۰	خطای آزمایشی
۲/۰۴	۱/۱۳	۴/۱۳	۲/۰۶	۲/۶۴	۵/۳۸		ضریب تغییرات %
۰/۴۳۸	۰/۲۶۷	۰/۹۶۷	۰/۴۴۲	۰/۵۶۶	۰/۱۳۳	LSD	P=۵%

** در سطح ۱٪ معنی دار است



نمودار ۲: پیوستگی ارتفاع و اسانس آویشن - منطقه طالقان ۱۳۸۲



نمودار ۳: پیوستگی ارتفاع و ترکیبات دارویی آویشن - منطقه طالقان ۱۳۸۲

جدول ۴: مقایسه میانگین درصد روغن اسانس و ماده موثره داروئی اصلی آویشن - منطقه طالقان سال ۱۳۸۲

درصد ماده موثره					درصد روغن اسانس	ارتفاع از سطح دریا (متر)
آلفا-ترینین	آلفا-پینن	لینالول	کارواکرول	تیمول		
۴/۳e	۷/۶f	۱/۹f	۱۰/۳f	۱۱/۷d	۲/۵۶a	۱۸۰۰
۱۲c	۱۸/۳c	۱۳/۵d	۱۲/۵e	۳/۴e	۲/۲۷b	۲۰۰۰
۱۰/۷d	۱۳/۳d	۵/۴e	۱۷/۴c	۱۹/۸c	۲/۰۶c	۲۲۰۰
۲۲/۵b	۱۰/۳e	۲۴/۴b	۱۵/۱d	۱۱/۳d	۱/۹۲c	۲۴۰۰
۱۱/۶c	۲۴/۷b	۱۹/۸c	۲۵/۵a	۲۹/۲a	۱/۳۹d	۲۶۰۰
۳۹/۱a	۳۶a	۴۵/۳a	۱۹/۲b	۲۴/۶b	۱/۳۱d	۲۸۰۰

** در سطح ۱٪ معنی دار است

جدول ۵: تجزیه رگرسیون درصد روغن اسانس، مواد موثره داروئی اصلی آویشن با ارتفاع - منطقه طالقان ۱۳۸

منبع واریانس	درجه آزادی	درصد روغن اسانس	تیمول	کارواکرول	لینالول	آلفا-پینن	آلفا-ترینین
رگرسیون	۱	۳/۴۷**	۷۶۲/۳**	۲۸۶/۱**	۲۷۸۸/۲**	۱۰۷۳/۵**	۱۴**
باقیمانده	۱۶	۰/۰۱۵	۳۸/۷	۹/۶	۵۶/۷	۳۸	۵۳/۹
ضرائب رگرسیون	a	۴/۸۸	-۲۷/۱۵	-۱۰/۲	-۶۵/۴	-۳۳/۷	-۴۴/۲
	b	-۰/۰۰۱۳	۰/۰۱۹	۰/۰۱۲	۰/۰۳۶	۰/۰۲۳	۰/۰۰۳
ضرب تبیین		۰/۹۴	۰/۵۵	۰/۶۵	۰/۷۵	۰/۶۴	۰/۶۳

** در سطح ۱٪ معنی دار است، متغیر ثابت: ارتفاع از سطح دریا

جدول ۶: همبستگی پیرسون خواص فیزیکی-شیمیایی خاک و ماده موثره داروئی آویشن منطقه طالقان ۱۳۸۲

خواص شیمیایی خاک	روغن اسانس	تیمول	کارواکرول	لینالول	آلفا-پینن	آلفا-ترینین
سدیم	-۰/۱۵	۰/۰۹	۰/۱۲	۰/۸۳*	۰/۸۲*	۰/۸۱
کلسیم + منیزیم	-۰/۷۶	۰/۵۷	۰/۴۷	۰/۸۷*	۰/۶۷	۰/۷۹
مواد ارگانیک	-۰/۱۵	۰/۲۹	۰/۱۶	۰/۷۳	۰/۷۸	۰/۸۲*
هدایت الکتریکی	-۰/۷۸	۰/۵۶	۰/۴۶	۰/۹۱**	۰/۷۳	۰/۸۵*
اسیدیته	-۰/۳۸	۰/۳۱	۰/۲۱	۰/۴۹	۰/۶۹	۰/۳۴
پتاسیم	۰/۵	-۰/۳۲	-۰/۴۵	-۰/۴۲	-۰/۰۱	-۰/۳۴
فسفر	-۰/۰۶	۰/۰۷	-۰/۲۴	۰/۴۱	۰/۴	۰/۴۲
نیتروژن	۰/۵۸	-۰/۵	-۰/۲۹	-۰/۷۴	-۰/۵۵	-۰/۶۹

** در سطح ۱٪ معنی دار است، * در سطح ۵٪ معنی دار است

11-Lineanmat

12-Temoquest 2000

منابع مورد استفاده

- ۱- امید بیگی، ع، ۱۳۷۴؛ رهیافته‌ای تولید و فرآوری گیاهان دارویی، انتشارات فکر روز صفحه ۲۸۳.
- ۲- امید بیگی، ع، ۱۳۷۹؛ رهیافته‌ای تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد اول چاپ دوم صفحه ۴۶.
- ۳- سفید کن، ف و عسگری، ف، ۱۳۸۲؛ مقایسه کمی و کیفی اسانس پنج گونه آویشن. *Thymus L.* پژوهش و سازندگی ۵۹، جلد ۱۶ شماره ۲ تابستان ۱۳۸۲.
- ۴- کوچکی، ع وحسینی، م، ۱۳۷۴؛ بوم شناسی کشاورزی، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد صفحه ۱۶۴.
- ۵- کوچکی، ع وحسینی، م و هاشمی دزفولی، اف، ۱۳۷۴؛ کشاورزی پایدار، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد صفحه ۱۶۴.
- ۶- ملکوتی، ج، ۱۳۷۳؛ حاصلخیزی خاک‌های مناطق خشک. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس صفحه ۴۹۴.
- ۷- میرزا، م، سفیدکن، ف، احمدی، ل، ۱۳۷۵؛ اسانس‌های طبیعی (استخراج، شناسایی کمی و کیفی کاربرد)، انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع
- 8- Bacer, K.H.C; Ozek, T; Kurkcuglu,m; Tuemen, G. 1995; Essential oil of *Thymus thracicus velen Var, longidens (velen) Jalas*. Journal of Essential Oil Research 7(6): C61-662.
- 9- Blandel, j. and J. Arosan, 1995; Biodiversity and ecosystem function of the Mediterranean basin; human and non-human determinates in davis, G.W. Richardson, D.M. (Eds). Mediterranean types Ecosystems. Springer, Berlin, pp. 43-1190.
- 10- Corticchiato, M; Tomi, F; Bernardini, A.F, Casanova, J; 1998; Composition atnd infraspecific variability of essential oil from *Thymus herba barona lois* Biochem. Syst. Ecol; 26, 915-932.
- 11- Donhue, K. 2000; Germination timing influences natural selection on life history characters *Arabidopsis thailiana*. Ecology (83) 1006-1016
- 12- Eckhart, V.M. 1992; Resource compensation and the evolution of gynodioecy in *Phacelia linearis* (hydrophyllaceae). Evolution (46)1313-1382.
- 13- Escarre, J; Lepart, J; Sans, F.X; Santuc, J.J. and Gorse, V. 1999; Effect of picris heeracioides in the Mediterranean region. Journal of Vegetation Science (10) 101-110.
- 14- Granger, R. and Passet, J; 1971; Thype chemiques (chemotypes) le L-Espte *Thymus vulgaris* L.T.R.Y. Acad. SCY. Paris. 273, 235. 2353
- 15- Jemminez,J; Navarro. M. C. Montella, N. P. Martin,A; Martinez, A; 1993; Thymus. Sigis oil: Effect on CCl4-endoost capatototoxicity and free radical scan venjer activity. J. Esset. Oil. Res. 5, 153-8.

معنی دار بین افزایش ارتفاع از سطح دریا و درصد آلفاپینن می‌باشد. ضمناً جدول ۴ مشاهده بیان گر مقایسه میانگین به روش دانکن می‌باشد که مقدار درصد آلفاپینن را به ۶ گروه معنی دار تقسیم نموده است.

کارواکرول

در این تحقیق کارواکرول از ۱۰ تا ۲۷ درصد در نوسان بوده است که بیشترین مقدار آن مربوط به ارتفاع ۲۶۰۰ متری بوده است. جدول ۵ و نمودار ۳ نشان دهنده وجود پیوستگی بسیار معنی دار بین افزایش ارتفاع از سطح دریا و درصد کارواکرول می‌باشد. ضمناً جدول ۴ مقایسه میانگین به روش دانکن می‌باشد که مقدار درصد کارواکرول را به ۶ گروه معنی دار تقسیم نموده است.

از جدول ۵ چنین بر می‌آید که رابطه بین ارتفاع و مقدار درصد اسانس بسیار معنی دار و منفی است به این مفهوم که با افزایش ارتفاع، مقدار درصد روغن اسانس به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد (نمودار ۱). از سوی دیگر همبستگی بین ارتفاع و ترکیبات ثانویه ماده موثره دارویی بسیار معنی دار و مثبت است که به معنی افزایش این مواد در گیاه با افزایش ارتفاع می‌باشد. بیشترین افزایش ماده موثره دارویی در گیاه همزمان با افزایش ارتفاع از سطح دریا، مربوط به ماده شیمیایی لینالول (۴۵٪ در ارتفاع ۲۸۰۰ متری) و کمترین افزایش آن مربوط به ماده شیمیایی تیمول می‌باشد (نمودار ۳).

از جدول ۶ چنین استنباط می‌شود که بین میزان هدایت الکتریکی، کلسیم+منیزیم، سدیم و درصد مواد گانیک موجود در خاک مزارع مورد آزمایش با درصد مواد موثره دارویی همبستگی معنی داری وجود داشته باشد. این همبستگی بدین مفهوم می‌باشد که متغیرهای مورد اشاره می‌تواند تحت تاثیر عوامل مشترکی قرار داشته باشند. در این بین همبستگی بین سدیم با درصد آلفاترپینن و آلفا-پینن و لینالول کاملاً مشهود است. از سوی دیگر نتیجه در خور توجه این است که همبستگی بین درصد اسانس با تمامی عناصر موجود در خاک به غیر از پتاسیم و نیتروژن منفی است، باین توضیح که افزایش هر یک از عناصر ذکر شده بجز پتاسیم و نیتروژن سبب کاهش اسانس خواهد شد. با توجه به نتایج حاصل از همبستگی فوق تحقیقات جامع‌تری در این زمینه پیشنهاد می‌شود.

پاورقی‌ها

- 1-Kotchyanus
- 2- Clevenger
- 3- Chemotypes
- 4- Linalool
- 5-Thymol
- 6- α -terpinene
- 7- α -Pinene
- 8-Carvacrol
- 9- Hydrodistillation
- 10- Clevenger

- 16- Maslfei, M; Mucciarelli, M; Scannerini, S; 1993; Environmental factors affecting the lipid metabolism in *Rosmarinus licinalis* L. Biochem systems. Eco (.21L8), 765-794
- 20-Mc Crea, K.D; Abrahamson, W.G. 1985; Goldenrod ball gall effects on solidagoattisima; C-trans- Location and growth. Ecology (66).
- 17- Saez, F; 1995; Essential oil variability of *Thymus hyemalis* growing wild in southeastern Spain. Biochemical systematic and Ecology 23(4):431-438.
- 18-Salgueiro, L.R., Vila, R; Tomi, F. Figueiredo, A.C; Barroso, J.G. Caniguel, S; Casanova, J; Cunha, A.P; Azadet, J; 1997a; Competition and variability of the essential oil of thymus. Caespitius, From, Portugal Photochemistry 45, 307-11
- 19- Salgueiro, L.R., Vila, R; Tomi, F. Figueiredo, A.C; Barroso, J.G. Caniguel, S; Casanova, J; Cunha, A.P; Azadet, J; 1997b; Variability of essential oils of *Thymus caespitius* from potugal. Phytochemistry, 45:307-311.
- 20-Salgueiro, L.R., Villa, X; Tomis, F; Caniguel, S; Casanova, A; 1995; Proenca da Cunha and T. Adzet. Photochemistry, (Abstract) 38,391-
- 21-Shafiq Malik, M; Sattar, A. and Ahmad Khan S. 1987; Biochemical science section: essential oils of the species of Labiatae: Plant III. Studies on the essential oil of *Zataria multiflora* Pakistan, J. Sc: Ind. Res. 1987 (30) 751-753.
- 22- Stahl-biskup, E; 1991; The chemical composition of thymus oil. J. Essent. Oil. Res. 3(61-82).
- 23- Thompson, J.D; Tarayre, M; Gauthier, P; Litrico, I and Linhart, Y.B. 2004; Multiple genetic contributions to plant performance in *Thymus vulgaris*. Journal of Ecology. 92, 45-56.
- 24-Thompson, D.P., 1986. Effect of essential oil on Spora germination of Rhizopns. Mucor and Aspergillus Species. Mycologia, 78: 482-85.
- 25- Tumen, G; Baser, K.H.C; Demirci, B; and Ermin; 1996; The essential oils of *Satureja coerulea* Janka and *Thymus azenavouri* velen. Flavour and Fragrance Journal, Vol. 13(65-67).
- 26- Wink. N. and Ktarey, D. B; 1994; Variability of quimolidime alcoholide profile of *Lupinus argentinus* (sabaceae) North America. Sys. Ecol. 22 (7, 663-9).



Archive of SID

بررسی اجزای موثر در کمیت و کیفیت DNA ژنومی استخراج شده از گونه‌های سیکلامن موجود در ایران

- میترا اعلانی، دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج - دانشگاه تهران
- روح انگیز نادری، استادیار گروه باغبانی، گروه باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج - دانشگاه تهران
- احمد خلیقی، گروه باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج - دانشگاه تهران
- (مرحوم) علی وزوائی، گروه باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج - دانشگاه تهران
- سیدعلیرضا سلامی، دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج - دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: مرداد ماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: تیرماه ۱۳۸۵

Email: mitra_alaei@yahoo.com

چکیده

استخراج DNA ژنومی با کمیت و کیفیت مطلوب از نیازهای بنیادی زیست‌شناسی مولکولی است. استخراج DNA از بافت گیاه به علت حضور کربوهیدرات‌ها، تانن‌ها، ترکیبات پلی‌فنلی و پروتئین‌ها که بر کیفیت DNA اثر منفی می‌گذارد با مشکلاتی روبروست. لذا روش استخراجی که بتواند این مواد را به حداقل برساند باید تشخیص و مورد استفاده قرار گیرند. در این تحقیق چهار روش استخراج DNA شامل: ۱- Murray و Thompson، ۲- Doyle و Doyle، ۳- Dellaporta و همکاران، ۴- Lodi و همکاران به منظور انتخاب بهترین روش استخراج DNA از گیاه زینتی سیکلامن مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند. برای استخراج DNA، برگ‌های جوان و برگ‌های بالغ مورد استفاده قرار گرفت. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با هر چهار روش، با استفاده از روش‌های اسپکتروفتومتری، الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱٪، بررسی الگوی برش پذیری نمونه‌های DNA توسط اندونوکلازهای محدود کننده (*EcoRI*) و همچنین با انجام واکنش زنجیرهای پلیمرز (PCR) مورد مقایسه قرار گرفتند. در نهایت با توجه به کمیت و کیفیت DNA استخراج شده و نتایج حاصل از PCR، روش Murray و Thompson به منظور استخراج DNA با خلوص بالا از برگ‌های جوان و بالغ این گیاه زینتی انتخاب شد. بیشترین مقدار DNA با کیفیت مطلوب از یک گرم بافت برگی جوان به مقدار $395 \text{ ng}/\mu\text{l}$ ($79.1 \mu\text{g}/\text{g}$) با روش Murray و Thompson بدست آمد.

کلمات کلیدی: استخراج DNA، سیکلامن، کمیت و کیفیت DNA، PCR