

مطالعه کموتاکسونومیکی برخی از گونه‌های یک ساله جنس *Astragalus* بر اساس فلاونوئیدها

• مریم عارفی

گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

• وحیده ناظری

عضو هیأت علمی دانشکده علوم باغبانی و گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه

تهران

• سید منصور میرتاج‌الدینی

عضو هیأت علمی دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان

تاریخ دریافت: تیرماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: مردادماه ۱۳۸۶

Email: m_arefi&2@yahoo .com

چکیده

در این پژوهش برای اولین بار فلاونوئیدهای برخی از گونه‌های یک ساله گون با استفاده از کروماتوگرافی کاغذی به روش دو بعدی مورد بررسی قرار گرفت. جمعاً ۱۰۸ نوع فلاونوئید از ۲۰ گونه، زیر گونه و واریته استخراج و میزان تشابه گونه‌ها با استفاده از نرم افزار Statistica و روش (UPGA (Unweighted Pair Group Average) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که: ۱- بخش *Bucerates* از سایر بخش‌های مورد مطالعه کاملاً مجزا است. ۲- قرار گرفتن اعضای بخش *Sesamei* در خوشه‌های متفاوت ناهمگن بودن این بخش را تأیید می‌کند. ۳- تشابه فلاونوئیدی جنس *Ophiocarpus* (Bunge) *Ikonn* با سایر گونه‌های جنس *Astragalus* نیز قرارگیری جنس *Ophicarpus* را در جنس *Astragalus* تأیید می‌کند.

کلمات کلیدی: *Astragalus*، کروماتوگرافی کاغذی، فلاونوئید، کموتاکسونومی، UPGA

Pajouhesh & Sazandegi No 79 pp: 116-128

Chemotaxonomic study of some annual astragalus based on flavonoids

By: M.Arefi, Member of Scientific Board of Shahid Bahonar University of Kerman. Nazeri V. Member of Scientific Board of Tehran University and Mirtadzadini M. Member of Scientific Board of Shahid Bahonar University of Kerman

Flavonoids of some annual species of astragalus were analyzed by two dimensional paper chromatography. Totally, 108 flavonoid compounds extracted from 20 species, subspecies and varieties. Species similarity was investigated by UPGA (Unweighted Pair Group Average) method and Statistica software. The results show that: 1- Isolation of section Bucerates from other species is distinctive. 2- Section Sesamei, is considered as a heterogeneous section. 3- Similarity of flavonoids of *Ophiocarpus* (Bunge) Ikonn. with other species of genus *Astragalus* is confirmed.

Key words: Astragalus, Paper chromatography, Flavonoid, Chemotaxonomy, UPGA**مقدمه**

نزدیک بین گونه‌ها را ثابت کرد و منشأ جدایی را برای آن‌ها پیشنهاد داد (Chang، ۱۵). نشان داد که داده‌های فلاونوئیدی منجر به کاهش سری‌های تاکسونومیکی مشخص شده توسط یو (Yu's seri) در بخش Cotoneaster می‌گردد (۷).

از نقطه نظر شیمیایی فلاونوئیدهای گونه‌های چند ساله جنس *Astragalus* به طور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال *Lukyanchikov, Yahara, Semmar* و همکارانشان انواع فلاونوئیدها را از گونه‌های مختلف *Astragalus* جداسازی و شناسایی کردند (۱۱)، *Semmar*، *A. carpinus*، *A. carpinus*، *Semmar* و همکارانش، ۱۴ فلاونول گلیکوزید از *A. carpinus* استخراج کردند و چهار کموتیپ را در جمعیت‌های شمال غربی آفریقا تشخیص دادند (۱۶). لیکن هیچ گونه مطالعه کموتاکسونومیک بر روی گونه‌های یک ساله انجام نگرفته است.

این تحقیق سعی بر آن دارد تا روابط بین گونه‌های یک ساله این جنس را از نظر فلاونوئیدها مورد بررسی قرار دهد و نتایج حاصل را با طبقه بندی‌های موجود *Bunge* (۵) و *Podlech* (۱۳) مقایسه نماید.

مواد و روش‌ها
مواد گیاهی

در این تحقیق فلاونوئیدهای ۲۰ گونه، زیر گونه و واریته جنس *Astragalus* مورد بررسی قرار گرفت. برای تهیه عصاره گیاهی جهت استخراج فلاونوئیدها از نمونه‌های جمع آوری شده از ریشگاه‌های طبیعی و نمونه‌های هرباریومی استفاده شده است. جدول ۱ نشان دهنده نام گونه ها، مناطق جمع آوری و شماره هرباریومی آنهاست که در این پژوهش مورد مطالعه قرار گرفته است، البته شایان ذکر است که نمونه‌های مورد بررسی بیشتر از این تعداد بوده است. پس از جمع آوری، نمونه‌های گیاهی با استفاده از فلورهای معتبر شناسایی شد.

تجزیه فیتوشیمیایی

استخراج فلاونوئیدهای برگ به روش *Chalice* و *Kovanda* (۶) انجام شد. به ۰/۱۵ گرم از برگ خشک پودر شده، ۵ میلی لیتر متانول ۸۰٪ اضافه شد و به منظور استخراج فلاونوئیدها به مدت ۴ دقیقه در حمام

جنس *Astragalus* با بیش از ۲۵۰۰ گونه در دنیا یکی از بزرگترین جنس‌های گیاهان گلدار است. این جنس متعلق به خانواده *Fabaceae* و دارای پراکنش وسیعی در دنیاست. پراکنش اصلی این جنس در آب و هوای سرد، نواحی خشک و نیمه خشک قاره‌ای می‌باشد (۱۰). تنوع، تشابه مورفولوژیکی زیاد و نامشخص بودن جایگاه تاکسونومیکی آنها، سبب پیچیدگی در شناسایی و طبقه بندی این جنس گردیده است. دو طبقه بندی مهم گونه‌های یک ساله *Astragalus* به وسیله *(1868) Bunge (5)* و *Podlech (13)* در تعیین روابط بین گونه‌ها و جایگاه آن‌ها در داخل بخش‌ها در مواردی متناقض می‌باشند

Maasoumi (3) گونه‌های یک ساله این جنس را به ۱۹ بخش تقسیم نمود در حالی که *Podlech (13)* آن‌ها را در ۱۶ بخش جای داد. *Podlech* سه بخش *Mirae Sirj. & Rech. , Ophiocarpus Bunge , Dipelta Bunge* (Regel & Schmalh.) را به عنوان سه جنس مجزا در نظر می‌گیرد. وی همچنین چهار بخش *Haematodes Bunge, Harpilobus Bunge, Falcinellus Bunge, Drepanodes Bunge* را در بخش *Oxyglottis Bunge* قرار داد و بخش بزرگ *Annulares DC.* را به دو بخش *Oxyglottis* و *Sesamei* تبدیل کرد (۸، ۱۳). علاوه بر این *Podlech* دو گونه *A. bakaliensis* از بخش *Falcinellus* و *A. oncotrichus* که جای مشخصی نداشت را در بخش *Annulares* قرار داد، در حالیکه در سال ۱۹۹۹ این دو گونه را به بخش *Hispiduli* انتقال داد (۱۳، ۱۴).

استفاده از فلاونوئیدها در تاکسونومی نشان داده است که این ترکیبات در تعیین روابط بین تاکسون‌ها مفید بوده است (۱۷). همچنین ارزش الگوی و حضور ترکیبی این مواد فنلی معمولاً در تمام سطوح رده بندی گیاهان گلدار از راسته تا رتبه‌های پایین‌تر به عنوان شاهد تاکسونومیکی به اثبات رسیده است (۱۸). مثال‌هایی از استفاده فلاونوئیدها در کموتاکسونومی عبارتند از:

Dalgerm (1981-1980) از فلاونوئیدها در مشخص کردن روابط معلوم در سیستم مشهور طبقه بندی نهادانگان استفاده کرد (۱۷). *Ruiz, 23* فلاونوئید را از ۱۳ جمعیت مختلف *Sophora* درشیلی جدا کرد، وی با استفاده از آنالیزهای فینتیکی و الگوی فلاونوئیدی روابط

جدول ۱- لیست مناطق و نمونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش:

ردیف	نام گونه	محل جمع آوری	کد هرباریومی
۱	<i>A. arpilobus</i> <i>sub sp. arpilobus</i>	کرمان: هفت باغ	۱۰۰۱
۲	<i>A. arpilobus</i> <i>sub sp. arpilobus</i>	سیستان و بلوچستان: چابهار	۱۰۰۲
۳	<i>A. arpilobus</i> <i>sub sp. hauarensis</i>	کرمان: شمال غربی کبوترخان	۱۰۰۳
۴	<i>A. arpilobus</i> <i>sub sp. hauarensis</i>	کرمان: رفسنجان	۱۰۰۴
۵	<i>A. arpilobus</i> <i>sub sp. hauarensis</i>	سیستان و بلوچستان: چابهار	۱۰۰۵
۶	<i>A. arpilobus</i> <i>sub sp. hauarensis</i>	کرمان: بین کرمان باغین، حوالی کارخانه سیمان- شهرک صنعتی ۲	۱۰۰۶
۷	<i>A. asterias</i>	کرمان: جنگلبانی ارزو	۱۰۰۷
۸	<i>A. asterias</i>	کرمان: حیرفت	۱۰۰۸
۹	<i>A. asterias</i>	فارس: ۱۵ کیلومتری فسا	۱۰۰۹
۱۰	<i>A. asterias</i>	کرمان: جنوب کهنوج- بلوک	۱۰۱۰
۱۱	<i>A. bakaliensis</i>	کرمان: غرب خبر بافت	۱۰۱۱
۱۲	<i>A. bakaliensis</i>	کرمان: بردسیر- بیدو	۱۰۱۲
۱۳	<i>A. bakaliensis</i>	سیستان و بلوچستان: شمال شرق کوه بزمان	۱۰۱۳
۱۴	<i>A. biovulatus</i>	کرمان: بم	۱۰۱۴
۱۵	<i>A. biovulatus</i>	کرمان: تنگه راور	۱۰۱۵
۱۶	<i>A. biovulatus</i>	کرمان: هرچند، یک کیلومتری دو راهی جاده راور- هرچند، پا سیب	۱۰۱۶
۱۷	<i>A. biovulatus</i>	کرمان: کوهپایه	۱۰۱۷
۱۸	<i>A. biovulatus</i>	کرمان: وامق آباد	۱۰۱۸
۱۹	<i>A. camprlorrhynchus</i>	کرمان: یک کیلومتری دو راهی جاده راور- هرچند	۱۰۱۹
۲۰	<i>A. camprlorrhynchus</i>	کرمان: هرچند	۱۰۲۰
۲۱	<i>A. camprlorrhynchus</i>	کرمان: بعد از سردر به طرف پا سیب	۱۰۲۱
۲۲	<i>A. camprlorrhynchus</i>	کرمان: کوهپایه	۱۰۲۲
۲۳	<i>A. camprlorrhynchus</i>	کرمان: بافت، شمال دو راهی مزار	۱۰۲۳
۲۴	<i>A. commixtus</i>	کرمان: بعد از سردر به طرف پا سیب	۱۰۲۴
۲۵	<i>A. commixtus</i>	کرمان: یک کیلومتری دو راهی جاده راور- هرچند	۱۰۲۵
۲۶	<i>A. commixtus</i>	کرمان: تنگه راور	۱۰۲۶
۲۷	<i>A. commixtus</i>	کرمان: بردسیر- میچ	۱۰۲۷
۲۸	<i>A. commixtus</i>	کرمان: ماهان- جاده پشت باغ شاهزاده	۱۰۲۸
۲۹	<i>A. commixtus</i>	کرمان: دهبکری	۱۰۲۹
۳۰	<i>A. commixtus</i>	کرمان: وامق آباد	۱۰۳۰
۳۱	<i>A. commixtus</i>	کرمان: استخرو	۱۰۳۱
۳۲	<i>A. commixtus</i>	خراسان رضوی: تربت حیدریه	۱۰۳۲
۳۳	<i>A. coronilla subsp. Semnanensis</i>	کرمان: سیرجان	۱۰۳۳
۳۴	<i>A. coronilla subsp. Semnanensis</i>	کرمان: کرمان به باغین حوالی کارخانه سیمان شهرک صنعتی ۲	۱۰۳۴

ادامه جدول ۱- لیست مناطق و نمونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش:

ردیف	نام گونه	محل جمع آوری	کد هرباریومی
۳۵	<i>A. coronilla subsp. Semnanensis</i>	سیستان و بلوچستان: شمال شرقی کوه بزمان	۱۰۳۵
۳۶	<i>A. crenatus</i>	کرمان: تنگه راور	۱۰۳۶
۳۷	<i>A. crenatus</i>	کرمان: جیرفت	۱۰۳۷
۳۸	<i>A. crenatus</i>	کرمان: روستای سردر، بعد از سردر به طرف پا سیب	۱۰۳۸
۳۹	<i>A. crenatus</i>	کرمان: سیرجان-خیرآباد	۱۰۳۹
۴۰	<i>A. crenatus</i>	خراسان جنوبی: بیرجند	۱۰۴۰
۴۱	<i>A. crenatus</i>	کرمان: جاده ارزو-ده شیخ	۱۰۴۱
۴۲	<i>A. crenatus</i>	فارس: فسا	۱۰۴۲
۴۳	<i>A. crenatus</i>	فارس: کوه دراک	۱۰۴۳
۴۴	<i>A. crenatus</i>	کرمان: پاریز-سیرجان	۱۰۴۴
۴۵	<i>A. crenatus</i>	کرمان: وکیل آباد	۱۰۴۵
۴۶	<i>A. crenatus</i>	کرمان: سیرجان	۱۰۴۶
۴۷	<i>A. crenatus</i>	کرمان: محوطه دانشگاه شهید باهنر	۱۰۴۷
۴۸	<i>A. filicaulis</i>	خراسان رضوی: مشهد سد طوق	۱۰۴۸
۴۹	<i>A. filicaulis</i>	کرمان: سیرجان	۱۰۴۹
۵۰	<i>A. hamosus</i>	کرمان: رفسنجان به هرمز آباد	۱۰۵۰
۵۱	<i>A. hamosus</i>	هرمزگان: هرمزگان-گاوبندی	۱۰۵۱
۵۲	<i>A. hamosus</i>	یزد: هرات	۱۰۵۲
۵۳	<i>A. hamosus</i>	فارس: جاده فسا-شیراز	۱۰۵۳
۵۴	<i>A. kerkukiensis</i>	کرمان: کوهبنان-معدن مس همکار	۱۰۵۴
۵۵	<i>A. kerkukiensis</i>	کرمان: کوهبنان	۱۰۵۵
۵۶	<i>A. kerkukiensis</i>	کرمان: بعد از روستای سردر به طرف پا سیب، کرمان: یک کیلومتری دو راهی جاده راور-هرجند	۱۰۵۶
۵۷	<i>A. oncotrichus</i>	کرمان: تنگه راور	۱۰۵۷
۵۸	<i>A. oncotrichus</i>	کرمان: کوهبنان	۱۰۵۸
۵۹	<i>A. oncotrichus</i>	سیستان و بلوچستان: زاهدان-خاش	۱۰۵۹
۶۰	<i>A. ophiocarpus</i>	کرمان: کوه خیر اطراف پاریز	۱۰۶۰
۶۱	<i>A. ophiocarpus</i>	کرمان: ۱۰ کیلومتر بعد از کرمان به طرف ماهان	۱۰۶۱
۶۲	<i>A. ophiocarpus</i>	کرمان: بردسیر-بیدو	۱۰۶۲
۶۳	<i>A. ophiocarpus</i>	کرمان: کوه مزار	۱۰۶۳
۶۴	<i>A. ophiocarpus</i>	کرمان: کرمان-باغین حوالی کارخانه سیمان شهرک صنعتی ۲	۱۰۶۴
۶۵	<i>A. ophiocarpus</i>	کرمان: تپه‌های ماسه‌ای زرند	۱۰۶۵
۶۶	<i>A. oxyglottis</i>	کرمان: تنگه راور	۱۰۶۶
۶۷	<i>A. oxyglottis</i>	کرمان: هرچند	۱۰۶۷
۶۸	<i>A. oxyglottis</i>	کرمان: یک کیلومتری دو راهی جاده راور-هرجند	۱۰۶۸
۶۹	<i>A. oxyglottis</i>	کرمان: بردسیر-بیدو	۱۰۶۹

ادامه جدول ۱- لیست مناطق و نمونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش:

ردیف	نام گونه	محل جمع آوری	کد هر بار یومی
۷۰	<i>A. oxyglottis</i>	کرمان: درب انارستان	۱۰۷۰
۷۱	<i>A. oxyglottis</i>	کرمان: میمند	۱۰۷۱
۷۲	<i>A. persepolitanus</i>	کرمان: یک کیلومتری دو راهی جاده راور-هرچند	۱۰۷۲
۷۳	<i>A. persepolitanus</i>	کرمان: راور	۱۰۷۳
۷۴	<i>A. persepolitanus</i>	کرمان: پسوجان-سیرجان	۱۰۷۴
۷۵	<i>A. persepolitanus</i>	کرمان: خانامان	۱۰۷۵
۷۶	<i>A. schimperi</i>	کرمان: کهنوج-قلعه گنج	۱۰۷۶
۷۷	<i>A. tribuloides</i>	کرمان: سیرجان-خیرآباد	۱۰۷۷
۷۸	<i>A. tribuloides</i>	کرمان: چترود-راور، یک کیلومتری دو راهی جاده راور-هرچند	۱۰۷۸
۷۹	<i>A. tribuloides</i>	کرمان: ارزو، وکیل آباد، بردسیر-بیدو، ابتدای سیرجان، بم-میچ	۱۰۷۹
۸۰	<i>A. tribuloides</i>	کرمان: کرمان-ماهان، جاده پشت باغ شاهزاده ماهان، ۲۰ کیلومتری ماهان به طرف کرمان	۱۰۸۰
۸۱	<i>A. tribuloides</i>	کرمان: محوطه دانشگاه شهید باهنر	۱۰۸۱
۸۲	<i>A. tribuloides</i>	کرمان: گلباف-قلعه پایش	۱۰۸۲
۸۳	<i>A. tribuloides</i>	کرمان	۱۰۸۳
۸۴	<i>A. tribuloides</i>	کرمان: محوطه دانشگاه شهید باهنر	۱۰۸۴

جدول ۲- مقادیر Rf و واکنش لکه‌ها با UV (۳۶۶ نانومتر) و بخار آمونیاک در گونه‌های مورد مطالعه *Astragalus*:

شماره لکه	مقدار Rf × ۱۰۰		واکنش رنگ‌ها	
	BAW	اسید استیک ۱۵٪	UV-NH3	UV+NH3
روتین	۵۴	۵۷	بنفش تیره	زرد
۱	۴۷	۸۱	بنفش تیره	زرد
۲	۵/۴۲	۵/۷۸	بنفش تیره	زرد
۳	۵/۷۴	۸۱	آبی کم‌رنگ	فیروزه‌ای
۴	۵/۷۱	۶۱	بنفش تیره	زرد
۵	۲۷	۷۲	بنفش تیره	زرد
۶	۵۷	۷۱	آبی	فیروزه‌ای
۷	۶۲	۶۶	آبی بنفش	آبی کم‌رنگ
۸	۲۵	۷۵	بنفش تیره	فیروزه‌ای
۹	۵۷	۸۲	بی رنگ	آبی
۱۰	۵۴	۵۶	بنفش تیره	زرد
۱۱	۲۱	۷۱	بنفش تیره	زرد
۱۲	۴۳	۷۵	بنفش تیره	زرد
۱۳	۶۴	۶۸	آبی	آبی
۱۴	۱۹	۸۰	بنفش تیره	زرد

ادامه جدول - ۲

۱۵	۵۸	۷۷	آبی	فیروزه ای
۱۶	۲۴	۸۶	زرد مایل به سفید	آبی
۱۷	۳۱	۷۰	بی رنگ	زرد
۱۸	۲۶	۸۴	بنفش تیره	آبی مایل به سبز
۱۹	۲۷	۸۸	زرد	آبی مایل به سبز
۲۰	۷۸	۸۱	آبی	فیروزه ای
۲۱	۷۷	۵۹	آبی	آبی
۲۲	۵۲	۷۹	بنفش تیره	بنفش تیره
۲۳	۳۹	۷۹	بنفش تیره	آبی
۲۴	۳۲	۷۴	بنفش تیره	زرد
۲۵	۷۲	۷۷	آبی	فیروزه ای
۲۶	۷۹	۷۹	آبی	آبی (فیروزه ای)
۲۷	۱۵	۸۳	بنفش تیره	زرد
۲۸	۴۶	۸۶	زرد	زرد
۲۹	۷۶	۷۶	آبی کمرنگ	آبی کمرنگ
۳۰	۳۴	۷۵	بنفش تیره	زرد مایل به سبز
۳۱	۵۱	۷۳	آبی	آبی
۳۲	۲۱	۸۵	زرد	زرد
۳۳	۴۸	۸۲	بنفش تیره	بنفش تیره
۳۴	۵۸	۵۷	بنفش تیره	زرد
۳۵	۱۱	۷۱	بنفش تیره	زرد
۳۶	۷۳	۷۱	بنفش تیره	فیروزه ای

ادامه جدول - ۲

شماره لکه	مقدار $Rf \times 100$		واکنش رنگ ها	
	BAW	اسید استیک ۱۵٪	UV-NH3	UV+NH3
۳۷	۴۵	۶۵	بنفش تیره	زرد
۳۸	۲۹	۵۹	بنفش تیره	زرد
۳۹	۱۶	۷۵	بی رنگ	آبی
۴۰	۲۸	۶۵	بی رنگ	زرد
۴۱	۳۰	۸۱	بنفش تیره	زرد
۴۲	۸۸	۷۸	آبی کمرنگ	آبی کمرنگ
۴۳	۷۴	۸۶	بنفش تیره	بنفش تیره
۴۴	۶۴	۵۳	بنفش تیره	زرد
۴۵	۵۱	۵۶	بنفش تیره	زرد
۴۶	۵۵	۷۷	بنفش تیره	زرد
۴۷	۴۴	۵۰	بنفش تیره	زرد مایل به نارنجی
۴۸	۶۱	۷۳	آبی کمرنگ	فیروزه ای
۴۹	۶۱	۸۰	آبی کمرنگ	فیروزه ای
۵۰	۳۹	۷۴	بنفش تیره	زرد
۵۱	۳۹	۸۱	بنفش تیره	زرد
۵۲	۵۴	۶۶	بنفش تیره	زرد
۵۳	۵۷	۵۶	بی رنگ	زرد
۵۴	۹	۸۳	بنفش تیره	زرد
۵۵	۱۳	۸۹	بی رنگ	زرد
۵۶	۵۲	۸۶	زرد	زرد
۵۷	۱۲	۵۵	بنفش تیره	زرد

ادامه جدول - ۲

۵۸	۴۱	۸۱	بنفش تیره	زرد
۵۹	۶۰	۶۷	بنفش تیره	بنفش تیره
۶۰	۳۱	۵۶	بنفش تیره	بنفش تیره
۶۱	۵۲	۴۴	بنفش تیره	زرد
۶۲	۶۸	۴۴	بنفش تیره	زرد
۶۳	۷۳	۵۱	بنفش تیره	سبز
۶۴	۸۲	۸۶	آبی کم رنگ	آبی کم رنگ
۶۵	۸۷	۸۱	آبی کم رنگ	آبی کم رنگ
۶۶	۳۴	۵۹	بنفش تیره	زرد
۶۷	۶۳	۵۵	بنفش تیره	زرد
۶۸	۷۷	۴۸	بنفش تیره	زرد
۶۹	۸۱	۷۸	آبی کم رنگ	آبی کم رنگ
۷۰	۵۴	۷۰	بنفش تیره	زرد
۷۱	۶۳	۵۲	بنفش تیره	زرد
۷۲	۶۷	۴۳	بنفش تیره	زرد
۷۳	۷۶	۵۵	بنفش تیره	زرد

ادامه جدول ۲ -

شماره لکه	۱۰۰×RF مقدار		واکنش رنگ ها	
	BAW	اسید استیک ۱۵٪	UV-NH3	UV+NH3
۷۴	۳۹	۳۰	بنفش تیره	زرد
۷۵	۶۰	۴۵	بنفش تیره	سبز کم رنگ
۷۶	۵۴	۸۰	آبی کم رنگ	فیروزه ای
۷۷	۴۶	۳۷	بنفش تیره	زرد مایل به نارنجی
۷۸	۳۰	۸۰	آبی	فیروزه ای
۷۹	۳۰	۷۰	آبی	فیروزه ای
۸۰	۳۳	۶۴	بنفش تیره	زرد
۸۱	۳۹	۷۶	بنفش تیره	زرد
۸۲	۵۳	۷۹	بنفش کم رنگ	آبی
۸۳	۵۱	۷۲	آبی کم رنگ	بنفش تیره
۸۴	۵۷	۷۱	بنفش تیره	سبز
۸۵	۶۳	۷۴	آبی کم رنگ	بنفش
۸۶	۶۷	۵۶	آبی کم رنگ	آبی کم رنگ
۸۷	۶۹	۵۲	بنفش تیره	زرد
۸۸	۶۹	۴۵	بنفش تیره	زرد مایل به سبز
۸۹	۸۰	۱۸	زرد روشن	زرد پررنگ (نارنجی)
۹۰	۵۳	۶۵	بی رنگ	زرد
۹۱	۵۸	۸۵	بنفش تیره	زرد
۹۲	۳۶	۸۰	بنفش تیره	زرد
۹۳	۵۹	۸۷	بنفش تیره	بنفش تیره
۹۴	۵۳	۶۳	بنفش تیره	زرد مایل به نارنجی
۹۵	۹۳	۷۹	آبی کم رنگ	آبی کم رنگ
۹۶	۱۶	۸۹	بی رنگ	آبی
۹۷	۶۰	۶۴	بی رنگ	آبی
۹۸	۱۹	۵۴	بنفش تیره	بنفش تیره
۹۹	۳۲	۸۲	بنفش تیره	بنفش تیره
۱۰۰	۵۷	۶۰	بنفش تیره	بنفش تیره

۱۰۱	۳۱	۶۵	بنفش تیره	زرد
۱۰۲	۶۵	۷۱	بنفش تیره	زرد
۱۰۳	۵۲	۷۵	بنفش تیره	بنفش تیره
۱۰۴	۶۲	۷۷	بنفش تیره	فیروزه ای
۱۰۵	۵۶	۷۲	بنفش کم رنگ	بنفش کم رنگ
۱۰۶	۷۸	۴۸	آبی خیلی کم رنگ	آبی خیلی کم رنگ
۱۰۷	۲۵	۷۶	فیروزه ای	فیروزه ای
۱۰۸	۵۵	۸۴	آبی کم رنگ	آبی کم رنگ

نتایج

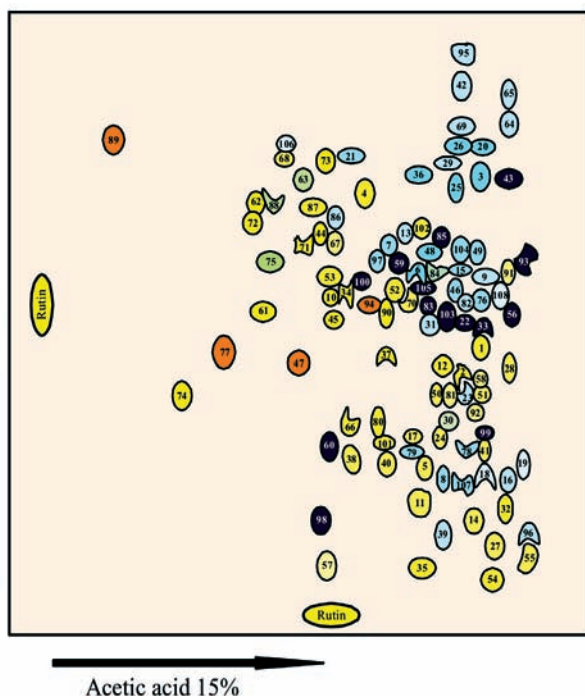
از ۲۰ گونه، زیر گونه و واریته مطالعه شده، تعداد ۱۰۸ لکه فلاونوئیدی استخراج شد که مقادیر Rf و تغییر رنگ آن‌ها با معرف‌ها در جدول ۲ آمده است.

فلاونوئیدهای استخراج شده بر اساس مقایسه مقادیر Rf و تغییر رنگ با معرف‌ها بیشتر از دسته فلاون ها، ایزو فلاون ها، فلاونول، دی هیدرو فلاونول و تعداد معدودی بی فلاونیل، چالکون ها و آنتوسیانیدین می‌باشد (۴، ۱۲).

دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌های فلاونوئیدی برای تمام

آب گرم در حال جوش قرار گرفت (۶). عصاره حاصل پس از تلغیظ به روش کروماتوگرافی کاغذی دو بعدی بر روی کاغذ واتمن شماره ۱ با دو حلال BAW (بوتانول، اسید استیک، آب مقطر به نسبت ۴، ۱، ۵) برای فاز اول و اسید استیک ۱۵٪ برای فاز دوم مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱).

برای نمایان کردن لکه‌های فلاونوئیدی از اشعه UV با طول موج ۳۶۶ نانومتر و بخار آمونیاک استفاده شد. سپس محل لکه ها، رنگ و Rf آن‌ها در هر دو فاز مشخص شد. نتایج حاصل به صورت کروماتوگرام کل برای جنس Astragalus و کروماتوگرام‌هایی برای هر تاکسون توسط نرم افزار Convas ver. ۷/۰ رسم و مقایسه شده است (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲- کروماتوگرام کل فلاونوئیدها در گونه‌های یک ساله جنس Astragalus مورد مطالعه

گونه ها، زیر گونه‌ها و واریته‌ها در شکل ۴ نشان داده شده است.

چهار خوشه در این دندروگرام قابل تشخیص است:

۱ - خوشه A شامل بخش تک گونه‌ای Bucerates DC است که کاملاً از سایر گونه‌های مورد مطالعه مجزاست. به عبارت دیگر گونه A.

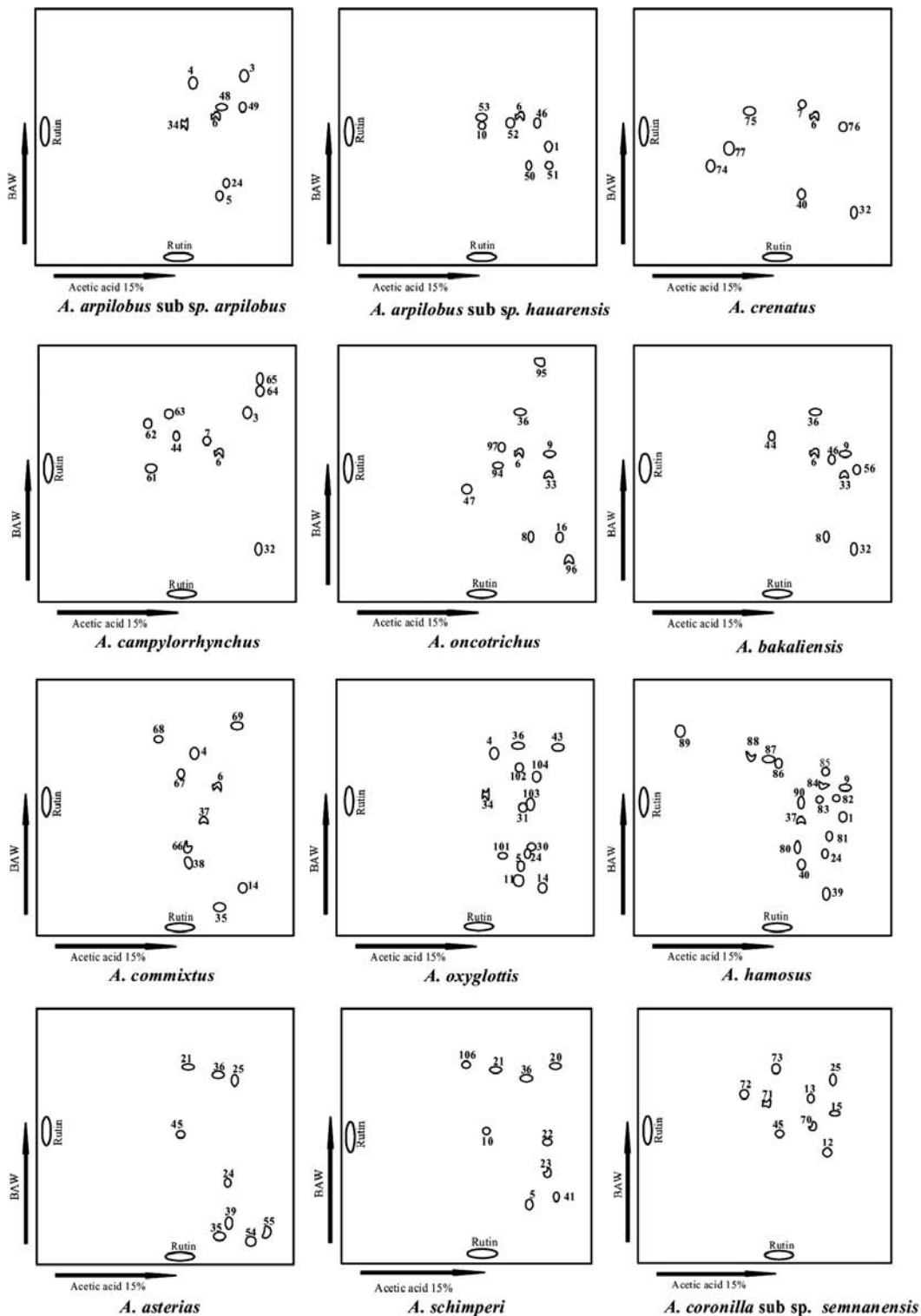


شکل ۱- تانک‌های کروماتوگرافی

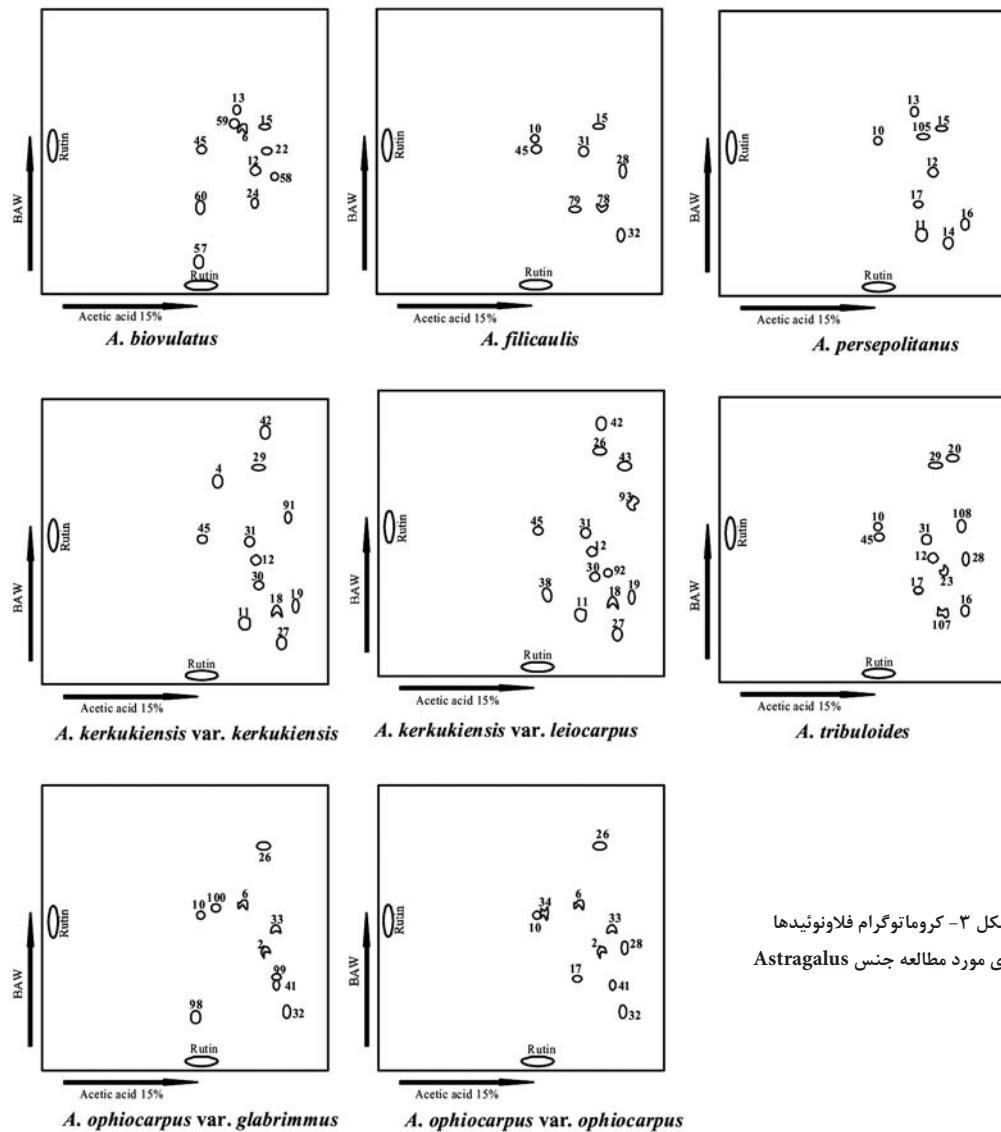
تحلیل‌های فنتیکی

به منظور استفاده از فلاونوئیدها جهت تأیید مرز بین بخش‌ها، گونه‌ها و همچنین مقایسه گونه‌ای، نتایج حاصل از حضور یا عدم حضور فلاونوئیدها به صورت صفات دو حالتی (۰ و ۱) با استفاده از نرم افزار Statistica و به روش جفت بندی بدون وزن میانگین (UPGA) مورد تجزیه خوشه‌ای قرار گرفت و نتایج حاصل به صورت دندروگرامی برای ۲۰ تاکسون مطالعه شده (OTU) نمایش داده شد (شکل ۴).

رسته بندی Ordination تاکسون‌های مورد مطالعه بر اساس داده‌های فلاونوئیدی بوسیله محورهای اصلی Principle Coordinate در نرم افزار PAST (Paleontological Statistic) مورد آزمون و تحلیل قرار گرفت تا ارتباط دو بعدی نمونه‌ها بر اساس این داده‌ها بررسی گردد (شکل ۵).



شکل ۳- کروماتوگرام فلاونوئیدها در گونه‌های مورد مطالعه جنس *Astragalus*



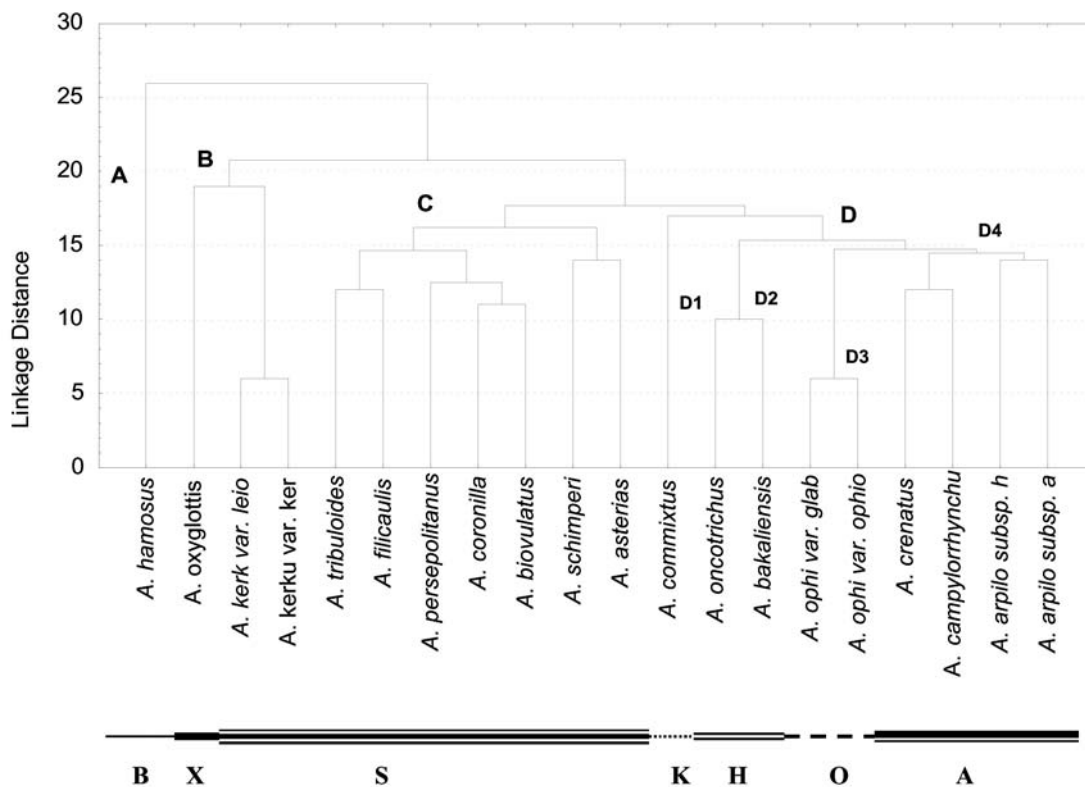
ادامه شکل ۳- کروماتوگرام فلاونوئیدها
در گونه‌های مورد مطالعه جنس Astragalus

- ۱ - گونه‌های بخش Sesamei کنار هم قرار می‌گیرند.
- ۲ - گونه *A. kerkukiensis* از سایر گونه‌های بخش Sesamei دور شده است.
- ۳ - واریته‌های مورد بررسی در دو گونه *A. ophiocarpus* و *A. kerkukiensis* کاملاً نزدیک هم قرار می‌گیرند که نشان دهنده مفهوم ساختار سیستماتیکی داده‌های فلاونوئیدی است.
- ۴ - گونه *A. hamosus* دورتر از سایر گونه‌های مورد بررسی قرار دارد.

بحث

نتایج حاصل از بررسی دندروگرام نشان می‌دهد که بخش Bucerates DC کاملاً از سایر گونه‌های مورد مطالعه مجزاست. صفات ریخت‌شناسی که این گونه را از سایر گونه‌ها متمایز می‌کند عبارت است: وجود

hamosus بیشترین فاصله را از سایر خوشه‌ها دارد. ۲- خوشه B شامل دو واریته از گونه *A. kerkukiensis* متعلق به بخش Sesamei و یک گونه از بخش Oxyglottis Bunge است. ۳- خوشه C نیز بقیه اعضای بخش Sesamei DC را شامل می‌شود. ۴- سایر بخش‌های مورد مطالعه نیز خوشه D را تشکیل می‌دهند که هر بخش به صورت مجزا از یکدیگر تشکیل زیر شاخه‌ای را می‌دهند. زیر شاخه D۱، شامل بخش Ankylotus Bunge؛ زیر شاخه D۲ شامل بخش Hispiduli Podlech؛ زیر شاخه D۳ شامل بخش Ophiocarpus Bunge و زیر شاخه D۴ نیز بخش Annulares DC را شامل می‌شود. بر طبق شکل ۵، پراکنش نمونه‌ها بر اساس محورهای اصلی اول (درصد واریانس ۱۲/۹۳، ارزش ویژه ۱/۲۸) و دوم (درصد واریانس ۹/۳، ارزش ویژه ۰/۹۳) نشان داد که:



شکل ۴- دندروگرام ۲۰ تاکسون مطالعه شده *Astragalus*، تجزیه خوشه‌ای داده‌های فلاونوئیدی با استفاده از روش UPGA.

B Bucrates, H Hispiduli, A Annulares, K Ankylotus, S sesamei, X Oxyglottis, O Ophiocarpus

(۱۳).

Bunge در سال ۱۸۶۸ گونه‌های *A. arpilobus* و *A. crenatus* را در بخش *harpilobus* Bunge *harpilobus* و گونه *A. campylorrhynchus* را در بخش *Fedschenkoana* Sirj قرار داد؛ در طبقه بندی مجدد، توسط Podlech گونه‌های مذکور در بخش *Annulares* قرار گرفتند که ترکیبات فلاونوئیدی نیز نزدیکی این گونه‌ها را به همدیگر و قرارگیری آن‌ها را در بخش *Annulares* نشان می‌دهد (۱۳، ۱۴).

بخش *Ankylotus* نیز به صورت یک زیر شاخه‌ای جدا طبقه بندی Podlech و Bunge (۱۳) را تأیید می‌کند. گونه *A. bakaliensis* توسط Bunge (۱۸۶۸) در بخش *Harpilobus* و توسط Podlech (۱۳) در بخش *Annulares* قرار گرفت. در طبقه بندی مجدد Podlech (۱۴) گونه مذکور در بخش *Hispiduli* جای گرفت. در سال ۱۹۹۱ Podlech گونه *A. oncotrichus* که در زمان Bunge جای مشخصی نداشت را در بخش *Annulares* قرار داد. وی مجدداً در سال ۱۹۹۹ گونه فوق را در بخش *Hispiduli* کنار گونه *A. bakaliensis* قرار داد. در این بررسی نیز نزدیکی این دو گونه و قرارگیری آن‌ها در بخشی جدا از بخش *Annulares* تأیید می‌شود (۱، ۴، ۱۳، ۱۴).

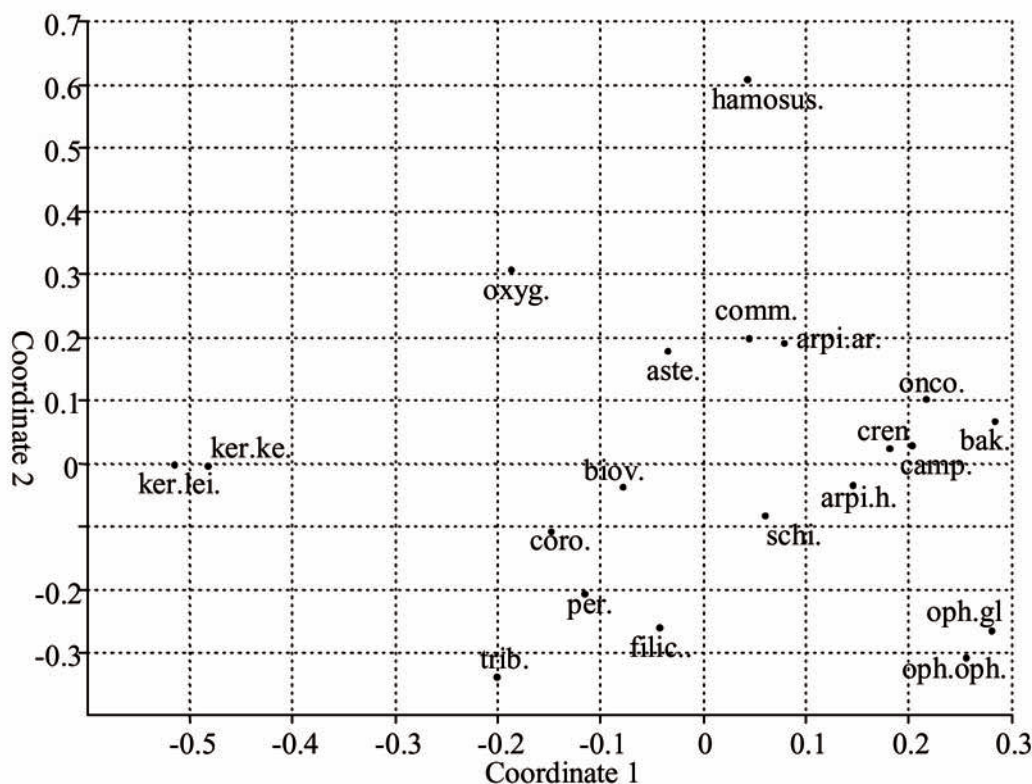
دو وارسته از گونه *A. ophiocarpus* نیز که متعلق به بخش تک گونه‌ای با نام خودش است، تشکیل یک دسته مجزا را داده است. Podlech در سال ۱۹۹۴، *Ophiocarpus* را بر اساس صفات ریخت شناسی میوه (فقدان دم میوه، خطی یا کمانی بودن، تک حجره بودن و انقباض موجود

کرک‌های دو شاخه و میوه ناشکופا، تمایز این گونه از سایر گونه‌ها بوسیله عدد کروموزومی نیز حمایت می‌گردد. اعداد کروموزومی که تا کنون برای گونه‌های یک ساله گزارش شده است همگی نشان دهنده عدد پایه کروموزومی $n=x=8$ بوده و دیپلوئیدند. در ارتباط با گونه *A. hamosus* kdc (۲) Maasoumi همین عدد پایه کروموزومی را گزارش کرد.

البته در کار ایشان گزارش‌های قبلی کروموزومی از این گونه از Kreuter در سال ۱۹۳۰ به صورت $2n=32$ ، ۴۸ اشاره شده است. به علاوه براساس ایندکس شمارش کروموزومی (۹) در سال ۱۹۹۴، Del Prete & Miceli، $2n=14$ ، Pavlova، در سال ۱۹۹۵، ۸۸، ۴۸، ۴۶، ۴۴، ۴۲، ۴۰ = $2n$ را گزارش کرده‌اند. بنابراین پلی پلوئیدی شدن در این گونه به صورت مکرر دیده شده است.

قرارگیری گونه *A. oxyglottis* از بخش *Oxyglottis* کنار دو وارسته‌ی گونه *A. kerkukiensis* متعلق به بخش *Sesamei* DC، نزدیکی این دو گونه را به هم نشان می‌دهد. تمام گونه‌های بخش *Sesamei* بجز گونه *A. kerkukiensis* با هم تشکیل یک خوشه جدا را می‌دهند، بنابراین از نظر ترکیبات فلاونوئیدی گونه مذکور تفاوت آشکاری با سایر اعضای بخش *Sesamei* دارد که این مطلب می‌تواند نشان دهنده ناهمگن بودن بخش مذکور باشد.

با توجه به شکل ۴، بقیه بخش‌ها به صورت مجزا و متمایز از یکدیگر در زیر شاخه‌هایی جداگانه قرار دارند. قرارگیری اعضای بخش *Annulares* کنار یکدیگر، در شاخه‌ای مجزا طبقه بندی Podlech را تأیید می‌کند



شکل ۵- نمودار پراکنش گونه‌ها بر اساس محورهای اصلی اول و دوم (Principle of coordinate):

oph. oph.: *A. ophiocarpus* var. *ophiocarpus* / oph. gl.: *A. ophiocarpus* var. *glabrimmus* / arpi.ar.: *A. arpilobus* subsp. *arpilobus* / arpi.h.: *A. arpilobus* sub sp. *haurensis* / camp.: *A. campylorrhynchus* / cren.: *A. crenatus* / coro.: *A. coronilla* sub sp. *semnanensis* / ker. ke.: *A. kerkukiensis* var. *kerkukiensis* / ker. lei.: *A. kerkukiensis* var. *leiocarpus* / per.: *A. persepolitanus* / biov.: *A. biovulatus* / schi.: *A. schimperi* / filic.: *A. filicaulis* / aste.: *A. asterias* / trib.: *A. tribuloides* / oxyg.: *A. oxyglottis* / hamosus: *A. hamosus* / comm.: *A. commixtus* / bak.: *A. bakaliensis* / onco.: *A. oncotrichus*

جدول ۲- مقادیر Rf و واکنش لکه‌ها با (۳۶۶ نانومتر) UV و بخار آمونیاک در گونه‌های مورد مطالعه *Astragalus*:

محورهای اصلی نیز مؤید این مطلب است. با توجه به شکل ۵، جدایی گونه *A. hamosus* از سایر گونه‌های مطالعه شده، دور افتادن گونه *A. kerkukiensis* از بخش خود و نزدیکی وارپته‌ها به هم بر اساس داده‌های فلاونوئیدی بوسیله مولفه‌های اصلی Principle of Coordinate کاملاً مشهود است. بر اساس مطالعات کموتاکسونومی انجام شده، تا حدود زیادی طبقه بندی Podlech در سال ۱۹۹۹ تأیید می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- ۱- معصومی، ع. ۱۳۸۲؛ فلور ایران. تیره پروانه آسאהا، جنس گون. موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع. ۳۸۶ صفحه.
- ۲- معصومی، ع. ۱۳۶۶؛ مطالعاتی در مورد جنس گون در ایران (۱)، سیتوتاگزونومی تعدادی از گونه‌ها. ژورنال گیاهشناسی ایران. جلد ۳. شماره ۲.

بین دانه‌ها) موقتاً" به عنوان یک جنس مجزا در نظر گرفت اما بعداً با بررسی مولکولی، وابستگی این جنس به جنس *Astragalus* مشخص شد. Kazempour Osaloo (۱۰) با استفاده از توالی داده‌های nrDNA ITS و ndhF جنس *Ophiocarpus* را درون جنس *Astragalus* قرار داد. بر اساس توالی داده‌های nrDNA ITS و ndhF و شواهد مورفولوژیکی (فرم رویشی یکساله؛ شیار طولی ساقه؛ برگ شانه‌ای فرد؛ گل آذین خوشه؛ میوه خطی، خمیده و تک حجره) نزدیکی *Ophiocarpus* به گونه‌های یکساله جنس *Astragalus* تأیید می‌شود (۹).

به طور کلی، مقایسه فلاونوئیدها نیز نشان دهنده قرابت و نزدیکی گونه *A. ophiocarpus* به سایر گونه‌های یکساله جنس *Astragalus* می‌باشد. همچنین جدایی بخش *Bucrates* از سایر بخش‌های مورد بررسی و ناهمگن بودن بخش بزرگ *Sesamei*، توسط داده‌های ریخت‌شناسی و فلاونوئیدی تأیید می‌گردد که پراکنش نمونه‌ها بر اساس

1987; Kaempferol glycosides from *Astragalus dipelta*. Chemistry of natural. 23 (3): 378-379.

12- Markham, K. R., 1982; Technique of flavonoid identification, Academic Press, 1-61.

13- Podlech, D. 1991; The systematics of the annual species of the genus astragalus L. (Leguminosae), Flora et Vegetatio Mundi, IX: 1-8.

14- Podlech, D. 1999; Flora Iranica. Papilionaceae: Astragalus, No. 174, Akademische druck- u. verlagsanstalt graz- Austria, 350.

15- Ruiz, E., Donoso, C., Gonzalez, F., Beccerra, J., Marticorena, C. and Silva, M. 1999.

Phenetic relationships between Juan Fernandez and continental Chilean species of Sophora (Fabaceae) based on flavonoid patterns. Boletín de Sociedad Chilena de Química. 44 (3): 1-7.

16- Semmar, N., Jay, M., Farman, M. and Chemli, R. 2004; Chemotaxonomic analysis of *Astragalus caprinus* (Fabaceae) based on the flavonic patterns, Biochemical Systematic and Ecology, 1-14.

17- Sharma, O.P., 1993; Plant taxonomy, Tata Mc Graw-Hill, 1-482.

18- Stace, A. C. 1989; Plant taxonomy and biosystematics. Cambridge University Press. 64-99.

19- Yahara, Sh., Kohjyouma, M. and Kohoda, H. 2000; Flavonoid glycosides and saponins from *Astragalus shikokianus*. Phytochemistry. 53: 469-471.

موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع. صفحات: ۱۲۸-۱۱۷.

۳ - معصومی، ع. ۱۳۶۵؛ گون‌های ایران. جلد اول. موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع. ۱۰۶ صفحه.

4- Bohm, A. B., 1998; Introduction to flavonoids, Harwood academic publishers, 1-400.

5- Bunge, A., 1868; Generis Astragali Species gerontogae, Pars Prior, in calve diagnostica, Mem. Aca. Imp. Sci. Saint-Peterbourg, 11/16: 1-160.

6- Challice, J. S. and Kovanda, M. 1978; Chemotaxonomy survey of the genus sorbus in Europe, Naturwissenschaften, 65: 111-112.

7- Chang, C., Jeon, J. 2003; Leaf flavonoids in *Cotoneaster wilsonii* (Rosaceae) from the island Ulleung-do, Korea. Biochemical systematics and Ecology. 31: 171-179.

8- Gazer, M. 1993; Revision of astragalus L. sect. Sesamei Dc. Sendtnera, 1: 69-155.

9- Goldblatt, P. and Johnson, D. E. 1994-1995, Index to plant chromosome numbers, Missouri Botanical Garden Press, p. 80.

10- Kazempour Osaloo, S., Maassoumi, A. A. and Muralcami, N. 2003, Molecular systematics of the genus astragalus L. (Fabaceae): Phylogenetic analyses of nuclear gene ndhF Sequences, Plant Systematics and Evolution, 242: 1-32.

11- Lukyanchikov, M. S., Guzhva, N. N. and Elisevich, D. M.