بررسی اثر ارتفاع رویشگاه بر کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس پایه‌های نر و ماده گیاه *Juniperus communis* subsp. *hemisphaerica* در رویشگاه طبیعی آمل

علی روستائی‌فر[۱]، عباس حسنی[۲*]، فاطمه سفیدکن[۳]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گیاهان داروئی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[۲]استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[۳]استاد مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۱/٤ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/٥/۳۱

چکیده

سرو پیرو (*Juniperus communis* L. ssp. *hemisphaerica*) درختچه‌ای دوپایه و متعلق به تیرهٔ سرو (Cupressaceae) است که به‌طور خودرو در کوه‌های البرز در شمال ایران رویش دارد. اسانس این گیاه دارای خواص درمانی در افسردگی، روماتیسم، اسپاسم، نفخ، دیابت، اشتهاآور و مدر می‌باشد. در این تحقیق به منظور بررسی **اثر** ارتفاع محل بر ویژگی‌های کمی و کیفی اسانس پایه‌های نر و ماده گیاه سرو پیرو، سرشاخه‌های گیاه در تابستان سال ۱۳۹۰ از دو ارتفاع ۲۲۰۰ و ۲۷۰۰ متری از سطح دریا جمع-آوری گردید. عمل اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام گردید و سپس ترکیبات اسانس با استفاده از دستگاه‌های گازکروماتوگرافی (GC) و گازکروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) شناسایی شدند. نتایج نشان داد که محتوی اسانس گیاه در هر دو ارتفاع، در سرشاخه‌های پایه‌های نر (۲/۸۵-۲/۷۴ درصد) بیشتر از پایه‌های ماده (۲/۵۹-۲/۲۰ درصد) بوده است. تجزیه و شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها نشان دادند که آلفا-پینن و سابینن اجزاء غالب شناسایی شده در اسانس بودند. بیشترین مقدار آلفا-پینن (۴۸/۸۱ درصد) و سابینن (۴۴/۴۷ درصد) در ارتفاع ۲۲۰۰ متری و به ترتیب در پایه‌های نر و ماده مشاهده گردید. همچنین مونوترپن‌ها عمده‌ترین گروه ترکیبات شناسایی شده در اسانس‌ها بودند.

واژه‌های کلیدی:آلفا-پینن، آمل، ارتفاع محل، اسانس، سابینن، سرو پیرو

[*]نویسنده مسئول: horthasani@yahoo.com

مقدمه

تیره سرو (Cupressaceae) در دنیا دارای ۱۳ تا ۱۵ جنس و نزدیک به ۱۴۰ گونه است، که مهمترین جنس این تیره سرو کوهی (*Juniperus*) می‌باشد. این جنس شامل ۷۵گونه است که در مناطق معتدل نیمکره شمالی از جمله آسیا، اروپا و شمال آمریکا پراکنده می‌باشند (Adams, 2008; Dahmane et al., 2015). پنج گونه سرو کوهی به دو صورت درخت یا درختچه‌ای در ارتفاعات ۲۰۰۰ تا ۵۰۰۰ متری شمال و شمال شرقی ایران وجود دارند که حدود ۱/۲ میلیون هکتار از ۱۲ میلیون هکتار جنگل‌های ایران را می‌پوشانند (Shahmir et al., 2003; Emami et al., 2007; Kasaian et al., 2011). در میان آن‌ها می‌توان از سرو پیرو (*J. communis* L.) به‌عنوان یک گیاه داروئی نام برد (Omidbaigi, 2007) که از پرگسترده-ترین گونه‌های سوزنی برگ‌های جهان محسوب می‌شود (Zare, 2001). تنها زیر گونه *J. communis* subsp. *hemisphaerica* (نام طبری، وِرْس) در جنگل‌های شمال به صورت نواری پراکنده و گسسته از جنگل‌های فوقانی در ارتفاع ۲۲۰۰ تا ۳۲۰۰ متری انتشار دارد. فرم آن درختچه‌ای متراکم و کپه‌ای تا ۲/۵ متر ارتفاع دارد که معمولاً کوتاه‌تر و بندرت به حالت افراشته دیده می‌شود. مخروط‌های نر جانبی به رنگ سبز روشن تا مایل به زرد و مخروط‌های ماده کروی به رنگ سبز زیتونی که غبار آبی نقره‌ای آن را پوشانده است (Zare, 2001). اندام‌های مختلف سرو (برگ‌ها، شاخه‌ها و میوه‌ها) حاوی اسانس می‌باشد. اسانس سروها دارای خواصی نظیر ضدافسردگی، ضداسپاسم، ضد دیابت، اشتهاآور و مدر می‌باشند (Shahmir et al., 2003; Butkienë et al., 2004; Raal et al., 2010; Sela et al., 2011; Banerjee et al., 2013). همچنین برای درمان التهاب مثانه، نفخ شکم، قولنج، دردهای روماتیسمی در مفاصل و عضلات استفاده می‌شوند (Ebadi, 2007). فعالیت‌های ضدباکتری (Sati and Joshi, 2010)، ضدقارچی (Abbassy and Marei, 2013)، ضدمیکروبی (Pepeljnjak et al., 2005) و ضداکسیدانی (Hoferl et al., 2014) اسانس سرو پیرو به اثبات رسیده است. اسانس‌های تولید شده در سلول‌ها و بافت‌های ترشحی ممکن است تنها در یک اندام گیاه (مثلاً تنها در گل یا میوه) یا در اندام‌های مختلف گیاه (مثلاً در سرو پیرو) پراکنده باشند. در اینصورت، اسانس‌های حاصل، از نظر کمیت و کیفیت و همچنین اجزاء و عناصر تشکیل دهنده، از اندامی به اندام دیگر تفاوت دارند (Omidbaigi, 2007). کمیت وکیفیت اسانس سروها اساساً تحت تاثیر جنسیت گیاه، تغییرات فصلی، درجه رسیدن (میوه‌ها)، شرایط محیطی و مختصات جغرافیایی محل رشد قرار می‌گیرند (Adams and Powell, 1976; Chatzopoulou and Katsiotis, 1993; Toncer et al., 2010; Ennajar et al., 2011). معمولاً پایه‌های نر رشد بیشتری نسبت به پایه‌های ماده دارند. در حالی‌که پایه‌های ماده انرژی بیشتری را برای دفاع و تولید مثل اختصاص می‌دهند و از این رو رشدشان کمتر است (McGowan et al., 2004; Massei et al., 2006; Cepeda-Cornejo and Dirzo, 2010). این اختلافات فیزیولوژیکی در رشد گیاهان دوپایه، می‌تواند بر متابولیت‌های ثانویه و ترکیبات اسانس تأثیر داشته باشد (Gobbo-Netoand Lopes, 2007). در یک تحقیق تفاوت چشمگیری بین کمیت و کیفیت اسانس برگ‌های نر و ماده *Juniperus thurifera* گزارش شده است (Zeraib et al., 2014). اصیلی و همکاران (Asili et al., 2008) ضمن بررسی اسانس برگ‌های پایه‌های نر و ماده *J. communis* subsp. *hemisphaerica* جزء غالب اسانس را آلفا-پینن گزارش نمودند. عسگری و همکاران (Asgary et al., 2014) نیز در بررسی اسانس همین زیرگونه دریافتند که سابینن و آلفا-پینن به ترتیب جزء غالب

اسانس در شاخه‌های پایه‌های ماده و نر بودند. عوامل محیطی از جمله دما، نور (شدت و تناوب)، ارتفاع محل رشد، شیب منطقه، میزان آب و تغذیه گیاه بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان معطر موثرند ولی چگونگی و میزان اثر آن‌ها در گیاهان مختلف متفاوت است. در این رابطه مطالعه روی گیاه *J. macropoda* نشان داد که ارتفاع محل در مقدار و نوع ترکیبات اسانس موثر است. محتوی اسانس برگ در دو ارتفاع ۱۷۰۰ و ۲۰۰۰ متری به‌ترتیب ۱/۲ و ۰/۵ درصد بود. بتا-المن، سابینن هیدرات و آلفا-کیوبن اجزاء غالب اسانس در ارتفاع ۱۷۰۰ متری و آلفا-توجون، بی‌فورمن و سابینن اجزاء عمده اسانس در ارتفاع ۲۰۰۰ متری بودند (Srivastava et al., 2005). ایبانز و یوزوبیلاگا (Ibanez and Usubillaga, 2006) در بررسی اسانس گیاه *Espeletia schultzii* از ارتفاعات مختلف (۲۸۰۰، ۳۷۰۰ و ۴۱۰۰ متری) نتیجه گرفتند که اختلاف معنی‌داری در ترکیبات اسانس ساقه و برگ جمع آوری شده در مراحل مختلف گلدهی (قبل شکفتن، هنگام شکفتن و بعد از گلدهی) وجود ندارد، اما اختلاف بین ارتفاع‌های برداشت از این نظر معنی‌دار بود. در تحقیق دیگری اسانس پیکر رویشی گیاه آویشن آذربایجانی (*Thymus migricus*) از یکی از رویشگاه‌های استان آذربایجان غربی در سه مرحله (رویشی، گلدهی و پس از گلدهی) و از ارتفاع‌های ۲۰۰۰ و ۲۱۰۰ متری مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که درصد اسانس و نیز میزان تیمول (به عنوان جزء غالب اسانس) در هر سه مرحله، در ارتفاع ۲۰۰۰ متری بیشتر از ارتفاع ۲۱۰۰ متری بود (Gholami Takaloo et al., 2012). با توجه به اینکه تاکنون مطالعه خاصی در مورد اثر عوامل جغرافیایی و اقلیمی بر ویژگی‌های فیتوشیمیایی سرو پیرو صورت نگرفته است، لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر ارتفاع رویشگاه بر کمیت و کیفیت اسانس سرشاخه‌های برداشت شده از پایه‌های نر و ماده این زیر گونه سرو پیرو در رویشگاه طبیعی مازندران انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه واستخراج اسانس: سرشاخه‌های پایه‌های نر و ماده زیر گونه سرو پیرو (*Juniperus communis* subsp. *hemisphaerica*) در اواسط تابستان سال ۱۳۹۰ از ارتفاع ۲۲۰۰ متری (″۹۷۱، ′ ۳۶°،۱۴ عرض شمالی و ″۵۴۱، ′۱۳، °۵۲ طول شرقی) و ۲۷۰۰ متری (″۷۵۳، ′۱۴، °۳۶ عرض شمالی و ″۹۹۶، ′۱۲، °۵۲ طول شرقی) از سطح دریا در رویشگاه طبیعی منطقه ییلاقی خوشواش واقع در ۷۵ کیلومتری شهرستان آمل جمع آوری شده و در دمای اتاق و در شرایط سایه خشک گردیدند.نمونه گیاهی توسط باغ گیاهشناسی نوشهر با شماره هرباریومی ۱۰۷۱۷ مورد شناسایی علمی قرار گرفت.

با توجه به بررسی منابع انجام شده، اسانس‌گیری از سرشاخه‌های خشک شده در سایه، به روش تقطیر با آب [1] و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام گرفت. عمل اسانس‌گیری سرشاخه‌های پایه نر و ماده (به نسبت ۵ گرم برگ و ۱۰ گرم ساقه سال جاری) پس از آسیاب کردن، به مدت سه و نیم ساعت ادامه یافت و در نهایت محتوی اسانس هر نمونه به صورت میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم ماده خشک محاسبه گردید. اسانس جمع‌آوری شده پس از آبگیری، تا زمان تجزیه در داخل یخچال و در شرایط تاریکی نگهداری گردید. جهت تجزیه اسانس از دستگاههای گاز کروماتوگرافی و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف-سنج جرمی به شرح زیر استفاده گردید.

آنالیز مواد موثر اسانس نمونه‌ها با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC): در این بررسی از

1. Hydrodistillation

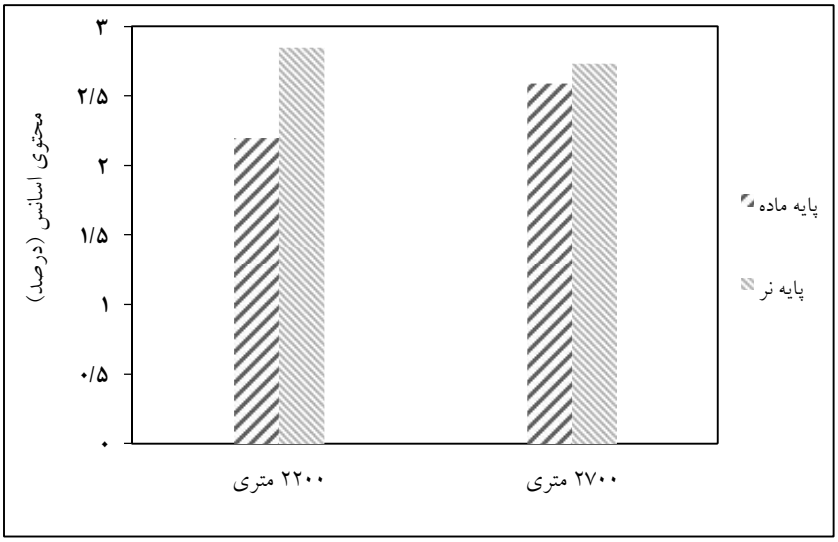
دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل 9A ساخت شرکت شیمادزو (کشور ژاپن) و مجهز به ستون ph-5 (به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد. دمای اولیه ۶۰ درجه سلسیوس بود که تا رسیدن به دمای نهایی اولیه ۲۱۰درجه سلسیوس در هردقیقه ۳ درجه به آن افزوده شد. سپس از دمای ۲۱۰ تا دمای نهایی ثانویه ۲۴۰ درجه سلسیوس با سرعت ۲۰ درجه در دقیقه و توقف در این دما به‌مدت ۸/۵ دقیقه استفاده شد. نوع آشکارساز FID و درجه حرارت محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سلسیوس بود. گاز حامل هلیوم (با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد) بود که با سرعت۳۲ سانتی-متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد.

دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی(GC/MS): از گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف سنج جرمی مدل واریان ۳۴۰۰ از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-5 (به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از دمای اولیه ۵۰ درجه سلسیوس تا ۲۸۰ درجه سلسیوس بود که در هر دقیقه۴ درجه به آن افزوده می‌شد. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بیش از دمای نهایی ستون تنظیم گردید. گاز حامل هلیوم و با سرعت ۳۱/۵ سانتی متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود.

در نهایت شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از اندیس بازداری (RI)، بررسی طیف‌های جرمی ترکیبات و مقایسه آن با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه‌های کامپیوتری و مراجع معتبر صورت گرفت (Davies, 1990; Adams, 2007).

نتایج

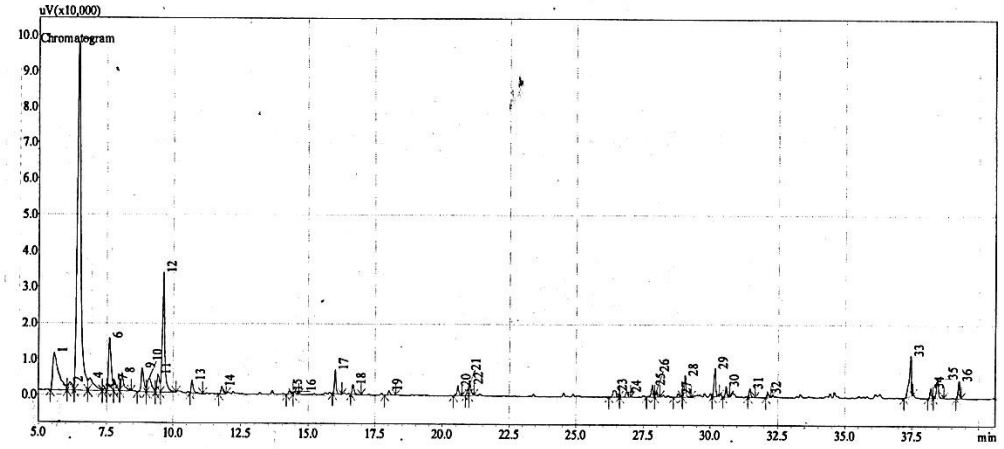
محتوی اسانس سرشاخه‌های پایه‌های نر و ماده در ارتفاع ۲۲۰۰ متری به‌ترتیب ۲/۸۵ درصد و ۲/۲۰ درصد و در ارتفاع ۲۷۰۰ متری به‌ترتیب ۲/۷۴ درصد و ۲/۵۹ درصد بود (شکل ۱). در اسانس سرشاخه پایه‌های نر و ماده برداشت شده از هر دو ارتفاع، ۱۷ ترکیب شناسایی گردید که در مجموع ۸۴/۹۲ تا ۹۰/۶۷ درصد از کل اسانس را تشکیل می‌دادند (جدول ۱). اجزاء عمده اسانس سرشاخه‌های پایه نر در ارتفاع ۲۲۰۰ متری شامل آلفا-پینن (۴۸/۸۱ درصد)، سابینن (۱۴/۴۰ درصد)، لیمونن (۷/۶۷ درصد)، ترپینن-۴-اُل (۳/۳۶ درصد) و آلفا-ترپینن (۲/۱۹ درصد) و در ارتفاع ۲۷۰۰ متری شامل آلفا-پینن (۳۲/۷۱ درصد)، سابینن (۲۲/۴۲ درصد)، لیمونن (۸/۹۷ درصد)، آلفا-ترپینن (۶/۲۵ درصد)، ترپینن-۴-اُل (۴/۴۵ درصد)، میرسن (۳/۴۷ درصد)، گاما-ترپینن (۲/۴۹ درصد) و آلفا- توجن (۲/۲ درصد) بودند. همچنین در اسانس سرشاخه‌های پایه ماده برداشت شده از ارتفاع ۲۲۰۰ متری، سابینن (۴۴/۴۷ درصد)، ترپینولن (۱۰/۳۴ درصد)، آلفا-توجن (۷/۶۷ درصد)، آلفا-ترپینن (۴/۹۳ درصد) ، میرسن (۲/۵۸ درصد) و گاما-ترپینن (۲/۳۵ درصد) و در اسانس سرشاخه‌های ماده برداشت شده از ارتفاع ۲۷۰۰ متری، آلفا-پینن (۴۶/۸۵ درصد)، سابینن (۱۸/۷۹ درصد)، لیمونن (۶/۲۳ درصد)، ترپینن-۴-اُل (۴/۳۱ درصد)، آلفا-ترپینن (۳/۷۰ درصد)، گاما-ترپینن (۲/۵۹ درصد) و آلفا-توجن (۲/۱۶ درصد) اجزاء عمده شناسایی شده بودند. ترکیبات مونوترپنی (۸۰/۰۷ تا ۸۷/۶۵ درصد) بخش اصلی اسانس‌ها را تشکیل می‌دادند و تنها بخش کوچکی از اجزاء اسانس‌ها (۳/۰۲ تا ۴/۸۵ درصد) ماهیت سزکوئی‌ترپنی داشتند (شکل‌های ۲ تا ۵).



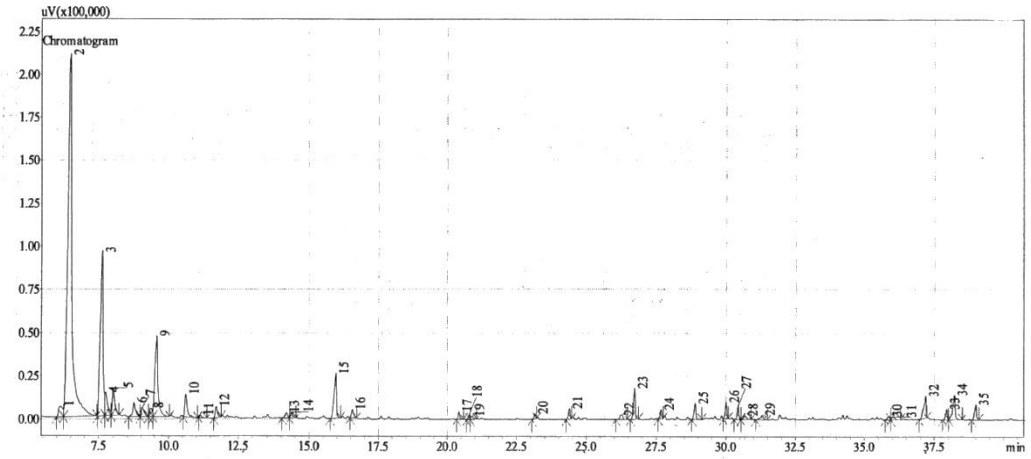
شکل ۱: مقایسه محتوی اسانس سرشاخه‌های پایه نر و ماده *J. c.* subsp. *hemisphaerica* در ارتفاع ۲۲۰۰ و ۲۷۰۰ متری

جدول ۱: مقایسه ترکیبات شناسایی شده در اسانس سرشاخه‌های پایه نر و ماده *J. c.* subsp. *hemisphaerica* در ارتفاعات مختلف

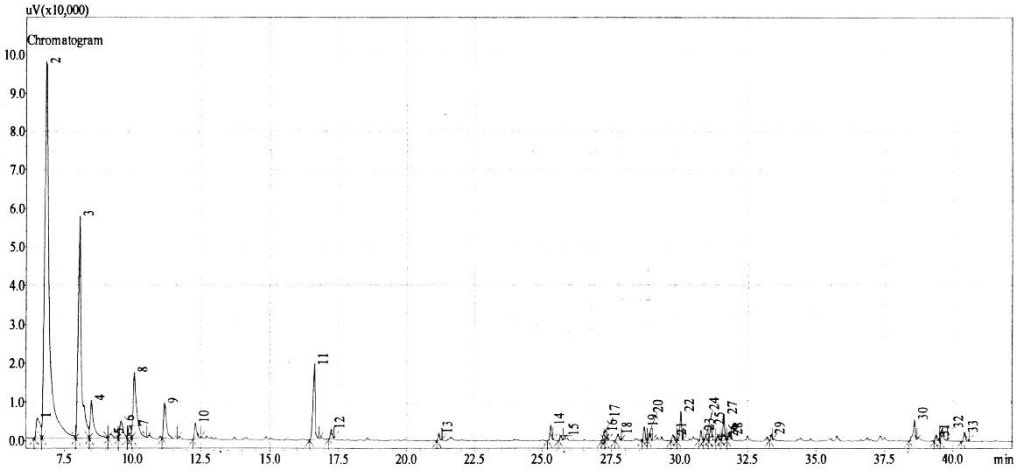
ردیف	ترکیب	شاخص بازداری	۲۲۰۰ متری		۲۷۰۰ متری	
			پایه ماده	پایه نر	پایه ماده	پایه نر
۱	α-Thujene	۹۲۳	۷/۶۷	۱/۵۳	۲/۱۶	۲/۲۰
۲	α-Pinene	۹۳۵	۱/۳۹	۴۸/۸۱	۴۶/۸۵	۳۲/۷۱
۳	Sabinene	۹۷۴	۴۴/۴۷	۱۴/۴۰	۱۸/۷۹	۲۲/۴۲
۴	Myrcene	۹۸۶	۲/۵۸	۱/۹۸	–	۳/۴۷
۵	α-Terpinene	۱۰۱۷	۴/۹۳	۲/۱۹	۳/۷۰	۶/۲۵
۶	ρ-Cymene	۱۰۲۳	۱/۰۳	۱/۲۶	۱/۵۱	۱/۷۴
۷	Limonene	۱۰۳۴	۱/۷۹	۷/۶۷	۶/۲۳	۸/۹۷
۸	γ-Terpinene	۱۰۶۱	۲/۳۵	۱/۶۷	۲/۵۹	۲/۴۹
۹	Terpinolene	۱۰۹۰	۱۰/۳۴	۰/۱۸	۱/۰۳	۱/۳۱
۱۰	Terpinen-4-ol	۱۱۷۹	۰/۲۸	۳/۳۶	۴/۳۱	۴/۴۵
۱۱	α-Terpineol	۱۱۹۰	۰/۲۴	۰/۵۲	۰/۴۸	–
۱۲	Germacrene D	۱۴۸۲	۰/۶۶	۱/۷۸	۰/۳۴	۱/۲۳
۱۳	Ar-Curcumene	۱۴۸۴	۰/۳۹	۰/۴۵	۰/۵۹	۰/۲۳
۱۴	γ-Muurolene	۱۴۸۶	۰/۷۶	–	۰/۳۶	۰/۲۲
۱۵	γ-Cadinene	۱۵۱۷	۱/۳۵	۰/۸۷	۰/۳۱	۰/۵۳
۱۶	δ-Cadinene	۱۵۲۵	۱/۶۹	۰/۸۱	۱/۴۲	۰/۲۲
۱۷	Epi-α-Bisabolol	۱۶۸۷	–	۰/۳۹	–	۱/۲۸
	Monoterpenes		۸۰/۰۷	۸۳/۵۸	۸۷/۶۵	۸۶/۰۱
	Sesquiterpenes		۴/۸۵	۴/۳	۳/۰۲	۳/۷۱
	Total		۸۴/۹۲	۸۷/۸۸	۹۰/۶۷	۸۹/۷۲



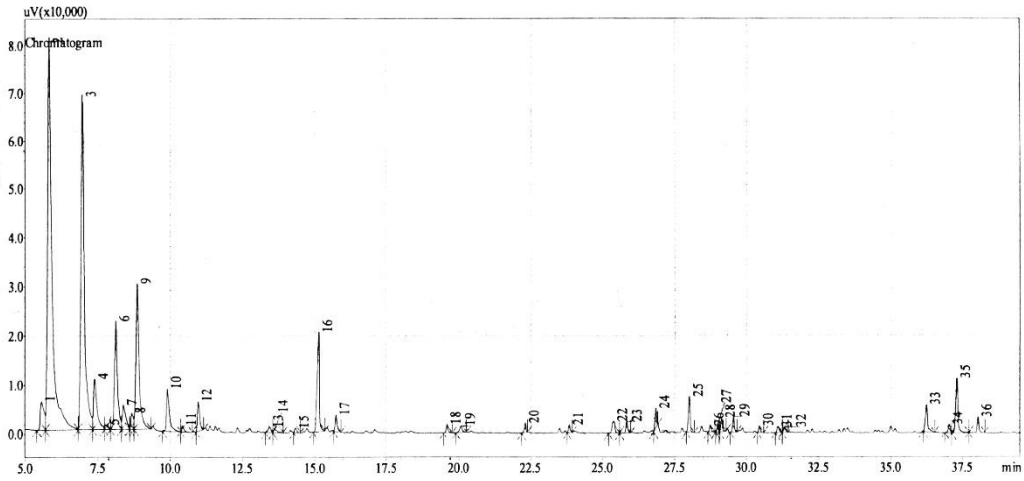
شکل ۲: گازکروماتوگرام نمونه اسانس سرشاخه‌های پایه ماده در ارتفاع ۲۲۰۰ متری



شکل ۳: گازکروماتوگرام نمونه اسانس سرشاخه‌های پایه نر در ارتفاع ۲۲۰۰ متری



شکل ٤: گازکروماتوگرام نمونه اسانس سرشاخه‌های پایه ماده در ارتفاع ۲۷۰۰ متری



شکل ۵: گازکروماتوگرام نمونه اسانس سرشاخه‌های پایه نر در ارتفاع ۲۷۰۰ متری

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد محتوی اسانس سرشاخه پایه‌های نر و ماده با افزایش ارتفاع به ترتیب کاهش و افزایش یافته بودند. علاوه بر این در هر دو ارتفاع محتوی اسانس سرشاخه پایه‌های نر نسبت به پایه‌های ماده بیشتر بود. کاهش محتوی اسانس سرشاخه پایه‌های ماده نسبت به پایه‌های نر شاید به دلیل قرار داشتن میوه‌های تشکیل شده بر روی پایه-های ماده باشد بدین ترتیب که احتمالاً تشکیل و رشد میوه‌ها، نیاز به فتوسنتز و تولید متابولیت‌های اولیه بیشتری را نسبت به متابولیت‌های ثانویه پیش می‌آورد. بررسی‌های انجام گرفته در *J.* (Asili et al., 2008) *c.*subsp. *hemisphaerica* (Afsharypuor et al., 2007) و *J.chinensis* L.(Velasco-Negueruela et al., 2003) نیز نشان داد که محتوی اسانس برگ پایه نر بیشتر از پایه ماده بوده است. اما در گزارش دیگری در *J. c.* subsp. *hemisphaerica*، محتوی اسانس سرشاخه‌های پایه ماده بیشتر از پایه نر بود (Asgary et al., 2014).

تجزیه وشناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس سرشاخه‌ها نشان دادند به جز در اسانس سرشاخه پایه ماده برداشت شده از ارتفاع ۲۲۰۰ متری که سابینن به‌طور قابل توجهی افزایش یافته و جزء اصلی اسانس این نمونه (۴۴/۴۷ درصد) را تشکیل می‌داد، در بقیه نمونه‌های مورد مطالعه، آلفا-پینن جزء غالب اسانس‌ها (۴۸/۸۱- ۳۲/۷۱ درصد) بوده است. در تحقیق مشابهی عسگری و همکاران (Asgary et al., 2014) نیز سابینن (۳۴ درصد) و آلفا-پینن (۲۴/۹ درصد) را به‌ترتیب به‌عنوان اجزاء غالب اسانس سرشاخه‌های پایه‌های ماده و نر همین زیرگونه گزارش نمودند. همچنین در تحقیق دیگری، سابینن جزء اصلی اسانس برگ پایه‌های نر (۱۶/۴ درصد) و ماده (۱۹/۵ درصد) *J. c.* subsp. *hemisphaerica* جمع آوری شده از ارتفاع ۱۸۰۰ متری در فاضل آباد (گلستان) گزارش شده است (Asili et al., 2008). افشاری‌پور و همکاران (Afsharypuor et al., 2007) جزء اصلی اسانس برگ پایه‌های نر و ماده *J. chinensis* را به‌ترتیب بورنیل استات و سابینن گزارش کردند. مطالعه روی *J. macropoda* نشان داد که محتوی اسانس برگ در دو ارتفاع ۱۷۰۰ و ۲۰۰۰ متری به‌ترتیب ۱/۲ و ۰/۵۲ درصد بود. همچنین اجزاء اصلی اسانس ارتفاع ۱۷۰۰ و ۲۰۰۰ متری به ترتیب بتا-المن و آلفا-توجون گزارش شد (Srivastava et al., 2005). تغییرات کیفی اسانس تحت تأثیر نوع پایه

و ارتفاع محل در مورد سایر اجزاء اسانس نیز مشاهده گردید. به‌طوری که در هر دو پایه با افزایش ارتفاع، مقادیر پارا-سیمن، لیمونن، گاما-ترپینن و ترپینن-۴-اُل افزایش و مقادیر آلفا-ترپینئول، گاما-کادینن و دلتا-کادینن کاهش یافت. روند تغییرات سایر اجزاء اسانس تحت تأثیر ارتفاع محل در پایه‌های نر و ماده متفاوت بود. نکته قابل توجه دیگر حضور ترکیب اپی-آلفا-بیزابولول فقط در پایه‌های نر بود. بررسی تأثیر ارتفاع بر ترکیبات اسانس برگ رودودندرون (*Rhododendron aureum*) در مرحله بعد از گلدهی از ارتفاعات مختلف روسیه نشان داد، جزء اصلی اسانس در بالاترین ارتفاع متفاوت با بقیه اسانس‌ها بود (Olennikov et al., 2010). بررسی ترکیبات اسانس برگ پایه‌های نر و ماده *J. scopulorum* Sarg. در طول یکسال نشان داد، غلظت آلفا-پینن، آلفا-ترپینن، گاما-ترپینن و ترپینولن در پایه ماده و غلظت ترکیباتی مثل آلفا-توجن، سابینن، لیمونن و دلتا-کادینن در پایه نر بیشتر بود (Zheljazkov et al., 2013). مطالعه تغییرات یکساله اسانس گیاه *Austrocedrus chilensis* حاکی از تأثیر تغییرات فصلی و جنسیت گیاه بر مقدار و ترکیبات شیمیایی اسانس بود (Olate et al., 2014). نتایج بدست آمده از تأثیر ارتفاع ۷۷۵، ۱۱۰۰ و ۱۶۵۰ متری بر محتوی اسانس برگ پایه‌های نر و ماده فاخره (*Zanthoxylum alatum*) نشان داد، میزان لینالول و لیمونن در هر دو پایه با افزایش ارتفاع به‌ترتیب کاهش و افزایش می‌یابند (Gupta et al., 2011). همچنین بررسی ماهیت ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌ها موید غالبیت ترکیبات مونوترپنی در هر دو پایه می‌باشد. در هر دو پایه با افزایش ارتفاع میزان ترکیبات مونوترپنی افزایش و میزان ترکیبات سزکوئی‌ترپنی کاهش یافت.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بدست آمده از مطالعه‌ی حاضر بیانگر تأثیرقابل توجه ارتفاع و جنسیت گیاه بر محتوی و ترکیبات اسانس سرشاخه‌های سرو پیرو است. باتوجه به این‌که کاربرد اسانس‌ها بر حسب نوع و درصد اجزاء تشکیل‌دهنده متفاوت است لذا با توجه به نوع کاربرد مورد انتظار می‌توان نسبت به برداشت سرشاخه‌های پایه نر یا ماده از ارتفاع مربوطه اقدام نمود. بدین ترتیب که اگر هدف بدست آوردن بیشترین محتوی اسانس و آلفا-پینن باشد، سرشاخه‌ها باید از پایه نر در ارتفاع ۲۲۰۰ متری جمع‌آوری شود.

References

1. Abbassy, M.A. and Marei, G.I. 2013. Antifungal and chemical composition of essential oils of *Juniperus communis* and *Thymus vulgaris* against two phytopathogenic fungi. Journal of Applied Sciences Research, 9(8): 4584-4588.
2. Adams, R.P. 2007. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 803p.
3. Adams, R.P. 2008. The Junipers of the World: The Genus *Juniperus*. 2nd ed. Trafford Publ., Victoria, BC, Canada.
4. Adams, R.P. and Powell R.A. 1976. Seasonal variation of sexual differences in the volatile oil of *Juniperus scopulorum*. Phytochemistry, 15: 509-510.
5. Afsharypuor, S., Rahiminezhad, M., Ghaemmaghami, L., Soleimani, M., Khanmohammadi, M. and Afsharipuor, N. 2007. Essential oil constituents of leaves of the male and female shrubs of *Juniperus chinensis*L. from Isfahan. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences, (3): 177-180.
6. Asgary, S., Naderi, G.A., Shams Ardekani, M.R., Sahebkar, A., Airin, A., Aslani, S., Kasher, T. and Emami, S.A. 2014. Inhibition of protein glycation by

essential oils of branchlets and fruits of *Juniperus communis* subsp. *hemisphaerica*. Research
7. Asili, J., Emami, S.A., Rahimizadeh, M., Fazly-Bazzaz, B.S. and Hassanzadeh, M.K. 2008. Chemical and antimicrobial studies of *Juniperus communis* subsp. *hemisphaerica* and *Juniperus oblonga* essential oils. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 11(1): 96-105.
8. Banerjee, S., Singh, H. and Chatterjee, T.K. 2013. Evaluation of anti-diabetic and anti-hyperlipidemic potential of methanolic extract of *Juniperus communis* (L.) in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 4(3): 10-17.
9. Butkiene, R., Nivinskiene, O. and Mockute, D. 2004. Chemical composition of unripe and ripe berry essential oils of *Juniperus communis* L. growing wild in Vilnius district. Chemija, 15(4): 57-63.
10. Cepeda-Cornejo, V. and Dirzo, R. 2010. Sex-related differences in reproductive allocation, growth, defense and herbivory in three dioecious neotropical palms. PLoS ONE, 5(3): e9824.
11. Chatzopoulou, P.S. and Katsiotis, T.S. 1993. Study of the essential oil from *Juniperus communis* Berries (cones) growing wild in Greece. Planta Medica, 59: 553-556.
12. Dahmane, D., Dob, T. and Chelghoum, C. 2015. Chemical composition of essential oils of *Juniperus communis* L. obtained by hydrodistillation and microwave-assisted hydrodistillation. Journal of Materials and Environmental Science, 6(5): 1253-1259.
13. Davies, N.W. 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. Journal of Chromatography, 503: 1-24.
14. Ebadi, M. 2007. Pharmacodynamic basis of herbal medicine. 2nd Ed. Taylor and Francis, Boca Raton, 699 p.
15. Emami, S.A., Asili, J., Mohagheghi, Z. and Hassanzadeh, M.K. 2007. in Pharmaceutical Sciences, 9(3): 179-185.

Antioxidant activity of leaves and fruits of Iranian conifers. eCAM, 1-7.
16. Ennajar, M., Afloulous, S., Romdhane, M., Ibrahim, H., Cazaux, S., Abderraba, M., Raies, A. and Bouajila, J. 2011. Influence of the process, season, and origin on volatile composition and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea* L. leaves essential oils. Journal of Food Science, 76(2): 224-230.
17. Gholami Takaloo, S., Hassani, A., Hassanpouraghdam, M.B., Meshkatalsadat, M.H., Pirzad, A. and Heidari, M. 2012. Essential oil content and composition of *Thymus migricus* Klokov&Desj-Shost. affected by plant growth stage and wild habitat altitude. Romanian Biotechnological Letters, 17(1): 6982-6988.
18. Gobbo-Neto, L. and Lopes, N.P. 2007. Plantas medicinais: Factores de influência no conteúdo de metabolites secundários. Quimica Nova, 30(2): 374-381.
19. Gupta, S., Bhaskar, G. and Andola, H.C. 2011. Altitudinal variation in essential oil content in leaves of *Zanthoxylum alatum* Roxb. a high value aromatic tree from Uttarakhand. Research Journal of Medicinal Plants, 5(3): 348-351.
20. Hoferl, M., Stoilova, I., Schmidt, E., Wanner, J., Jirovetz, L., Trifonova, D., Krastev, L. and Krastanov, A. 2014. Chemical composition and antioxidant properties of Juniper berry (*Juniperus communis* L.) essential oil. Action of the essential oil on the antioxidant protection of *Saccharomyces cerevisiae* model organism. Antioxidants, 3(1): 81-98.
21. Ibañez, J. and Usubillaga, A. 2006. The essential oil of *Espeletia schultzii* of different altitudinal populations. Flavour and Fragrance Journal, 21(2): 286-289.
22. Kasaian, J., Behravan, J., Hassany, M., Emami, S.A., Shahriari, F. and Khayyat, M.H. 2011. Molecular characterization and RAPD analysis of *Juniperus* species

from Iran. Genetics and Molecular Research, 10(2): 1069-1074.
23. Massei, G., Watkins, R. and Hartley, S.E. 2006. Sex-related growth and secondary compounds in *Juniperus oxycedrus macrocarpa*. Acta Oecologica, 29(2): 135-140.
24. McGowan, G.M., Joensalo, J. and Naylor, R.E.L. 2004. Differential grazing of female and male plants of prostrate juniper (*Juniperus communis* L.). Botanical Journal of Scotland, 56(1): 39-54.
25. Olate, V.R., Soto, A. and Schmeda-Hirschmann, G. 2014. Seasonal variation and resin composition in the Andean tree *Austrocedrus chilensis*. Molecules, 19(5): 6489-6503.
26. Olennikov, D.N., Dudareva, L.V., Osipenko, S.N. and Penzina, T.A. 2010.Chemical composition of *Rhododendron aureum* (gold rosebay) essential oil from Pribaikal'e (Russian Federation). Journal of Serbian Chemical Society, 75(2): 209-215.
27. Omidbaigi, R. 2007. Production and processing of medicinal plants. 2ed Edition. Astan Ghods Publication, 438p. (In Persian).
28. Pepeljnjak, S., Kosalec, I., Kalodera, Z. and Blazevic, N. 2005. Antimicrobial activity of juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L. Cupressaceae). Acta Pharmaceutica, 55(4): 417-422.
29. Raal, A., Kanut, M. and Orav, A. 2010. Annual variation of yield and composition of the essential oil of common Juniper (*Juniperus communis* L.) branches from Estonia. Baltic Forestry, 16(1): 50-56.
30. Sati, S.C. and Joshi, S. 2010. Antibacterial potential of leaf extracts of *Juniperus communis* L. from Kumaun Himalaya. African Journal of Microbiology Research, 4(12): 1291-1294.
31. Sela, F., Karapandzova, M., Stefkov, G. and Kulevanova, S. 2011. Chemical composition of berry essential oils from *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) growing wild in Republic of Macedonia and assessment of the chemical composition in accordance to European Pharmacopoeia. Macedonian Pharmaceutical Bulletin, 57(1,2): 43-51.
32. Shahmir, F., Ahmadi, L., Mirza, M. and Korori, S.A.A. 2003. Secretory elements of needles and berries of *Juniperus communis* L. ssp. *communis* and its volatile constituents. Flavour and Fragrance Journal, 18(5): 425-428.
33. Srivastava, D., Haider, F., Dwivedi, P.D., Naqvi, A.A. and Bagchi, G.D. 2005. Comparative study of the leaf oil of *Juniperus macropoda* growing in Garhwal regions of Uttranchal (India). Flavour and Fragrance Journal, 20(5): 460-461.
34. Toncer, O., Karaman, S. and Diraz, E. 2010. An annual variation in essential oil composition of *Origanum syriacum* from Southeast Anatolia of Turkey. Journal of Medicinal Plants Research, 4(11): 1059-1064.
35. Velasco-Negueruela, A., Pérez-Alonso, M.J., Palá-Paúl, J., Íñigo, A., Cervera, M. and Lopez, G. 2003. Essential oil analyses of the leaves and berries of *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *badia* (H. Gay) Debeaux. Botanica Complutensis, 27: 147-154.
36. Zare, H. 2001. Introduced and native conifers in Iran. Research Institute of Forests and Rangelands (RIFR) Publication, 271p. (In Persian).
37. Zeraib, A., Ramdani, M., Boudjedjou, L., Chalard, P. and Figuredo, G. 2014. Chemical composition and antibacterial activity of *Juniperus thurifera* L. essential oils. Journal of BioScience and Biotechnology, 3(2): 147-154.
38. Zheljazkov, V.D., Astatkie T. and Jeliazkova, E. 2013. Year-round variations in essential oil content and composition of male and female Juniper. Hort. Science, 48(7): 883-886.

Effect of altitude on essential oil composition in different gender of *Juniperus communis* ssp. *hemisphaerica* growing wild in Amol

Rostaefar, A.[1], Hassani, A.[2*], Sefidkon, F.[3]

[1]Former M.Sc. student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

[2]Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

[3] Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

Received Time: 2017/3/24 Accepted Time: 2017/8/22

Abstract

Juniperus communis L. ssp. *hemisphaerica* is a dioeciously wild growing shrub, which is belonged to Cupressaceae family and could found in the Alborz Mountain in north of Iran. The essential oil of Juniper is used as anti-depressant, anti-rheumatic, anti-spasmodic, carminative, antidiabetic, appetizer and diuretic properties. In this research the effects of altitude on the quantitative and qualitative characteristics of the essential oil in different gender of this plant was investigated. The aerial part of different gender were harvested from two altitudes (2200 and 2700 m) in summer 2011. The essential oils were extracted by hydro distillation and were analyzed by GC and GC/MS. The results were showed that the foliage of male plants in both altitude contained higher oil content (2.74%-2.85%) than the female plants (2.20%-2.59%). The α-pinene and sabinene were the main components of essential oils in both foliages, but the highest amount of α-pinene (48.81%) and sabinene (44.47%) were observed in 2200 m in both foliage's, respectively. Monoterpenes were the main compounds, which identified in these essential oils.

Keywords: Altitude, Amol, α-Pinene, Essential oil, *Juniperus communis* L. ssp. *hemisphaerica*, Sabinene