

ارزیابی روش بهینه استخراج، کمیت و تنوع موسیلاژ در بین اکوتیپ‌های گیاه دارویی عناب (*Ziziphus jujuba* Mill.)

رضا شاه‌حسینی^۱، علیرضا بابائی^{۲*}، مسعود میرمعصومی^۳ و رضا امیدبیگی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

پست الکترونیک: arbabaei@modares.ac.ir

۳- مربی، گروه ژنتیک و زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران

۴- استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۰

تاریخ اصلاح نهایی: مهر ۱۳۹۰

تاریخ دریافت: دی ۱۳۸۹

چکیده

عناب (*Ziziphus jujuba* Mill.) یکی از گیاهان دارویی حاوی موسیلاژ است که در زمینه‌های دارویی، پزشکی، بهداشتی و صنعتی کاربرد دارد. در ارزیابی گیاهان دارویی، متابولیت‌های ثانویه می‌توانند به‌عنوان یک نشانگر ارزشمند مفید واقع شوند. در این آزمایش بهینه‌سازی روش استخراج موسیلاژ بر مبنای روش Karawya و Patumi و مقایسه مقدار موسیلاژ در اکوتیپ‌های مختلف عناب مورد ارزیابی قرار گرفت. به این منظور تعداد ۲۵ اکوتیپ عناب از نقاط مختلف کشور جمع‌آوری گردید. پژوهش در دو آزمایش مجزا در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار در آزمایشگاه ژنتیک و فیزیولوژی گیاهی دانشگاه تهران در سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ اجرا شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که روش استخراج گرم، روش مناسب‌تری برای استخراج موسیلاژ می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد که بین اکوتیپ‌ها از لحاظ مقدار موسیلاژ استحصالی اختلاف معنی‌دار وجود دارد. البته دامنه تغییرات موسیلاژ بین اکوتیپ‌ها از ۲۸/۹۶٪ تا ۱۱/۵۸٪ تبیین گردید. اکوتیپ‌های کاسوا از قم و کلاله از مازندران دارای بیشترین میزان موسیلاژ بودند. به‌طور کلی، نتایج این پژوهش علاوه بر انتخاب بهترین اکوتیپ‌ها برای مصارف دارویی، می‌تواند زمینه مناسبی برای به‌نژادی این گیاه دارویی ارزشمند فراهم کند.

واژه‌های کلیدی: عناب (*Ziziphus jujuba* Mill.)، موسیلاژ، روش استخراج، اکوتیپ، تنوع.

مقدمه

ایران (نواحی مدیترانه و آسیای معتدله) است و به‌طور عمده در استانهای خراسان، گلستان، مازندران، فارس، اصفهان، یزد، همدان، قزوین و قم وجود دارد و در سواحل دریای خزر، دامنه نیل‌کوه در مینودشت، کردستان، سردشت، لرستان، بختیاری و الموت به حالت خودرو

گیاه دارویی عناب با نام علمی *Ziziphus jujuba* Mill. متعلق به خانواده Rhamnaceae و نام‌های انگلیسی آن Chinese data, plum و Jujube می‌باشد (ثابتی، ۱۳۷۳؛ مظفریان، ۱۳۸۸). عناب از گیاهان بومی فلات

ارزشمند این گیاه هیدروکلوئیدهای پلی ساکاریدی (موسیلاژ) می باشد که طی آزمایش های مختلف به اثبات رسیده است (Zhao et al., 2007؛ Morton, 1987؛ Li et al., 2007؛ Zhao et al., 2007).

موسیلاژها پلیمرهای زیستی با وزن مولکولی بالا هستند که دارای دامنه وسیعی از خواص فیزیکوشیمیایی هستند که کاربرد وسیعی در زمینه های دارویی، صنعتی، بهداشتی و پزشکی دارند. این مواد به طور طبیعی و در چرخه رشد عادی گیاهان سنتز می شوند. در بیشتر موارد منبع اصلی این مواد دانه ها هستند، اما در میوه، برگ، گل و سایر اندام های گیاهی نیز یافت می شوند (Niknam, 1999؛ Zhao et al., 2008). آنالیز موسیلاژها نشان می دهد که دارای واحدهای سازنده ای مانند گالاکتورونیک اسید، گلوکورونیک اسید، آرابینوز، گزیلوز، رامنوز، مانوز، گالاکتوز و گلوکز می باشند (Fekri et al., 2008؛ Moafeghy, 1992؛ Shimizu & Tomoda, 1983؛ Zhao et al., 2006). موسیلاژها در الکل ها غیرمحلول ولی در آب محلول می باشند و پس از جذب آب متورم و حجیم می شوند و با توجه به نوع موسیلاژ میزان تورم می تواند متفاوت باشد که به آن فاکتور تورم (Swelling factor) اطلاق می گردد که بیانگر کیفیت موسیلاژ می باشد. مهمترین خواص دارویی موسیلاژها، خاصیت ضدسوزش آنهاست، به طوری که موسیلاژ لایه محافظ ظریفی بر روی غشای مخاطی معده تولید می کند و مانع اثر عوامل سوزش آور بر سطوح مذکور می شود. از خاصیت جذب آب موسیلاژها، برای کاهش آب موجود در لوله گوارش (در اسهال های مزمن، به عنوان قابض) استفاده می کنند (امیدبگی، ۱۳۸۸).

دیده می شود (ثابتی، ۱۳۷۳؛ زرگری، ۱۳۷۱). بیشتر پراکنش این گیاه در شمال شرق و نواحی مرکزی ایران می باشد (حسینی آوا، ۱۳۸۱). این گیاه مقاوم به کم آبی بوده و کمترین نیاز خالص آبی (۱۴۲۲ مترمکعب) را دارا می باشد، به طوری که در بسیاری از مناطق به صورت دیم می روید. در بهار دیرتر از سایر درختان رشد رویشی خود را شروع کرده و در پاییز نیز قبل از همه درختان خزان می کند، بنابراین در سال های خشکسالی و سرما که به بیشتر میوه ها و درختان از جمله گردو، بادام، انگور، زرشک و پسته صدمه وارد می گردد، از سرمای دیررس بهاره و زودرس پاییزه در امان خواهد بود. مردم از زمان های دور از میوه عناب به عنوان لینت بخش و پایین آورنده فشار خون و همچنین تصفیه کننده خون استفاده می کردند (امیدبگی، ۱۳۸۶). این گیاه نه تنها به دلیل مصارف دارویی مورد توجه است، بلکه به به عنوان گیاه زینتی و برای استفاده در صنعت چوب نیز کشت می شود. در سال ۱۳۸۴ میزان تولید عناب در کشور بالغ بر ۱۷۰۰ تن بوده است. بسیاری از باغداران از راه پرورش این گیاه امرار معاش می نمایند (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۴). عناب به عنوان داروی آرام کننده اعصاب، مقوی عمومی، مقوی معده، آرام بخش، ملین، ضدسرفه، ضدآسم و مدر بکار می رود. عناب بی خوابی را از بین می برد و خواب آور است. عرق شبانه را قطع می کند و برای ضعف عمومی و به طور کلی احساس خستگی و ضعف شدید بسیار نافع است. عناب خون را تصفیه می کند و مولد خون صالح است، یعنی از داروهای خون ساز می باشد (زرگری، ۱۳۷۱؛ میرحیدر، ۱۳۸۶). بافت میوه عناب از لحاظ ویتامین ها به خصوص ویتامین C بسیار غنی است و از آن در تهیه انواع نوشابه استفاده می نمایند (Xiao et al., 1998). از جمله مواد

همچنین برای کنترل نفت و گاز و پایداری و مهار حرکت آب جهت جلوگیری از طغیان چاه، مورد استفاده قرار می‌گیرند (Simpson & Ogorzaly, 1986).

اولین گام در اصلاح یک گیاه استفاده مؤثر و بهینه از ارقام بومی است. در این راستا باید نسبت به شناخت ویژگی‌های توده‌های بومی از طریق ارزیابی آنها اقدام نمود (عظیمی و همکاران، ۱۳۷۸). در رابطه با شناسایی دقیق اکوتیپ‌های مختلف عنب کشور و بررسی کمیت و کیفیت مواد مؤثره آنها، پژوهش مستندی بر پایه مواد مؤثره و آنالیزهای فیتوشیمیایی صورت نگرفته است. تنها کار صورت گرفته در این رابطه توسط خاکدامن و همکاران (۱۳۸۵) انجام شده است که شناسایی نواحی عنب خیز کشور و بررسی برخی خصوصیات مورفولوژیکی بین آنها می‌باشد (خاکدامن و همکاران، ۱۳۸۵). موسیلاژها به علت اهمیت و کاربردهای متنوعی که در عرصه‌های مختلف دارویی، پزشکی و صنعتی دارند مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته‌اند، اما در کشور ما تاکنون کار پژوهشی چندانی در رابطه با بررسی و شناسایی این مواد و همچنین ارزیابی مقدار آنها در ارقام و گونه‌های مختلف گیاهی صورت نپذیرفته است. بنابراین پژوهش حاضر به منظور تعیین روش بهینه استخراج موسیلاژ گیاه دارویی عنب و نیز ارزیابی تنوع و کمیت موسیلاژ در بین اکوتیپ‌های مختلف این گیاه ارزشمند انجام شد.

مواد و روشها

مواد گیاهی

به منظور اجرای این پژوهش تعداد ۲۵ اکوتیپ عنب از ایستگاه تحقیقات مرحوم بدیعی انتخاب گردید. این ایستگاه با مساحت ۴/۵ هکتار با طول جغرافیایی ۲۰' و

موسیلاژها دارای ویژگی‌های ارزشمندی نظیر پایدارکنندگی، امولسیون‌کنندگی و سوسپانسیون‌کنندگی هستند و همین امر باعث شده که در صنایع داروسازی و نساجی دارای کاربرد گسترده‌ای باشند. در داروسازی به منظور تهیه امولسیون‌ها، سوسپانسیون‌ها و به عنوان یک عامل امولسیون‌کننده پودرهای نامحلول، روغن‌ها و رزین‌ها و به عنوان چسب در تهیه قرص‌های مکیدنی، گرانول‌ها و ساخت مسهل‌ها کاربرد دارند، اما بیشترین کاربرد آنها به عنوان جزء ضروری در داروهای (میرمعصومی، ۱۳۷۱). این مواد در داروسازی به عنوان قوام‌دهنده، عامل سوسپانسیون‌کننده، نگهدارنده آب، پایدارکننده، روان‌کننده هیدروکلوئیدی، کاهش‌دهنده اصطکاک و عامل تشکیل لایه نازک استفاده می‌شوند. از اهمیت فوق‌العاده موسیلاژها می‌توان به نقش آنها در تشخیص و درمان سرطان، در دسترس قراردادن دارو و در بهبود و ترمیم زخم و در مبارزه با بیماریهای ویروسی و باکتریایی اشاره کرد (Franz, 1989).

موسیلاژها به دلیل سازگاری با سایر هیدروکلوئیدهای پلی‌ساکاریدی گیاهی، نشاسته‌ها، قندها و پروتئین‌ها و همچنین مقاومت به اسیدیته پایین، از بهترین هیدروکلوئیدهای پلی‌ساکاریدی دارویی به شمار می‌آیند. موسیلاژها در صنایع غذایی برای متوکسیله کردن، به تعویق انداختن بیاتی نان، تغلیظ‌کننده و تثبیت‌کننده و همچنین در ژله‌ها، چاشنی‌ها و نوشیدنی‌ها بکار می‌روند. موسیلاژها علاوه بر موارد ذکر شده در صنایع آرایشی، رنگ‌آمیزی پارچه، کاغذسازی، تهیه مرکب چاپ، ساخت واکس و صنایع دفاعی نیز استفاده فراوان دارند (بقالیان، ۱۳۷۸). موسیلاژها در صنعت نفت هم به عنوان روان‌کننده به خاک و آب اطراف تیغه‌های حفاری اضافه شده و

جمع‌آوری اکوتیپ‌های مختلف عناب در این ایستگاه آغاز شده‌است (خاکدامن و همکاران، ۱۳۸۵). شماره اکوتیپ‌ها و محل جمع‌آوری آنها براساس جدول ۱ می‌باشد. به‌منظور انجام این آزمایش میوه‌های عناب کاملاً رسیده از اکوتیپ مارون برداشت شده و پس از جداسازی گوشت میوه اقدام به خشک کردن نمونه‌ها به‌وسیله آون و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد گردید. در مرحله بعد نمونه‌های خشک‌شده توسط آسیاب پودر شدند.

۵۰° شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰' و ۴۳° شمالی در بخش گازرون شهرستان قم واقع شده‌است. ارتفاع آن از سطح دریا حدود ۱۲۰۰ متر بوده و از نظر تشکیلات زمین‌شناسی جزو رسوبات کواترنز و دشت‌های سیلابی به‌شمار می‌آید. خاک منطقه شامل خاک‌های جوان و بدون تکامل پروفیلی می‌باشد. متوسط بارندگی سالانه ۱۵۷/۲ میلی‌متر می‌باشد. عملیات اجرایی احداث این کلکسیون از سال ۱۳۷۹ با بررسی نقشه مناطق عناب‌خیز کشور و

جدول ۱- شماره و محل جمع‌آوری اکوتیپ‌های مختلف عناب موجود در کلکسیون

شماره	محل جمع‌آوری	شماره	محل جمع‌آوری	شماره	محل جمع‌آوری
۱	هموارلکها (قم)	۱۰	نیاسر (کاشان)	۱۹	آلقو (بیرجند)
۲	قاضی علیا (قم)	۱۱	کوهپایه ۱ (اصفهان)	۲۰	نودان ۱ (فارس)
۳	مارون (قم)	۱۲	شهرضا (اصفهان)	۲۱	نودان ۲ (فارس)
۴	کاسوا (قم)	۱۳	پوده ۱ (اصفهان)	۲۲	کلاله (گلستان)
۵	کلاغ‌نشین ۱ (قم)	۱۴	پوده ۲ (اصفهان)	۲۳	مقام (ساری)
۶	کلاغ‌نشین ۲ (قم)	۱۵	اردستان (اصفهان)	۲۴	حمیدآباد (ساری)
۷	کم‌چنار (قم)	۱۶	نطنز (اصفهان)	۲۵	دهنه لاریم (مازندران)
۸	دولت‌آباد (قم)	۱۷	بیاضیه (اصفهان)		
۹	نهالستان (قم)	۱۸	دشت بیاض (خراسان)		

استخراج موسیلاژ

در روش استخراج سرد مقدار ۲ گرم از پودر آسیاب‌شده، به‌همراه ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اسیدی (اسیدیته ۳/۷) در هاون ساییده شد. سپس در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اسیدی حل شده و به مدت سه ساعت مخلوط گردید. در روش استخراج گرم نمونه‌ها در همین مقدار آب اسیدی به‌مدت ۲۰ دقیقه جوشانده و همزمان مخلوط شدند. در هر دو روش پس از جداسازی مواد زائد به وسیله پارچه مملل و قیف بوختر اقدام به سانتریفوژ محلول باقی‌مانده حاصل از صافی (۳۸۰g، ۱۵ دقیقه) گردید و پس از جداسازی مواد ته‌نشین‌شده، ۴ برابر حجم محلول باقی‌مانده به آن

میوه‌های هر اکوتیپ در زمان رسیدن کامل برداشت و برای انجام مراحل بعدی پژوهش به آزمایشگاه انتقال یافت. پس از بررسی روشهای مختلف استخراج (ابراهیم‌زاده و همکاران، ۱۳۷۵؛ پیری‌قارنایی و همکاران، ۱۳۸۸؛ ماهرانی و همکاران، ۱۳۸۳؛ Karawya et al., 1980؛ Brautigan & Franz, 1985؛ Nazif, 2002) در نهایت روش Karawya و Patumi به‌عنوان اصل و مبنای روش استخراج، با مقداری تغییرات مورد استفاده قرار گرفت (Karawya et al., 1980؛ Patumi et al., 1990).

پس از انتخاب روش مناسب برای استخراج موسیلاژ، مرحله دوم این آزمایش شامل استخراج موسیلاژ در بین اکوتیپ‌های مختلف عناب بود که از روش گرم بدین منظور استفاده گردید. در این آزمایش که کمیت موسیلاژ استخراجی در بین اکوتیپ‌های گیاه دارویی عناب مورد مطالعه قرار گرفت، نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های بدست آمده از ۲۵ اکوتیپ تحت بررسی، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار و وجود تنوع قابل ملاحظه‌ای بین اکوتیپ‌های مختلف مورد بررسی بود (شکل ۲ و جدول ۳).

مقایسه میانگین بین اکوتیپ‌های مختلف نشان داد که اکوتیپ کاسوا از قم دارای بیشترین مقدار موسیلاژ (۲۸/۹۶٪) استحصالی بود، بعد از آن بیشترین مقدار مربوط به اکوتیپ کلاله از استان گلستان بود و پس از آن اکوتیپ‌های اردستان و کوهپایه ۱ از اصفهان به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر اکوتیپ‌ها قرار گرفتند. در گروه بعدی اکوتیپ‌های شهرضا و مقام ساری جای گرفتند. اکوتیپ‌های نیاسر، نودان ۲، نطنز و پوده ۲ هر کدام به تنهایی و به‌ترتیب در گروه‌های بعدی قرار گرفتند. گروه بعدی اکوتیپ‌های قاضی‌علیا، مارون، بیاضیه و حمیدآباد ساری را دربرگرفت. پس از آن دهنه لاریم به تنهایی در یک گروه جای گرفت. گروه بعد شامل اکوتیپ‌های کلاغ‌نشین ۲، دولت‌آباد، پوده ۱ و نودان ۱ بود. اکوتیپ‌های هموارلکها، نهالستان و آلقو نیز در گروه بعدی با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نشان ندادند. گروه بعدی اکوتیپ‌های کم‌چنار، نهالستان و دشت بیاض را در خود جای داد و در نهایت اکوتیپ کلاغ‌نشین ۱ کمترین مقدار موسیلاژ (۱۱/۵۸٪) را به خود اختصاص داد (شکل ۱ و جدول ۴).

اتانول ۹۶٪ اضافه شد. محلول مذکور به مدت ۲۴ ساعت در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد تا موسیلاژ رسوب کند. رسوب حاصل به‌وسیله کاغذ صافی واتمن نمره یک، قیف بوختر و شیر خلأ جداسازی و پس از خشک نمودن (دمای اتاق، ۴۸ ساعت) اقدام به اندازه‌گیری آن گردید (Karawya et al., 1980؛ Patumi et al., 1990). این پژوهش در دو آزمایش مجزا در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار در آزمایشگاه ژنتیک و فیزیولوژی گیاهی دانشکده علوم دانشگاه تهران در سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ اجرا شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS آنالیز گردید و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL رسم گردید.

نتایج

این آزمایش به‌منظور جداسازی موسیلاژ گیاه دارویی عناب و انتخاب سریعترین و پربازده‌ترین روش برای استخراج این ماده ارزشمند و همچنین انتخاب اکوتیپ‌های برتر از لحاظ مقدار موسیلاژ انجام شد. گام اول در این آزمایش، استفاده از دو روش استخراج سرد و گرم جهت انتخاب مناسبترین روش استخراج بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین روشهای استخراج اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول ۲). مقایسه میانگین بین مقدار موسیلاژ استحصالی در این دو روش نشان داد که مقدار موسیلاژ در روش استخراج گرم (۱۶/۰۹٪) به‌طور معنی‌داری نسبت به روش استخراج سرد (۲/۵۴٪) افزایش یافته‌است (شکل ۱).

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مقدار موسیلاژ در دو روش مختلف استخراج

مقدار موسیلاژ	df	منابع تغییرات
۰/۱۴۷ **	۱	تیمار
۰/۰۰۰۵	۶	خطا
%۱۱/۹	-	%CV

** در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار است.



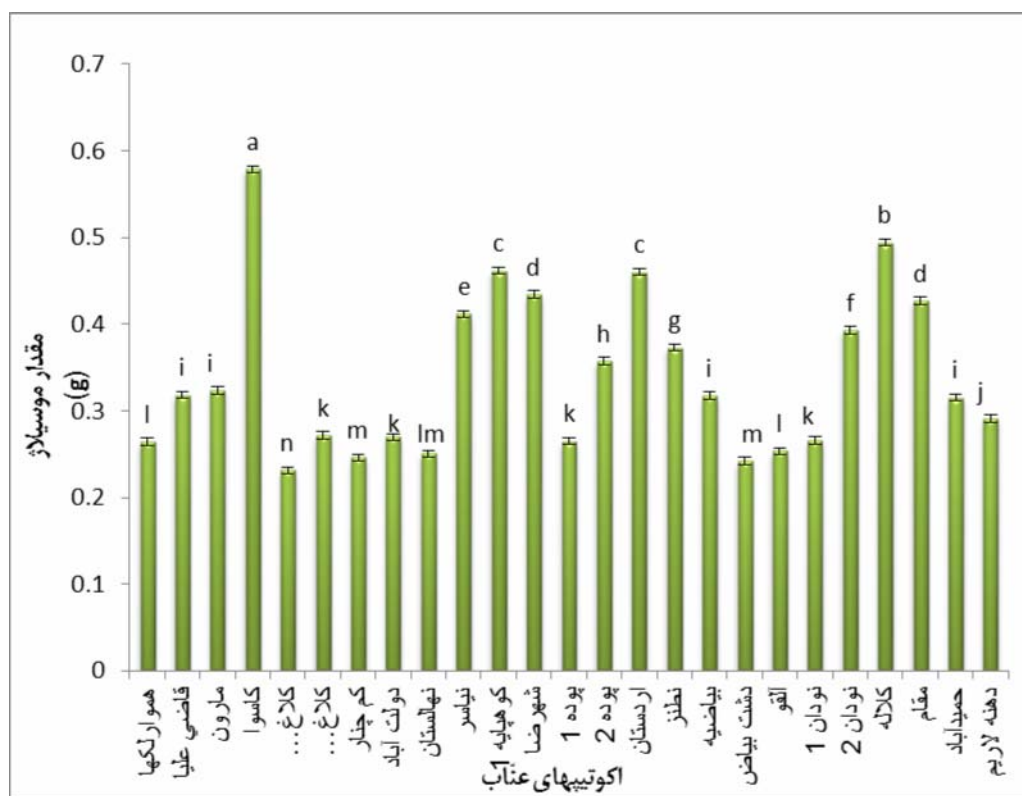
شکل ۱- تأثیر روش استخراج، بر مقدار موسیلاژ گیاه دارویی عناب (اکوتیپ مارون)

۱: روش استخراج سرد، ۲: روش استخراج گرم

جدول ۳- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مقدار موسیلاژ در بین اکوتیپ‌های مختلف

مقدار موسیلاژ	df	منابع تغییرات
۰/۰۳۵ **	۲۴	تیمار
۰/۰۰۰۴	۷۵	خطا
%۵/۸	-	%CV

** در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار است.



شکل ۲- مقدار موسیلاژ در اکوتیپهای مختلف گیاه دارویی عناب

جدول ۴- کمیت موسیلاژ (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) در بافت گوشت میوه

حاصل از اکوتیپهای مختلف گیاه دارویی عناب

نام اکوتیپ	درصد موسیلاژ	نام اکوتیپ	درصد موسیلاژ	نام اکوتیپ	درصد موسیلاژ
هموارلکها	۱۳/۲۲	نیاسر	۲۰/۵۹	آلقو	۱۲/۶۸
قاضی علیا	۱۵/۹۱	کوهپایه ۱	۲۳/۰۸	نودان ۱	۱۳/۲۸
مارون	۱۶/۱۹	شهرضا	۲۱/۷۱	نودان ۲	۱۹/۶۷
کاسوا	۲۸/۹۵	پوده ۱	۱۳/۲۵	کلاله	۲۴/۷۱
کلاغ نشین ۱	۱۱/۵۸	پوده ۲	۱۷/۸۷	مقام	۲۱/۳۵
کلاغ نشین ۲	۱۳/۵۸	اردستان	۲۳/۰۲	حمیدآباد	۱۵/۷۷
کم چنار	۱۲/۳۱	نطنز	۱۸/۶۵	دهنه لاریم	۱۴/۵۶
دولت آباد	۱۳/۴۹	بیاضیه	۱۵/۸۸		
نهایستان	۱۲/۵۴	دشت بیاض	۱۲/۱۱		

بحث

از آنجایی که مهمترین هدف از کشت گیاهان دارویی استفاده از مواد مؤثره و متابولیت‌های ثانویه آنها می‌باشد، لازم است عوامل مؤثر در افزایش یا کاهش کمیت و کیفیت این مواد در گیاه مورد بررسی و تحقیق قرار گیرند. با توجه به این مطلب هدف از اصلاح گیاهان دارویی نیز افزایش کمیت و کیفیت آن دسته از مواد مؤثره در این گیاهان است که در صنایع دارویی اهمیت خاصی دارند. زیرا گاهی ممکن است بر اثر اصلاح گیاهان دارویی ارقامی به وجود آید که هرچند از نظر ظاهر با سایر افراد آن گونه تفاوتی ندارند، ولی از نظر کمیت و کیفیت مواد مؤثره اختلاف‌های زیادی با آنها داشته باشند (امیدیگی، ۱۳۸۸).

یکی از مسائل اساسی در استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی، بهینه کردن روش استخراج این مواد به‌منظور یافتن بهترین روش جداسازی آنها از پیکره، اندام یا بافت گیاهی مورد نظر می‌باشد. با توجه به این که روش گرم کارایی بالاتری در استخراج این ماده مؤثره داشت و همچنین از نظر زمان باعث صرفه‌جویی چشمگیری گردید و به عبارتی دو پارامتر مهم افزایش کمیت و کاهش زمان استخراج را به خود اختصاص داد، می‌توان با اطمینان زیادی این روش را به‌عنوان روش برتر نسبت به روش استخراج سرد برای استحصال این ماده دارویی ارزشمند توصیه کرد.

در این آزمایش که کمیت موسیلاژ استخراجی در بین اکوتیپ‌های گیاه دارویی عناب مورد مطالعه قرار گرفت، نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های بدست آمده از ۲۵ اکوتیپ تحت بررسی، نشان‌دهنده وجود تنوع قابل ملاحظه‌ای بین اکوتیپ‌های مورد بررسی بود که از لحاظ

وجود تنوع، با نتایج خاکدامن و همکاران (۱۳۸۵) و Pourmeydani و Khakdaman (۲۰۰۴) مطابقت دارد.

نتایج این پژوهش نشان داد که اکوتیپ کاسوا از قم دارای حداکثر میزان موسیلاژ استحصالی بود. در نگاه اول شاید بتوان این نتیجه را این گونه تفسیر نمود، از آنجا که محل احداث کلکسیون در استان قم واقع شده است و اکوتیپ کاسوا نیز بومی این استان بوده و سازگاری کامل با شرایط اقلیمی و زیست‌محیطی این استان را کسب نموده‌است، دارای حداکثر میزان موسیلاژ گردیده که البته این نتیجه تا حد قابل ملاحظه‌ای هم منطقی به نظر می‌رسد. اما با توجه به این که اکوتیپ‌های کلاغ‌نشین ۱، کم‌چنار و نهالستان که دارای حداقل میزان این ماده گردیده‌اند، نیز بومی این استان می‌باشند، این موضوع می‌تواند ناشی از وجود اختلاف نژادگانی در بین این اکوتیپ‌ها باشد که این مطلب قویتر به نظر می‌رسد. زیرا در گروه‌بندی‌های بعدی همین موضوع برای اکوتیپ‌های بومی مازندران نیز صادق است. البته بین سایر اکوتیپ‌ها نیز به همین طریق اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. در نهایت با توجه به این که شرایط اقلیمی، خاکی و ... در این کلکسیون نسبت به رویشگاه‌های مناطق مختلف یکنواخت‌تر می‌باشد؛ بنابراین به نظر می‌رسد پس از گذشت یک دهه و تعدیل تأثیر شرایط رویشگاه‌های مختلف و سازگاری کامل اکوتیپ‌ها با شرایط جدید کلکسیون، وجود اختلاف در بین اکوتیپ‌ها، نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی باشد.

مقایسه میانگین نشان‌دهنده وجود تنوع قابل ملاحظه بین اکوتیپ‌های تحت بررسی بود و علت اینکه اکوتیپ‌های متعلق به مناطق مختلف با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نشان ندادند و به نحوی در گروه‌های مشترک قرار گرفتند را می‌توان به خاستگاه واحد آنها و سازگاری

بهترین روش استخراج، نشان داد که بین اکوتیپ‌ها از لحاظ مقدار موسیلاژ استحصالی اختلاف معنی‌دار وجود دارد که علاوه بر انتخاب بهترین اکوتیپ برای مصارف دارویی، می‌تواند ناشی از تنوع ژنادی در بین آنها باشد که جهت شناسایی دقیقتر لازم است که پژوهش‌های فیتوشیمیایی و مولکولی تکمیلی در ارتباط با شناسایی کیفی این مواد و تعیین قرابت بین اکوتیپ‌ها، به‌منظور اصلاح و گزینش بهترین ارقام صورت پذیرد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مساعدت‌های آقای دکتر نیکنام (عضو هیئت علمی دانشکده ژنتیک دانشگاه تهران)، سرکار خانم احمدی (مسئول محترم آزمایشگاه دانشکده ژنتیک دانشگاه تهران) و آقایان مهندس توکلی و مهندس پورمیدانی (اعضای هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی قم) که در انجام این پژوهش ما را همه‌جانبه و به نحو احسن یاری کردند، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۴. نشریه شماره ۸۴ وزارت کشاورزی، معاونت برنامه‌ریزی و بودجه اداره کل آمار، ۱۴۲ صفحه.
- ابراهیم‌زاده، ح، میرمعصومی، م. و فخرطباطبایی، س.م، ۱۳۷۵. بررسی جنبه‌های تولید موسیلاژ در چند منطقه ایران با کشت اسفرزه، بارهنگ و پسلیوم. پژوهش و سازندگی، ۴(۳۳): ۱۴۰-۱۳۶.
- امیدگی، ر، ۱۳۸۶. تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد دوم). انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد، ۴۳۸ صفحه.
- امیدگی، ر، ۱۳۸۸. تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد اول). انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد، ۳۴۸ صفحه.
- بقالیان، ک، ۱۳۷۸. اثر رطوبت خاک و هوا بر کمیت و کیفیت موسیلاژ اسفرزه. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. رشته علوم باغبانی. دانشگاه تهران.

اکوتیپ‌ها با شرایط جدید کلکسیون نسبت داد. تفاوت اکوتیپ‌های مربوط به یک منطقه با یکدیگر نیز می‌تواند به علت منشأ متفاوت آنها، جابجایی ماده ژنتیکی و یا تنوع ناشی از سیستم گرده‌افشانی (درجه بالای دگرگشتی) این گیاه باشد (خاکدامن و همکاران، ۱۳۸۵).

با توجه به این که از نظر مقدار موسیلاژ اکوتیپ‌های کاسوا، کلاله، اردستان و کوهپایه ۱ بالاتر از سایر اکوتیپ‌ها قرار گرفتند، می‌توان این اکوتیپ‌ها را چنانچه دارای سایر صفات مطلوب رشدی و مقاومت به آفات و بیماریها باشند برای کشت و کار و استفاده آن در صنایع دارویی پیشنهاد کرد و اگر حائز هر کدام از صفات مطلوب نباشند، با توجه به دگرگشتی عنب باید در برنامه‌های تلاقی و گزینش ارقام از آنها بهره جست. البته برای معرفی بهترین اکوتیپ جهت مصارف مواد مؤثره و دارویی لازم است که کلیه اجزای تعیین‌کننده آن در نظر گرفته شود و بر این اساس لازم است که بررسی‌های دقیق عملکردی هر اکوتیپ و آنالیزهای فیتوشیمیایی نیز صورت پذیرد.

با توجه به کاربردهای وسیع دارویی، پزشکی و صنعتی و وظایف متعدد فیزیولوژیک موسیلاژها در گیاهان، بررسی گونه‌ها و ارقام گیاهی، به‌عنوان منابع طبیعی این ترکیب‌ها و بررسی روشهای استخراج و بررسی کمیت و کیفیت آنها حائز اهمیت فراوان است و در ایران گونه‌ها و اکوتیپ‌های گیاهی نسبتاً خوبی وجود دارند که به‌دلیل گسترش زیاد، تنوع گونه‌ای و عدم بررسی موسیلاژها در آنها؛ موضوع مطالعه بسیار مناسبی هستند. گیاه دارویی عنب نیز از جمله گیاهان موسیلاژدار باارزش است که مقایسه بین روشهای استخراج و مقدار موسیلاژ آن در اکوتیپ‌های مختلف در این آزمایش مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش علاوه بر معرفی

- Karawya, M.S., Wassel, G.M., Baghdadi, H.H. and Ammar, N.M., 1980. Mucilagenous content of certain Egyptian plants. *Planta Medica*, 38: 73-78.
- Khakdaman, H. and Pourmeydani, A., 2004. The study of geografic distribution and morphologic characteres of jujube in Iran. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 20(1): 69-86.
- Li, J.W., Fan, L.P., Ding, S.D. and Ding, X.L., 2007. Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube. *Food Chemistry*, 103(2): 454-460.
- Moafeghy, A., 1992. Isolation and determination of mucilage polysaccharides from plantagoes with tissue and farming cultivated. MSc. Thesis, Faculty of Science, Tehran University.
- Morton, J., 1987. *Fruits of Warm Climates*. Florida Flair Books, 505p.
- Nazif, N.M., 2002. Phytoconstituents of *Zizyphus spina-christi* L. fruits and their antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 76: 77-81.
- Niknam, V., 1999. Identification of secondary metabolits (N-aliphatic composition, mucilage polyssaccharides, saponines, sterols, phenolic compositions). Ph.D. Thesis, Faculty of Science, Tehran University.
- Patumi, M., Foutanazza, G., Boldoni, L. and Brambilla, I., 1990. Determination of some precursors of lipid biosynthesis in olive fruits during ripening. *Acta Horticulturae*, 286: 199-202.
- Shimizu, N. and Tomoda, M., 1983. Pectic substances. I. the major pectin from the fruits of *Zizyphus jujuba* Miller var. *inermis* Rehd. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 31(2): 499-506.
- Simpson, B.B. and Ogorzaly, M., 1986. *Economic Botany: Plants in Our World*. McGraw-Hill College, Singapore, 640p.
- Xiaoe, L., Sanbao, W., YingLi, Z., JianXin, S. and Meng, Z., 1998. Postharvest biochemical and ultrastructural changes in flesh of Chineses jujube fruit during softening. *Acta Horticulturae*, 25(4): 333-337.
- Zhao, Z.H., Li, J., Wu, X.M., Dai, H., Gao, X.M., Liu, M.J. and Tu, P.F., 2006. Structures and immunological activities of two pectic polysaccharides from the fruits of *Zizyphus jujuba* Mill. cv. *jinsixiaozao* Hort. *Food Research International*, 39(8): 917-923.
- Zhao, Z., Dai, H., Wu, X., Chang, H., Gao, X., Liu, M. and Tu, P., 2007. Characterization of a pectic polysaccharide from the fruit of *Zizyphus jujuba*. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(4): 374-376.
- Zhao, Z., Liu, M. and Tu, P., 2008. Characterization of water soluble polysaccharides from organs of Chinese Jujube (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. *Dongzao*). *European Food Research and Technology*, 226(5): 985-989.
- پیری‌قارنایی، م.، حیدری، ر.، صیامی، ع.، زارع، ص. و جامعی، ر.، ۱۳۸۸. جداسازی و بررسی پلی‌ساکاریدهای موسیلاژی برگ‌ها و پیاز گونه لوشه (*Allium chrysantherum* Boiss. & Reut.). *علوم دارویی*، ۱۵(۲): ۱۰۵-۱۱۴.
- ثابتی، ح.، ۱۳۷۳. جنگل‌ها، درختان و درختچه‌های ایران. انتشارات دانشگاه یزد، یزد، ۷۷۹ صفحه.
- حسینی‌آوا، س.، ۱۳۸۱. عناب. انتشارات فنی معاون ترویج سازمان تات، ۸۰ صفحه.
- خاکدامن، ح.، پورمیدانی، ع. و ادنایی، س.م.، ۱۳۸۵. بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های مختلف عناب در ایران با استفاده از تجزیه خوشه‌ای. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی در ایران، ۱۴(۴): ۲۰۲-۲۱۴.
- زرگری، ع.، ۱۳۷۱. گیاهان دارویی (جلد اول). انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۶۰۳ صفحه.
- عظیمی، م.، مسیحا، س.، مقدم، م. و ولیزاده، م.، ۱۳۷۸. بررسی تنوع ژنتیکی پیازهای بومی ایران. علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی)، ۳(۴): ۲۵-۱۵.
- ماهرانی، ب.، برزگر، م.، سحری، م.ع. و دهقانی، ح.، ۱۳۸۳. بهینه‌سازی شرایط استخراج صمغ دانه برزک ایرانی به روش صفحه پاسخ. علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی)، ۸(۴): ۱۵۵-۱۴۵.
- مظفریان، و.، ۱۳۸۸. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، تهران، ۷۴۰ صفحه.
- میرحیدر، ح.، ۱۳۸۶. معارف گیاهی (جلد ۶). دفتر نشر فرهنگ اسلامی ایران، تهران، ۵۴۲ صفحه.
- میرمعصومی، م.، ۱۳۷۱. بررسی موسیلاژها در تیره بارهنگ با کشت بافت و کشت مزرعه. پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه تهران.
- Brautigam, M. and Franz, G., 1985. Structural features of *Plantago lanceolata* Mucilage. *Planta Medica*, 51(4): 293-297.
- Fekri, N., Khayami, M., Heidari, R. and Javadi, M.A., 2008. Isolation and identification of monosaccharide of Mucilage in Dragon's head by thin layer chromatography. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 24(2): 207-216.
- Franz, G., 1989. Polysaccharides in pharmacy: Current Applications and future concepts. *Planta. Medica*, 55: 493-497.

Investigation on optimal extraction method, quantity and mucilage variation of the ecotypes of Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.)

R. Shahhoseini¹, A. Babaei^{2*}, M. Mirmasoomi³ and R. Omidbaigi¹

1- Department of Horticultural Sciences, College of Agricultural Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2*- Corresponding author, Department of Horticultural Sciences, College of Agricultural Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, E-mail: arbabaei@modares.ac.ir

3- Department of Genetic and Biology Sciences, College of Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: January 2011

Revised: September 2011

Accepted: September 2011

Abstract

Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) is one of the medicinal plants containing mucilage and is used in the fields of pharmaceutical, medical, healthcare and industrial purposes. In evaluation of medicinal plants, secondary metabolites could be considered as a valuable indicator. In this experiment, optimizing extraction method of mucilage was evaluated based on the Patumi and Karawya methods and comparing the amount of mucilage in jujube ecotypes. For this purpose, 25 ecotypes of jujube were collected from different parts of the country. Research was performed in two separate experiments in a completely randomized design with four replications in the Genetics and Plant Physiology lab of the University of Tehran during 1388 and 1389. Results of this study showed that warm extraction was identified as the most suitable method. Also, results showed that there were significant differences among ecotypes in terms of amount of mucilage. The variation range of mucilage differed among the ecotypes from 28/92% to 11/58%. Maximum amount of mucilage was recorded for ecotypes of Kasva (Qom) and Kolaleh (Mazandaran). Generally, results of this research could be used to select the best ecotypes for medicinal purposes as well as providing good information for linebreeding of the valuable medicinal plant.

Key words: *Ziziphus jujuba* Mill., mucilage, extraction method, ecotype, diversity.