# بررسی میزان ماده موثره هیپریسین در گیاه دارویی علف چای (*Hypericum perforatum* L.) در رویشگاه‌های مختلف غرب گلستان (مطالعه موردی: پارک ملی گلستان، رامیان)

**سیده‌خدیجه مهدوی[۱]، پریناز اصغری[*۲]، معصومه مازندارانی[۳]، سیدعلی حسینی(سیدحبیب)[٤]، هومان بیات[٥]**

[۱] استادیار، دانشگاه آزاداسلامی واحد نور گروه منابع طبیعی، نور، ایران.

[۲] کارشناسی‌ارشد مرتعداری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نور

[۳] استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

[٤] استادیار و عضو هیات‌علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع‌طبیعی استان گلستان

[٥] داروساز و مسئول فنی شرکت کشت و صنعت گیاهان دارویی نیاک

**تاریخ دریافت: ۹۲/٤/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/٦/۲۰**

**چکیده**

هیپریسین به‌عنوان مهمترین ماده موثره گونه‌های علف چای می‌باشد. لذا آگاهی از وضعیت تغییرات میزان هیپریسین در طبیعت به شناخت نیاز گونه‌های مختلف علف چای در شرایط زراعی کمک می‌کند با توجه پراکنش گیاه علف چای در زیستگاه طبیعی استان گلستان دو منطقه پارک ملی گلستان در غرب و رامیان در شرق استان گلستان انتخاب شدند. برای نمونه‌برداری از گیاهان، ابتدا از پایین‌ترین سطح ارتفاعی تا بالاترین نقطه‌ای که این گیاه در این دو منطقه رویت شد چهار طبقه ارتفاعی ۳۰۰، ٦۰۰، ۹۰۰ و ۱۲۰۰ متر تعریف شد. نمونه‌های گیاهی در مرحله گلدهی کامل از ۲۰ تا ۲۵ سانتی‌متر انتهای سرشاخه گلدار برداشت شدند. با استفاده از روش ماسراسیون سرد عصاره متانولی نمونه‌های گیاهی استخراج و با استفاده از دستگاه HPLC مقدار هیپریسین نمونه‌های گیاهی هر منطقه تعیین شد. تجزیه تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS صورت گرفت. نتایج نشان داد که در هر دو رویشگاه با افزایش ارتفاع میزان هیپریسین نیز افزایش یافته و بین دو رویشگاه نیز میزان هیپریسین در سطح ۵ درصد متفاوت بوده است به‌طوری‌که رویشگاه رامیان از میزان هیپریسین بیشتری (۲/۱۸ درصد) نسبت به رویشگاه پارک ملی گلستان (۱/۷۵درصد) برخوردار بود. نتایج بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در دو رویشگاه نشان داد بین پارامترهای خاک مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد وجود دارد.

**واژگان کلیدی:** علف چای، رویشگاه‌های غرب استان گلستان، هیپریسین، *Hypericum perforatum* L.

[*]مسئول مکاتبه: asghari_parinaz@yahoo.com

**مقدمه**

در قرن اخیر، به دنبال افزایش بروز اثرات جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، رویکرد دوباره به استفاده از گیاهان دارویی گسترش یافته است. رویکرد فزاینده و تقاضای رو به افزون از این سرمایه خدادادی، گذشته از آثار و تبعات منفی بر ساختار و تنوع زیستی جوامع گیاهی مراتع، کاهش پوشش حفاظتی سطح خاک و افزایش فرسایش آن، در برخی موارد باعث کاهش و حتی حذف گونه‌های ارزشمند و انحصاری شده است. اگر چه تولید مواد موثره گیاهان دارویی با هدایت فرآیندهای ژنتیکی است، ولی به‌طور بارزی تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می گیرد، به‌طوری که عوامل محیطی سبب تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و نیز کمیت و کیفیت مواد موثره آنها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، اسانس‌ها و امثال آنها می گردد (Omid beigi, 1995). در اکوسیستم‌های طبیعی، عوامل مختلف اقلیم، خاک و موقعیت جغرافیایی تاثیر عمده‌ای در افزایش یا کاهش کمیت و کیفیت مواد موثره گیاهان دارند (Lebaschi, et al., 2004؛ Omidbeigi, 2009). گیاه علف چای (*H.perforatum* L.) با نام انگلیسی St Johns Wort شناخته می‌شود (Hoelzl, Ostrowski, 1986) در ایران، در نواحی شمال، شمال غرب و شمال شرق، غرب، استان‌های فارس، کهکیلویه و دامنه کوه‌های البرز وجود دارد (Azadi, 2001). در استان گلستان از ارتفاع صفر تا بیش از ۱۲۰۰ متر در زیستگاه طبیعی پراکنش دارد (Dorri, et al., 2009). اولین بار استخراج ماده موثره هیپریسین در بیش از پنجاه سال قبل، از گونه‌های علف چای انجام شد (Walker, 1999). ماده هیپریسین موجود در گیاه علف چای، از زمانهای بسیار دور در طب کاربرد داشته است و امروزه با تهیه داروهایی بر اساس ماده اولیه هیپریسین در درمان برخی بیماری‌ها مانند افسردگی و سردردهای میگرنی از آن استفاده می‌شود (Kireeva, et al., 1998).

Umek, et al.,1999 هفتاد و چهار نمونه از شش گونه گیاه علف چای را در اسلوونی جمع‌آوری و میزان ده ماده موثره موجود در آنها از جمله هیپریسین را بررسی و بیان نمودند که بالاترین مقدار مواد موثره مورد بررسی در گل‌های گونه *H.perforatum* پیدا شد. بررسی تاثیر مناطق رویشی بر خصوصیات ظاهری و میزان هیپریسین گیاه علف چای در هفت منطقه آمریکا تاثیر معنی‌دار منطقه را بر خصوصیات ظاهری گیاه و همچنین تولید هیپریسین تایید کرده است (Walker, et al., 2001). در بررسی میزان هیپریسین در بین رویشگاه‌های گرگان، نوشهر، سیاهکل و خلخال، بیشترین میزان هیپریسین در گرگان بدست آمد (Lebaschi, et al., 2004). جمع‌آوری نمونه‌های علف چای از نواحی مختلف ایتالیا برای تعیین میزان هیپریسین آن، نشان داد مقدار این ماده در نواحی مختلف با یکدیگر تفاوت دارد (Pietta, et al., 2001). Marina, et al., 2008 در بررسی اثر ارتفاع رویشگاه بر روی میزان هیپریسین و پسودو هیپریسین در یونان در ارتفاعات بین ۱۰۰ و ٦۰۰ بالای سطح دریا به این نتیجه رسیدند که تفاوت‌های زیادی در میزان کلی هیپریسین وابسته به ارتفاع زیستگاه وجود داشته است که با افزایش ارتفاع میزان کلی هیپریسین افزایش یافته است.

یکی از مشخصه‌های گیاه علف چای وجود غدد رنگی به‌صورت نقاط ریز و پراکنده بر روی اندام این گیاه است که محققان معتقدند تولید هیپریسین با این غدد ارتباط دارد (Briskin, Gawienowski, 2001).

Poutaraud, et al., 2001 در بررسی‌های خود نشان دادند که کیفیت نور و شدت آن نیز، غلظت‌های هیپریسین را در *H.perforatum* تغییر می‌دهد.

Bais, et al., 2003 نشان دادند که می‌توان از توده‌های سلولی گیاه علف چای تحت شرایط نور هایپریسین‌ها را تولید کرد.

تعداد غده‌های روی گیاه علف چای تحت تاثیر شدت نور فتوسنتزی تغییر کرده و هرچه شدت نور فتوسنتزی افزایش یابد تعداد این غده‌ها نیز افزایش می‌یابد (Zobayed, et al., 2006). Asadian, et al., 2011 در بررسی تغییرات ترکیب‌های فیتوشیمیایی گلراعی (*Hypericum perforatum* L.) رویش یافته در شمال ایران اکوتیپ‌های مورد بررسی در پنج منطقه از غرب مازندران شناسایی و در سه ارتفاع و چهار نمونه‌برداری از هر ارتفاع (مجموع ٦٠ نمونه) اقدام به نمونه‌گیری نموده و پس از ثبت مشخصات جغرافیایی، نمونه‌ها مورد آنالیز قرار گرفت. آزمایشات نشان دادند که بیشترین مقدارهایپریسین (٠/٢٥١ درصد) وفنل کل (٤٠٥ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در منطقه جنت‌رودبار و ارتفاع ١٤١٠ متر، بیشترین مقدار فلاونویید (٧٣ میکروگرم در میلی‌لیتر) در منطقه قلعه‌گردن و ارتفاع ١٦٢٥ متر و بیشترین کارتنویید (٠/١٣ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) از منطقه پلزنگوله در ارتفاع ١٥٥٠ متری حاصل شد و نتیجه گرفتند که ارتفاع مطلوب رویش در منطقه جنت‌رودبار می‌تواند جایگاه کشت مناسبی جهت تولید و بهره‌برداری از این گیاه باشد.

کمیت و کیفیت مواد موثره در گونه‌های علف چای تحت تاثیر خصوصیات جغرافیایی محل رویش شامل مکان، آب و هوا و همچنین زمان تغییر می کنند (Ouber, 2007)، لذا با توجه به رویشگاه‌های فراوان این گونه در مناطق مختلف استان گلستان، این تحقیق به منظور بررسی تاثیر عوامل اکولوژیکی و رویشگاهی بر میزان ماده موثره هیپریسین صورت گرفته است.

## مواد و روش‌ها

### مواد

به‌منظور تعیین رویشگاه بهینه در سنتز بالاترین میزان ماده موثره هیپریسین در گیاه علف چای (*H.perforatum*) در رویشگاه‌های طبیعی استان، دو منطقه تنگراه در محدوده غربی پارک ملی گلستان و منطقه رامیان در شرق انتخاب شدند. منطقه تنگراه با طول جغرافیایی ٥٥ درجه و ٤٧ دقیقه طول شرقی و عرض ٣٧ درجه و ٢٥ دقیقه عرض شمالی، دارای اقلیم نیمه مرطوب معتدل با متوسط بارندگی سالیانه ٩٥٠ میلی‌متر در ارتفاعات پایین و در ارتفاعات بالا ٧٥٠ تا ٨٠٠ میلی‌متر می‌باشد. خاک منطقه سیلت–لوم است. منطقه رامیان با طول جغرافیایی ٥٤ درجه و ٥٠ دقیقه طول شرقی و عرض ٣٦ درجه و ٥٠ دقیقه عرض شمالی، دارای اقلیم نیمه مرطوب سرد، در ارتفاعات پایین متوسط مجموع بارندگی سالیانه ٨٥٠ میلی‌متر و در ارتفاعات بالا ٧٠٠ میلی‌متر است. خاک رسی شنی لوم‌دار می‌باشد که هر دو منطقه مورد مطالعه، جز مناطق جنگلی کوهستانی استان محسوب می‌شوند. برای نمونه‌برداری، در دامنه جنوبی دو منطقه مورد مطالعه، ابتدا با استفاده از GPS، از پایینترین سطح ارتفاعی تا بالاترین نقطه‌ای که این گیاه رویت شد، چهار طبقه ارتفاعی ٣٠٠، ٦٠٠، ٩٠٠ و ١٢٠٠ متر انتخاب و سرشاخه‌های هوایی و گلدار گیاه، در اواسط خردادماه ١٣٩٠ (5 Jun تا 12 Jun 2011)، به‌ترتیب از ارتفاعات ٣٠٠ متری تا ١٢٠٠ متری با ٣ تکرار جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها پس از پاک سازی در هوای آزاد در سایه خشک و در پاکت‌های کاغذی نگهداری و جهت عصاره گیری و تعیین ماده موثره گیاه به آزمایشگاه انتقال یافت.

### تهیه عصاره متانولی گیاه

به‌منظور تهیه عصاره متانولی گیاه علف چای، نمونه‌های خشک شده سرشاخه‌های گلدار گیاه، توزین و با کمک‌هاون چینی کاملاً پودر شد . جهت عصاره‌گیری از متانول ۸۰ درصد و از روش ماسراسیون سرد استفاده شد ( Hajipour et al., 2009)، بدین‌صورت که مقدار ۱ گرم از پودر گیاه توزین و مقدار ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به آن افزوده شد، سپس به‌مدت ٢٤ ساعت تکان داده شد (با استفاده از دستگاه لرزاننده) و پس از طی زمان مربوطه، عصاره‌ها صاف و پس از حذف حلال از عصاره، نمونه‌ها تا قبل از تجزیه با دستگاه HPLC، در شیشه‌های دودی رنگ و در یخچال نگهداری شدند.

**شرایط دستگاهی HPLC**

دستگاه HPLC مورد استفاده، مدل Agilent 1200 Series، دتکتور مدل UV-Agilent، با طول موج ۵۹۰ نانومتر تنظیم شد. ستون مورد استفاده ZORBAX XDB C18 به ابعاد ١٥٠×٤/٦ mm و اندازه ذرات µm ۵ فاز متحرک سدیم دی هیدروژن فسفات (١٥/٦g/lit): اتیل استات: متانول (٤١:٣٩:١٦٠) با شویش ایزوکراتیک (سرعت ml/min ۱) و مقدار نمونه تزریق شده ۲۰ میکرولیتر بود، زمان انجام آزمایش مدت ۱۵ دقیقه به طول انجامید (Malgorzata, et al., 2010).

**تهیه استاندارد**

یک میلی‌گرم هیپریسین استاندارد از شرکت Sigma-Aldrich با شماره کاتالوگ K56178١٢٣ خریداری شد.

**بررسی میزان هیپریسین در نمونه‌های مختلف**

برای اندازه گیری مقدار هیپریسین از روش تک استاندارد استفاده شد. در این روش، استاندارد هیپریسین با غلظت۱۰۰ پی پی ام به دستگاه تزریق و سپس سطح زیر منحنی پیک هیپریسین در نمونه استاندارد توسط نرم‌افزار دستگاه HPLC محاسبه شد، سپس عصاره رویشگاه‌های مختلف به مقدار ۲۰ میکرولیتر به دستگاه تزریق شد. با مقایسه سطح زیر پیک هیپریسین نمونه‌های رویشگاه‌های مختلف مورد بررسی با سطح زیر پیک هیپریسین نمونه استاندارد، غلظت هیپریسین نمونه‌ها محاسبه گردید. به‌منظور مطالعه و تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در هر یک از طبقات ارتفاعی ۳ نمونه خاک با حفر پروفیل از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری زمین در پای بوته‌های گیاه برداشت شد و برای آزمایشات مختلف بر روی آنها به آزمایشگاه خاک‌شناسی منتقل گردیدند.

**تجزیه و تحلیل آماری**

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام شد. ابتدا نرمال بودن متغیرهای مورد بررسی، از طریق آزمون کولموگروف–اسمیرنوف بررسی شد و پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها، از آزمون t و جهت مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. در نهایت با استفاده از نرم افزار Excel نمودارها ترسیم گردید.

**نتایج**

با توجه به جدول (۱)، نتایج تجزیه واریانس نشان داد بین میزان هیپریسین در چهار طبقه ارتفاعی در دو رویشگاه تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد وجود دارد به‌طوری‌که میزان هیپریسین در ارتفاع ۱۲۰۰ متر در رویشگاه رامیان بیشترین مقدار و در ارتفاع ٦٠٠ متر در رویشگاه پارک ملی گلستان کمترین مقدار می‌باشد (شکل ۲). همچنین با توجه به جدول (۲)، نتایج آزمون t نشان داد بین مقادیر هیپریسین در جفت طبقات ارتفاعی مختلف دو رویشگاه مورد مطالعه در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌دار وجود دارد به‌طوری‌که میزان هیپریسین رویشگاه رامیان در ارتفاع ۳۰۰ متر به‌میزان (۲/۲۱)،

ارتفاع ٦٠٠ متر به میزان (١/٩٦)، ارتفاع ٩٠٠ متر به میزان (٢/١٥)، ارتفاع ١٢٠٠ متر به میزان (٢/٤٣) بیشتر از رویشگاه پارک ملی گلستان در ارتفاع ٣٠٠ متر به میزان هیپریسین (١/٩٠)، ارتفاع ٦٠٠ متر (١/٣٩)، ارتفاع ٩٠٠ متر (١/٧٠) و ارتفاع ١٢٠٠ متر (٢/١٠) می‌باشد (جدول ٢) و (شکل ١). با توجه به شکل ١ در هر دو منطقه پارک ملی گلستان و رامیان، با افزایش ارتفاع، به غیر از ارتفاع ٦٠٠ متر، بر میزان هیپریسین افزوده شد به‌طوری‌که در هر دو منطقه، در ارتفاع ١٢٠٠ متر، بیشترین مقدار هیپریسین و در ارتفاع ٦٠٠ متر، کمترین مقدار هیپریسین مشاهده شد. بر اساس نتایج خاک در جدول ٣ نتایج نشان می‌شود که پارامترهای مورد مطالعه در دو رویشگاه و در طبقات مختلف ارتفاعی تفاوت معنی‌داری در سطح ٥ و ١ درصد دیده می‌شود.

**بحث**

با توجه به نتایج مشخص می‌شود که میزان تولید هیپریسین در طبقات مختلف ارتفاعی هر دو منطقه، تفاوت‌هایی را از خود نشان داده است (شکل ١). با توجه به جدول ١ و شکل ١، در دو طبقه ارتفاعی ١٢٠٠ متر و ٣٠٠ متر در هر دو منطقه مورد مطالعه، از سایر نقاط نمونه‌برداری ماده هیپریسین به میزان بیشتری استخراج شد. یکی از دلایل آن ممکن است اثر همیارانه شدت نور بالا و تابش اشعه ماورای بنفش افزایش یافته در زیستگاه‌های مرتفع می‌باشد که توسط دماهای معتدل‌تر مطلوب واقع شده باشد که در ارتفاع ١٢٠٠ متر از سطح دریا رایج می‌باشد. در رویشگاه پارک ملی گلستان و رامیان در خرداد ماه حداکثر دما در ارتفاعات پایین‌تر حدود ٢٨ تا ٣٢ درجه سانتی‌گراد می‌باشد که می‌تواند به معنای فشاری برای گیاهان باشد، در حالی که در همان زمان در ارتفاع ١٢٠٠ متر حداکثر دما نسبتاً حدود ٢٥ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. مشهود است که شدت‌های نور افزایش یافته در دماهای متوسط، فشار تحریک روی دستگاه فتوسنتزی را زیاد می‌کند، بنابراین میزان فتوسنتز حداکثر افزایش یافته را حاصل می‌آورد، از طرف دیگر تابش ماورای بنفش افزایش یافته، در ترکیب با شدت‌های نور بالا و دماهای پایین‌تر، به‌طور واضح بر فشار و تحریک روی دستگاه فتوسنتزی اثر نمی‌گذارد، به همین علت به احتمال زیاد این امر تحریک متابولیت‌های ثانویه را القا می‌کند که این توضیح برای میزان هیپریسین تقویت شده در گیاه *Hypericum perforatum* L. که در ارتفاع بالاتر رشد می‌کنند معقول می‌باشد. Storanova, Apostdova., 1992 در مطالعه‌ای که در مورد تاثیر ارتفاع محل بر ترکیبات بیوشیمیایی گل راعی انجام داد چنین نتیجه گرفت که ترکیبات بیوشیمیایی اندام‌های هوایی گل راعی به ارتفاع محل بستگی دارد به‌طوری‌که مقدار فلاونوئید و تعدادی از اسیدها با کاهش ارتفاع تقلیل یافتند در این بررسی نتایج نشان داد که این گیاه در ارتفاع ١٢٥٠ متر از سطح دریا بیشترین مقدار ترکیبات شناخته شده را دارد که بهترین ارتفاع برای افزایش ترکیبات، ارتفاع ١٢٥٠ متر پیشنهاد گردید که این نتیجه با نتایج تحقیق حاضر، همخوانی دارد. از طرفی بدین علت که با توجه به اینکه مناطق مورد بررسی، مناطق جنگلی کوهستانی است، در این دو طبقه ارتفاعی، از تراکم درختان جنگلی کاسته شده بود و فضای باز بیشتری برای رشد مناسب گیاه علف چای فراهم شده بود و حتی در سطح زیادی از این طبقات فاقد پوشش درخت بود. بدین‌ترتیب، باعث می‌شود نور فراوان خورشید در طول دوره رشد فراهم و در اختیار گیاه علف چای قرار گیرد. کاهش مدت زمان سایه به علت افزایش دسترسی به نور خورشید در این نقاط، باعث فراهم شدن حرارت بیشتر در طول روز شده که در افزایش میزان هیپریسین موثر می‌باشد، این

نتیجه با بررسی انجام شده توسط Zobayed, et al., 2005بر روی افزایش حرارت به‌عنوان یکی از عوامل موثر در افزایش متابولیت‌های ثانویه و هیپریسین در علف چای مطابقت دارد. همچنین دسترسی به نور بیشتر در این مکان‌ها بر اساس تحقیقات انجام شده در افزایش تعداد غده رنگی در اندام گیاه موثر می‌باشد که این عاملی در تولید بیشتر هیپریسین است. بین خصوصیات نور و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی، ارتباط تنگاتنگی وجود دارد و نقش اکوفیزیولوژیک روشنایی در تولید فرآورده‌های مذکور اساسی می‌باشد، فعالیت گیاهان در سنتز متابولیت‌های ثانویه تحت تاثیر وضعیت‌های مختلف نوری تغییر می‌کند (Bernath, 1986). بررسی که توسط Kartnig, and Heydel.,1993 انجام گرفت، اثرات نورهای مختلف بر افزایش تولید هیپریسین در گل راعی مورد تایید قرار گرفت. همچنین این نتیجه با نتایج تحقیقات Zobayed, et al., 2006 و Briskin, et al., 2001، مطابقت دارد. با توجه به جدول ۲ و شکل ۱ نتایج مقایسه میزان هیپریسین در دو رویشگاه پارک ملی گلستان و رامیان نشان می‌دهد که از نظر میزان هیپریسین بین این دو رویشگاه تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد وجود دارد به‌طوری‌که رویشگاه رامیان نسبت به رویشگاه پارک ملی گلستان از میزان هیپریسین بیشتری برخوردار است. علت آن تغییر شرایط زیستگاه، اقلیم، خاک و تنش اکولوژیکی می‌باشد. با توجه به این که در رویشگاه رامیان نسبت به رویشگاه پارک ملی گلستان از تراکم درختان کاسته شده است، در نتیجه گیاه علف چای در رویشگاه رامیان نسبت به رویشگاه پارک ملی گلستان از نور بیشتری برخوردار است که باعث می‌شود میزان متوسط تولید هیپریسین در این منطقه بیشتر از منطقه پارک ملی گلستان باشد Briskin, et al., 2001، بیان داشتند هنگامی که *Hypericum perforatum* L. تحت شدت‌های نور بالا رشد می‌کند، غلظت هیپریسین به‌طور واضح افزایش می‌یابد، مطابقت دارد. در نتیجه می‌توان بالا بودن میزان هیپریسین در رویشگاه رامیان را، دسترسی به نور بیشتر گیاه علف چای در رویشگاه رامیان نسبت داد. همچنین تحقیقات نشان داد که که یک رابطه بین متابولیت‌های ثانویه گیاهان و محیط اطراف وجود دارد که ترکیبات ثانویه گیاهان توسط شرایط محیطی مانند دما، تابش ماورای بنفش، موجودیت آب و ارتفاع، تحت تاثیر می‌باشد (Gobbo-Netto, Lopes., 2007). از طرفی دو منطقه مورد مطالعه، از نظر اقلیم باهم متفاوت هستند به‌طوری‌که اقلیم رویشگاه پارک ملی گلستان، مرطوب–معتدل و اقلیم رویشگاه رامیان، نیمه مرطوب–سرد می‌باشد، همچنین از نظر بارندگی، منطقه رامیان، نسبت به منطقه پارک ملی گلستان، از بارندگی کمتری (متوسط بارندگی تقریباً ٤٥٠ میلی‌متر در مقابل متوسط بارندگی ۷۰۰ میلی‌متری پارک ملی گلستان) برخوردار است و دوره خشکی در منطقه رامیان بیشتر از منطقه پارک ملی گلستان می‌باشد که این می‌تواند دلیلی بر متفاوت بودن میزان هیپریسین در دو منطقه مورد مطالعه باشد که با نتایج Pietta, et al., 2001، Ouebr., 2007، مطابقت دارد. در تحقیقات متعددی، تاثیر شرایط محیطی رویشگاه گیاه بر کمیت و کیفیت مواد موثره گیاهان دارویی بررسی و تایید شده است (Zobayed, et al., 2005؛ Walker, et al., 2001؛ Dorri, et al., 2009) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. از نظر بافت خاک (درصد شن، سیلت، رس)، دو منطقه مورد مطالعه، متفاوت از هم هستند به‌طوری‌که بافت خاک منطقه رامیان لومی و بافت منطقه پارک گلستان سیلت لومی می‌باشد که تفاوت در میزان هیپریسین دو رویشگاه را می‌توان به تفاوت بافت خاک دو منطقه مورد مطالعه نسبت داد. اگرچه در مکان‌های رویش از لحاظ وضعیت عناصر

غذایی موجود در خاک اختلافاتی مشاهد شد، اما تاثیر آن بر تغییرات ماده هیپریسین قابل ملاحظه نبود. این موضوع در نتایج برخی محققان دیگر نیز اشاره شده است (Lebaschi, 2000؛ Dorri, et al., 2009؛ Barl, et al., 2002). بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عوامل اکولوژیکی و رویشگاهی بر میزات تغییرات ماده موثره این گیاه نقش دارند. از نتایج حاصل از تجزیه خاک دو منطقه چنین به نظر می‌رسد که *Hypericum perforatum* L. در خاکی با بافت لومی متمایل به لومی سیلتی می‌روید. طبق نتایج بدست آمده و با توجه به جدول ٤-٧، مشاهده می‌شود که در هر دو رویشگاه مورد مطالعه، با افزایش ارتفاع، بر میزان شن خاک، افزوده می‌شود و خاک سبک تر می‌شود و از میزان رس خاک به‌غیر از ارتفاع ٦٠٠ متر، کاسته می‌شود که می‌توان بالا بودن میزان هیپریسین در ارتفاع ١٢٠٠ متر و پایین بودن میزان هیپریسین در ارتفاع ٦٠٠ متر را به تغییرات بافت خاک نسبت داد Braunewell., 1991؛ Berath, 1986 در بررسی‌های خود به این نتیجه رسیدند که گل راعی در محدوده وسیعی از خاک‌ها رشد می‌کند ولی بهترین رشد را در خاک‌های سبک و عمیق دارد. در دو رویشگاه مورد مطالعه در ارتفاع ١٢٠٠ متر، میزان اسیدیته خاک کاهش یافته و در ارتفاع ٦٠٠ متر، اسیدیته خاک افزایش یافته است. می توان نتیجه گرفت در این دو رویشگاه از نظر اسیدیته خاک، بهترین اسیدیته برای افزایش میزان هیپریسین، اسیدیته بین ٧/٢ تا ٧/٤ می‌باشد. Ejtehadi, et al., 2004 در مطالعه بررسی برخی از جنبه‌های تک بوم‌شناسی گل راعی در استان خراسان به این نتیجه رسیدند که گل راعی در خاک‌های غیر شور، آهکی و سبک دارای pH بین ٧/٥ تا ٨ از رشد مناسبی برخوردار می‌باشد. از نظر هدایت الکتریکی خاک، در رویشگاه پارک ملی گلستان و رامیان در ارتفاع ١٢٠٠ متر، بر میزان EC خاک افزوده شده است که می‌توان بالا بودن میزان هیپریسین در ارتفاع ١٢٠٠ متر در هر دو رویشگاه را، به بالا بودن میزان EC خاک، به عبارتی شور شدن خاک نسبت داد که می‌توان از آن به‌عنوان عامل دیگر برای افزایش میزان هیپریسین به‌کار برد. با توجه به جدول ٣ مشاهده می‌شود که در دو رویشگاه مورد مطالعه، در ارتفاع ١٢٠٠ متر، بر میزان نیتروژن و پتاسیم خاک، افزوده شده است و فسفر خاک در ارتفاع ٣٠٠ متر هر دو رویشگاه مورد مطالعه افزایش یافته است که می‌توان بالا بودن میزان هیپریسین در ارتفاع ١٢٠٠ متر دو رویشگاه مورد مطالعه را به بالا بودن میزان نیتروژن و پتاسیم خاک نسبت داد و بالا بودن میزان فسفر خاک در ارتفاع ٣٠٠ متر را می‌توان یکی از دلایل بالا بودن میزان هیپریسین در ارتفاع ٣٠٠ متر نسبت به ارتفاع ٦٠٠ و ٩٠٠ متر نسبت داد. از نظر کربن آلی خاک در طبقات ارتفاعی مختلف دو رویشگاه مورد مطالعه، ارتفاع ١٢٠٠ متر، از میزان کربن آلی بیشتری نسبت به بقیه ارتفاعات مورد بررسی برخوردار است که افزایش کربن آلی خاک در ارتفاع ١٢٠٠ متر در دو رویشگاه مورد مطالعه را می توان دلیل دیگری برای افزایش میزان هیپریسین گیاه مورد مطالعه در این ارتفاع از دو رویشگاه دانست. طبق نتایج Yesaghi, 2006 در بررسی نیازهای اکوفیزیولوژیک گل راعی در سه رویشگاه استان گلستان، شرایط بهینه برای رشد گونه *H. perforatum* L. را شرایط خاکی سرشار از کربن گزارش نمود که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

## نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج آماری بدست آمده از این تحقیق، مشاهده شد میزان ماده موثره هیپریسین در گیاه گل راعی *Hypericum perforatum* L.، در طبقات ارتفاعی مختلف هر دو منطقه مورد مطالعه، متفاوت است، به‌طوری‌که در ارتفاع ١٢٠٠ متر هر دو

منطقه، میزان هیپریسین بیشتر و در ارتفاع ۶۰۰ متر میزان هیپریسین کمتری از گیاه استخراج شد. بنابراین با افزایش ارتفاع میزان هیپریسین افزایش می‌باید چرا که میزان نور بیشتری را رنگدانه‌ها دریافت می‌کنند و از طرفی همین علت سبب شده که رویشگاه رامیان نسبت به رویشگاه پارک ملی گلستان از میزان هیپریسین بیشتری برخوردار باشد چون در رویشگاه رامیان نسبت به رویشگاه پارک ملی گلستان از تراکم درختان کاسته شده است، در نتیجه گیاه علف چای در رویشگاه رامیان نسبت به رویشگاه پارک ملی گلستان از نور بیشتری برخوردار است که باعث می‌شود میزان متوسط تولید هیپریسین در این منطقه بیشتر از منطقه پارک ملی گلستان باشد.

## منابع


1. Asadian, Gh.Al., Rahnavard, A., Khalil pour, Sh., Ghorbanpour, M., and Taghavi, M.S. 2011. Study of Variation of Biochemical Components in *Hypericum perforatum* L. Grown in North of Iran. Journal of Research in Agricultural Science, 7(1): 27-36.
2. Azadi, R. 2001. The Flore of Iran: the holotype of Hypericaceae. Research Institute of Forest and Rangeland. No.1:12p.
3. Bais, H.P., vepacheda , R., Lawrence , C.B., stermitz., F.R., and Viranco, Y.M., 2003. Molecular and biochemical characterization of an enzyme responsible for the formation of Hypericine in St. Johns wort *Hypericum perforatum* S., J. Bio L. chem. Vol. 278. pp: 32413-32422.
4. Barl, B., Dragl, S. and Salamon, I., 2002. The effect of Soil Nutrients on the Phytochemical Profile of Nutraceutical Crops. Proceedings of the Simposium on Fertilizing Crops for Functional Food, 11-13 November, www.ppi-ppic.org/PPiweb/filelibNsf.Chapter6:1-3.
5. Bernath, J., 1986, Production on ecology of secondary plants products, Herbs, spices and medicinal plants Vol. 1. Oryx press, Arizona, 185-234.
6. Braunewell, H., 1991. Okologisch, on togenetische und morphogenetische Einflusse auf Ertrag und Inhaltsstoffgehalt von *Hypericum* spp. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktotgrades. Universitat Giesen, 252.
7. Briskin, D.P. and Gawienowski, M.C., 2001. Differential effects of light and nitrogen on Production of hypericins and leaf

glands in *Hypericum Perforatum*. Plant Physiology and Biochemistry, 39(12): 1075-1081.

8. Dorri, M.H., Hosseini, S.A., and Lebaschi, M.H. 2009. Investigating the amount of hypericin in two natural sites of *Hypericum perforatum* in Golestan province. Iranian Scientific Research Quarterly Journal of Aromatic Herbs, 24(2): 117-125.

9. Ejtehadi, H., Kianmehr, H., and Notghi moghaddam, R. 2004. Study of certain aspects of monoecology of *H.perforatum* L. in the regions of Khorasan province. Iranian Journal of Biology, 14 (1-2): 4753.

10. Gobbo-Netto, L., and Lopes, N.P. 2007. Medicinal plants: Factors of influence on the content of secondary metabolides. Quim Nova, 30: 374-81.

11. Hajipour, H., Khanavi, M., Shekarchi, M., Adedi, Z., and Pir-ali, M., 2009. Investigating the best method of extracting fennal composites in *E.purpurea*. Quarterly Journal of Herbs, 22(4): 145-152.

12. Hoelzl, J. and Ostrowski, E., 1986. Analysis of the essential compounds of *Hypericum perforatum*. Planta Medica, 6: 531-533.

13. Kartnig, T. and Heydel, B., 1993. Effects of visible and ultraviolet lights on the production of hypericin and flavonoids in cell cultures of *Hypericum perforatum*. Planta medica, 59:654.

14. Kireeva, T.B., Sharanov, V.L. and Letchamo, W., 1998. A comparative biochemical and Ecophysiological study on *Hypericum* spp. Available from:www.aaic.org/98progrm3.htm.

15. Lebaschi, M.H. 2000. Investigating the ecophysiologic aspects of *Hypericum perforatum* in the agricultural and natural ecosystems. Ph.D. Thesis, University of Tarbiat Modarres. Iran. 150p.

16. Lebaschi, M.H., Matin, A., and Sharifi-Ashurabadi, A. 2004. Comparing the agricultural and natural ecosystems in the production of hypericin. Research and Construction in Natural,16(2): 48-54.

17. Marina, X., Ilias, S., Emmanuel, A., Eleni, N., Dieter, D., and Kiriakos, K., 2008. Influence of the Habitat Altitude on the (proto) hypericin and (proto) Pseudohypericin Levels of *Hypericum* Plants from Crete. Planta Medica: 74: 1496-1503.

18. Omidbeigi, R. 1995. Production and productivity of herbal plants. Fekre Rooz Publication. Tehran. 283 p (In Persian).

19. Omidbeigi, R. 2009. Production and productivity of herbal plants. Asten Ghods Razavi Publication. Mashhad,Vol. 1:33-165.

20. Ouber, A.Y., 2007. Hypericin: An Antiviral Active principle of St,Johns wort. Available from: http://www.hepatitis-c.de/hyperic.htm.

21. Pietta, P., Gardana, C. and Pietta A., 2001. Comparative evaluation of St. Johns Wort from different Italian regions. Farmacology, 56 (5-7): 491-496.

22. Poutaraud, A., Di Gregorio, F., Fook Tin, V.C., and Girardin P., 2001. Effect of light on hypericins contents in fresh flowering top parts and in an extract of St. Johns wort (*Hypericum perforatum*). Planta Med: 67: 254-9.

23. Storanova, M., and Apostdova, B., 1992. The influence of altitude upon the biochemical composition of tutsan (*Hypericum perforatum*). Naukazagorata, 29: 7-82.

24. Umek, A., Kreft, S., Kartnig, T. and Heydel, B., 1999. Quantitative phytochemical analyses of six *Hypericum* species growing in Slovenia: Planta Medica, 65(4): 388-390.

25. Walker, L.W., 1999. A review of the hypothetical biogenesis and regulation of hypericin synthesis via the polyketide pathway in *Hypericum perforatum* and experimental methods proposed to evaluate the hypothesis. http://www.12w.cc pages / HYPE/index.htm.

26. Walker, L., Sirvent, T., Gibson, D. and Vance, N., 2001. Regional differences in hypericin and pseudo hypericin concentrations and five morphological traits among *Hypericum perforatum* plants in the northwestern United States. Canadian Journal of Botany, 79(10): 1248-1255.

27. Yesaghi, S., 2006. An investigation of ecophysiological, phonological, ethnological, and antibacterial needs of two widely-grown species of the herbs, *Hypericum perforatum*in Golestan province. MS.c Thesis, Islamic Azad University.

28. Zobayed, S.M., Afreen, F. and Kozai, T., 2005. Temperature stress can alter the photosynthetic efficiency and secondary metabolite concentrations in St. Johns wort.

Plant physiology and Biochemistry, 43(10-11): 977-984.

29. Zobayed, S.M., Afreen, F., Goto, E. and Kozai, T., 2006. Plant–Environment Interactions: Accumulation of Hypericin in Dark Glands of *Hypericum perforatum*. Annals of Botany, 98(4): 793-804.

**جدول ۱:** تجزیه واریانس مقایسه میزان هیپریسین در چهار طبقه ارتفاعی دو رویشگاه پارک ملی گلستان و رامیان

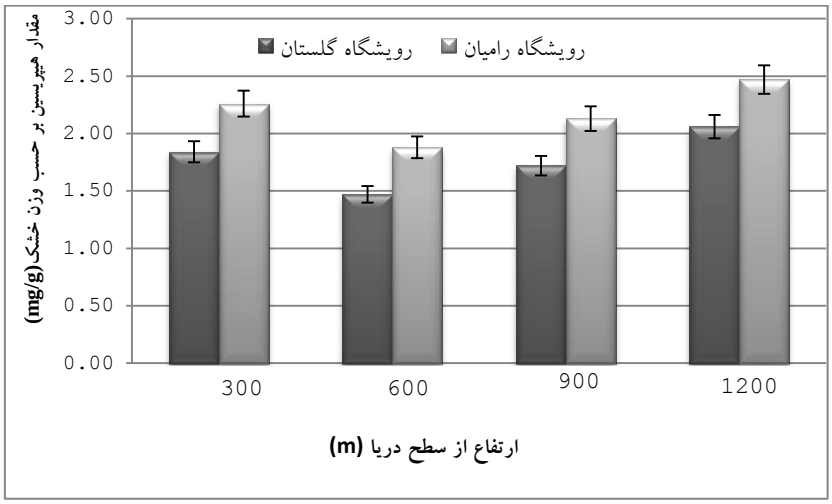
| منبع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | مجموع مربعات | F | sig |
|---|---|---|---|---|---|
| رویشگاه | ۱ | ۱/۰۲٤ | ۱/۰۲٤ | ۳٤/٤۱۷ | ۰/۰۰۰ ** |
| ارتفاع | ۳ | ۰/۳٦٦ | ۱/۰۹۷ | ۱۲/۲۹۳ | ۰/۰۰۰ ** |
| رویشگاه*ارتفاع | ۳ | ۰/۰۲۳ | ۰/۰٦۸ | ۱۰/۷۲۸ | ۰/۰۰۰ ** |
| اشتباه | ۱٦ | ۰/۰۳۰ | ۰/۵٦۵ | | |
| کل | ۲۳ | | ۹۷/۱۲٦ | | |

** تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد

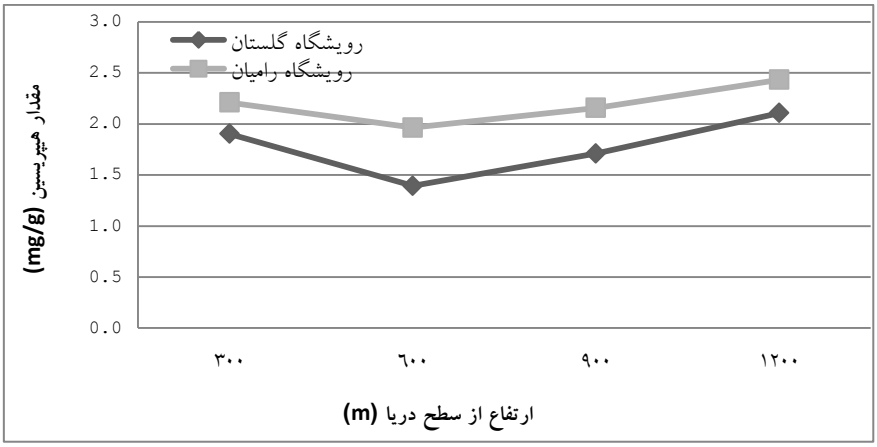
**جدول ۲:** میانگین (و انحراف معیار) میزان هیپریسین و مقایسه آن بین دو رویشگاه پارک ملی گلستان و رامیان

| ارتفاع | رویشگاه | میانگین | انحراف معیار | اشتباه معیار | t | sig |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ۳۰۰ | گلستان | ۱/۹۰b | ۰/۱۵ | ۰/۰۹ | -۳/۱۷٤ | ۰/۰۳٤ * |
| | رامیان | ۲/۲۱a | ۰/۰٦ | ۰/۰۳ | | |
| ٦۰۰ | گلستان | ۱/۳۹b | ۰/۱۹ | ۰/۱۱ | -٤/۰۱۲ | ۰/۰۱٦ * |
| | رامیان | ۱/۹٦a | ۰/۱٤ | ۰/۰۸ | | |
| ۹۰۰ | گلستان | ۱/۷۰b | ۰/۱۳ | ۰/۰۷ | -۲/٦۱۸ | ۰/۰۲۰ * |
| | رامیان | ۲/۱۵a | ۰/۲٦ | ۰/۱۵ | | |
| ۱۲۰۰ | گلستان | ۲/۱۰b | ۰/۲۰ | ۰/۱۱ | -۲/۰۹٦ | ۰/۰٤۰ * |
| | رامیان | ۲/٤۳a | ۰/۱۷ | ۰/۱۰ | | |

* تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد




**شکل ۱:** مقایسه نمودار خطی میزان هیپریسین در چهار طبقه ارتفاعی دو رویشگاه پارک گلستان و رامیان




**شکل ۲**: مقایسه میزان هیپریسین در چهار طبقه ارتفاعی دو رویشگاه پارک ملی گلستان و رامیان

**جدول ۳**: میانگین پارامترهای خاک اندازه‌گیری شده در چهار طبقه ارتفاعی رویشگاه پارک ملی گلستان و رامیان

| پارامترهای خاک | | pH | Ec | N | P | K | OC | Silt | Sand | Clay |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ارتفاع | گلستان | ۷/۴۲ab | ۰/۵۵۴c | ۰/۱۶۳b | ۴/۹۶b | ۲۱۶/۹۱۷ab | ۱/۶۳۸b | ۶۴/۶۶a | ۲۴/۷۵ a | ۱۰/۱۶b |
| ۳۰۰ | رامیان | ۷/۳۰c | ۱/۰۰۲a | ۰/۱۵۷b | ۶/۸۰a | ۲۰۶/۴۱۷ab | ۱/۵۶۲b | ۵۳/۳۳b | ۳۰/۲۵ a | ۱۵/۸۳a |
| ارتفاع | گلستان | ۷/۶۴a | ۰/۴۷۹c | ۰/۰۹۸c | ۱/۸۲e | ۱۵۷/۴۱۷b | ۰/۹۸۸c | ۶۰a | ۲۸/۹۱ a | ۱۱/۱۶ b |
| ۶۰۰ | رامیان | ۷/۵۲b | ۰/۹۲۷ab | ۰/۰۹۲c | ۳/۶۷c | ۱۴۶/۹۱۷b | ۰/۹۱۲c | ۴۸/۶۶b | ۳۴/۴۱ a | ۱۶/۸۳ a |
| ارتفاع | گلستان | ۷/۵۴b | ۰/۳۹۹d | ۰/۱۵۰ab | ۲/۳۷d | ۱۴۹/۹۱۷bc | ۱/۵۱۲b | ۵۸/۳۳ab | ۳۲/۷۵ a | ۸/۸۳ b |
| ۹۰۰ | رامیان | ۷/۴۲ab | ۰/۸۴۷ab | ۰/۱۴۳ab | ۴/۲۲b | ۱۳۹/۴۱۷c | ۱/۴۳۵b | ۴۷c | ۳۸/۲۵ a | ۱۴/۵۰ a |
| ارتفاع | گلستان | ۷/۳۵c | ۰/۷۶۴b | ۰/۲۵۸a | ۳/۰۹c | ۲۴۹/۴۱۷a | ۲/۶۱۵a | ۵۹ab | ۳۲/۵۸ a | ۷/۱۶ b |
| ۱۲۰۰ | رامیان | ۷/۲۴d | ۱/۲۱۲a | ۰/۲۵۲a | ۴/۹۳ab | ۲۳۸/۹۱۷a | ۲/۵۳۸a | ۴۷/۶۶b | ۳۸/۰۸ a | ۱۲/۸۳ a |

حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ۱ درصد.

**Eco-phytochemical Journal of Medical Plants, 1th Year. Number 2. Summer 2013**

# Evaluation of hypericin in *Hypericum perforatum* L. (Case study: Golestan National Park and Ramian)

**Mahdavi, S.Kh[1]., Asghari, P*[2]., Mazandarani, M[3]., Hosseini, S.A.(S.H.)[4]., Human, B[5].**

[1] Assistant Professor, Department of Natural Resource, Islamic Azad University, Nour Branch, Nour, Iran

[2] M.Sc Rangeland Management, Islamic Azad University, Nour Branch

[3] Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Gorgan, Iran

[4] Assistant Professor & Faculty Member of the Research Center for the Agriculture and Natural Resources of Gorgan province

[5] Pharmasist, NiaK pharmaceutical Co., Gorgan, Iran

## Abstract

Hypericin is the most important active compound of *Hypericum perforatum*. Thus, the knowledge of changes in hypericin level in the nature helps to recognize the requirement of *H. perforatum* under agricultural conditions. Two sites of Golestan National Park in the west and Ramian the East of Golestan Province was selected according to the distribution of the in the province. For sampling, first, four altitude classes of 300, 600, 900 and 1200 m were considered in the range that the plant was observed at the location. The samples were collected from the 20-25 cm terminal part of flowering shoots, at the full-flowering stage. Methanolic extract of the samples were obtained by cold maceration method and the hypercin content was determined by HPLC in the sample of different sampling sites. Data analysis was performed using SPSS software. The results showed that at both studied sites, hyperacin content increased along with increase in altitude. There was a significant ($P<0.05$) difference in hypercin content between the sampling sites as samples collected from Ramian had higher (2.18%) hypercin content compared to the samples collected from Golestan National Park (1.75%). Results of the investigation of soil physical and chemical properties at two habitats indicated that there was a significant difference at 5% and 1% level between two habitats.

***Keywords:*** St John's wort, West Golestan Province Habitats, Hypericin, *Hypericum perforatum.*

*Corresponding Author; asghari_parinaz@yahoo.com